中国煤炭期刊网 www.chinacaj.net



综 述 与 专 论

# 二噁英类化合物生物检测法研究进展

陈文婷[1],向运荣[2],赵金平[2]

(1.桂林理工大学 环境科学与工程学院,广西 桂林 541006;
2.广东省环境监测中心,广东 广州 510308)

**摘要**:介绍了二噁英的性质和来源,分析了酶活力诱导法、荧光素酶报告基因法、酶免疫分析法、荧光免疫分析法等生物检测法的原理和特点,分析认为:生物检测法简便快速、成本低、周期短、灵敏度高,但不能排除其他芳香受体的干扰作用,不能测定单个二噁英异构体的毒性当量,现阶段仅能用于大量样本的高效筛选和半定量测定。

**关键词**:二噁英类化合物;生物检测法;研究现状;进展
**中图分类号**:X830.2 **文献标识码**:A **文章编号**:1006-8759(2018)02-0001-03

# DEVELOPMENT OF BIOLOGICAL DETECTION METHODS FOR DIOXIN-LIKE CHEMICALS

CHEN Wen-ting[1], XIANG Yun- rong[2], ZHAO Jin-pin[2]

*(1.College of Environmental Sciences and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 2.The cnvironmental monitoring center of guangdong province, Guangzhou 510308, China.)*

**Abstract**: The properties and sources of dioxin-like chemicals were introduced. The principles and characteristics of several biological detection methods (enzyme induction, luciferase reporter gene method, enzyme immunoassay, fluorescent immunoassay) were analyzed. Biological detection was considered to be a simple, quick, low-cost, short-period and high-sensitivity method, but unable to exclude the interference of aromatic receptors or detect the toxicity equivalents (TEQ) of single dioxin isomer. At present stage, biological detection method can only be applied for high-efficiency screening or semi-quantitative detection of a large amount of sample.

**Key words**: Dioxin-like chemicals; Biological detection method; Research status; Progress.

二噁英(PCDD/Fs)实际上是一个简称,它指的是两大类有机化合物,全称分别为多氯二苯并-对-二恶英(简称 PCDDs)和多氯二苯并呋喃(简称 PCDFs),它们都是氯代多环芳香化合物,由于氯原子的取代数目和位置不同,构成了 75 种 PCDDs 和 135 种 PCDFs 同分异构体。二噁英类化合物非常稳定,熔点较高,在环境中很难自然降解消除,是一种非人为目的生成的、稳定的、没有使用价值的持久性有机污染物(POPs),也是当今存在于环境中的超痕量污染物[1]。二噁英是迄今为止所认识的最具毒性的化合物之一,不能通过对 POPs 采取禁产和禁用来达到控制污染的目的,二噁英污染控制的关键是源头减排[2]。二噁英一般来源于化工产品的副产物、森林大火、废物焚烧、金属冶炼、纸浆加氯漂白、燃煤或火力发电等过程[3]。能够通过皮肤、粘膜、呼吸道和消化道进入人

收稿日期:2017-09-06
第一作者简介:陈文婷(1995~),女,硕士,研究方向,环境与健康研究。

中国煤炭期刊网 www.chinacaj.net



体,导致癌症、畸形、免疫力下降和内分泌系统紊乱[4]。鉴于其极强的毒性和致病危害,及时把握各种环境介质中的二噁英污染状况,污染源分布及排放强度,人体、动植物、食物和饮用水中二噁英的残留水平等至关重要。因此建立二噁英类化合物的分析检测方法,对二噁英污染的防治和监控有重要意义。

## 1 国内外二噁英分析研究现状

环境中二噁英的分析属于超痕量、多组分分析,其分析测定必须具备有效的采样技术、定量提取和净化技术、异构体的高效分离定性定量、良好的质量管理等技术条件,同时对于不同来源的基质样品(环境空气、环境水体、食品、废水、烟道气等)相应有不同的分析测定方法,这主要是因为来源不同的样品中二噁英浓度差别可达 103~106 倍,采样和前处理方法差异也很大,因此不可能对所有的二噁英样品使用同一种分析方法。近年来,跨学科领域的相关技术也被引入到二噁英类化合物的分析检测方面,例如激光技术和电子技术[5]。研究表明新型技术分析二噁英有显著作用,如用粉状活性炭+袋式过滤器替代飞灰+活性炭+过滤器可以显著提高废物焚烧烟气中的二噁英的去除效率和活性炭的利用率[6]以及开发一种简单便宜的酵母生物测定(CROMIS AhR)试剂盒可用于快速筛选二噁英类化合物样品[7]。

在二噁英分析研究方面,美国、日本和欧盟等工业化国家和地区均制订了大气、土壤中二噁英的监测分析方法,其中涉及到室内空气中二噁英的检测方法是最多的,在检测方法上的区别在于不同的取样方法和样品前处理方法[8]。国际上参考的分析方法主要有美国 EPA 方法 8290、1613、23 和日本工业标准 JISK0311、JISK0312 等,国内主要分析方法是以美国 EPA1613 方法及日本工业标准 JISK0311-1999 为基础相继建立起来的[9]。环境保护部也参考美国环境保护署方法,分别制定了水质、环境空气和废弃物、固体废物、土壤和沉积物中二噁英类的测定标准,国家出入境检测检疫局也同样参考制定了塑料制品中二噁英的测定标准[8]。20 世纪 60 年代起,人们开始用气相色谱测定样品中的二噁英物质,后来采用免疫学和生物学方面的检测方法[10]。目前国际上公认的二噁英类化合物标准检测方法是同位素稀释高分辨气相色谱-高分辨质谱(HRGC/HRMS)法,被称为二噁英检测"金标准",但检测二噁英非常费时,而且样品前处理步骤繁琐,极为困难,费用高,对分析人员的技术要求非常高。因此无论是发达国家还是发展中国家都呼唤着一种时间短、操作简便、成本低的二噁英检测方法,以满足二噁英研究和日常监测的需要;同时分子生物学的研究近年来取得了巨大成就,其中特异性强、灵敏度高、操作简单且分析所需时间短的生物检测法可以与 HRGC/HRMS 媲美[11]。

## 2 二噁英生物检测法

目前,建立和发展起来针对二噁英的生物检测法的原理是通过芳香烃受体(AhR)活化程度的测定间接表达二噁英的毒性当量(TEQ)。具有代表性的生物检测法有免疫法和生物法,其中生物法主要包括酶活力诱导法(EROD)和荧光素酶报告基因法(CALUX);免疫法主要包括酶免疫分析法(EIA)和荧光免疫分析法(DELFIA)。

### 2.1 酶活力诱导法(EROD)

通过对二噁英类化合物的毒性与结构关系的研究发现,其生物毒性对生物体内的一种特殊受体-AhR 具有高度亲和力。二噁英与 AhR 结合活化后,被 AhR 的核转位因子(ARNT)转移到细胞核内,活化的核内基因是特异性 DNA 片段,即二噁英响应因子(DRE)。启动发挥毒性的基因并增加其转录,从而激活 7-乙氧基-异吩恶唑酮-脱乙基(EROD) 酶的活性。所以通过测定 EROD 酶的活性,可以了解二噁英激活 AhR 受体的能力(在一定浓度范围内具有线性的计量效应关系),进而获得测试样品中二噁英类物质的 TEQ 值[11]。有很多实验证实二噁英类化合物导致毒性的能力与诱导 EROD 酶的能力是成正比的[12]。由于样品中其他共存污染物的干扰,EROD 酶的分析结果往往偏高,离体的 EROD 酶一般取自动物 (如鸡胚胎和鼠)肝细胞[13]。该方法前处理比较简化,检测周期短(一般 3 d 左右),但检测成本比较高,检测灵敏度低。

### 2.2 荧光素酶报告基因法(CALUX)

CALUX 法是利用专利的基因技术改造细胞株(美国专利号 5854010)进行检测的一种生物检测方法,该细胞株可因 AhR 被激活而通过荧光素酶表达。该细胞株和环境中的芳香烃二噁英类物

中国煤炭期刊网 www.chinacaj.net



质接触，使其增加合成 CYP1A1 蛋白质的荧光素酶蛋白质，通过测定荧光素酶的发光量，即可求得样品中的二噁英类物质的 TEQ 值。此方法在生物检测法中被归类在报告基因重组法里，于 2007 年通过美国环境保护署(EPA)的认证成为国家标准法，在日本，烟气、底灰、粉尘等介质的分析方法中，此方法被认定为国家标准分析法[14]。同 EROD 方法相比，因为 CALUX 法直接对表达的虫荧光素酶进行检测，该方法检测灵敏度更高(0.025 pm 左右)、检测成本更低、检测周期短（一般 3 d 左右），更适合于大量样品的筛选和半定量测定。

2.3 酶免疫分析法(EIA)

EIA 法一般以二噁英为抗原，生产酶标记的鼠抗或兔抗，样品中的二噁英可与酶标记的鼠抗或兔抗发生免疫反应，通过酶催化底物发光或显色而定量。使用酶竞争配合物和样品中二噁英类共同竞争有限的 DD3 抗体的特异性结合位点，并以一系列不同浓度的 2,3,7,8-TCDD 为标准物质做出的剂量-效应曲线，计算出环境样品中二噁英类物质的 TEQ 值，该检测方法中，螯合物的荧光强度与二噁英类的 TEQ 成反比[15]。该方法简便、易操作，检测周期短(一般 2 d 左右)，检测成本低，准确性一般优于 EROD 酶检测，但制备抗体比较麻烦。

2.4 荧光免疫分析法(DELFIA)

DELFIA 法利用生物基因技术选择出合适的抗原键合铕离子与样品中二噁英竞争单克隆抗体，反应完全后加入荧光增强液，使铕离子从抗原中离解下来，进入增强液，形成胶束，高效地发出荧光，最终用时间分辨荧光法分析，其荧光强度与二恶英的 TEQ 值成反比，以此获得样品中二噁英类物质的 TEQ 值[12]。该方法前处理十分简化，检测周期特别短(一般小于 1 d)，检测成本低，检测灵敏度高。

## 3 结论与展望

生物检测法简便、快速、成本低、周期短、灵敏度高，检测一般在 2~3 d 就可以完成，但不能排除其他芳香受体的干扰作用，重现性较差，且不能测定单个二噁英异构体的毒性当量，因此现阶段依然只能用于大量样本的快速高效筛选和半定量测定。在一定程度上，化学检测法(HRGC-HRMS)和生物检测法有很好的互补性，两种检测方法应灵活运用，可节约人力物力，提高工作效率。我国对二噁英研究起步比发达国家晚，检测方法和水平也存在一定的差距，因此在二噁英类化合物污染的监控和防治工作中，我们应该借鉴发达国家的先进经验，继续完善二噁英生物检测方法。

## 参考文献

[1] 丁园，史蓉蓉，刘燕红，等. 城市垃圾焚烧过程中二噁英的产生与防治[J]. 江西化工，2008(1)：66-70.

[2] 吕亚辉，黄俊，余刚，等. 中国二噁英排放清单的国际比较研究[J]. 环境污染与防治，2008(6)：71-74.

[3] 贾建廷. 浅谈冶金行业二恶英类物质的减排技术 [J]. 太原科技，2008(10)：17-19.

[4] 陈壁波，李友明，李辉，等. 造纸工业汇总二噁英污染的形成和控制措施[J]. 中国造纸学报，2004，19(2)：157-160.

[5] 樊小军，张道方，黄远星. 环境中二噁英类化合物的检测方法分析与研究[J]. 能源研究与信息，2014,30(2)：63-67.

[6] Cui Yu-yong, Yang Guo-hua, Xiao Gui-hui, et al. Adsorption of dioxin by bag filter + powdered activated carbon[J]. Water Air & Soil Pollution, 2017, 228(4): 160.

[7] Masanobu Kawanishi, Kana Ohnisi, Hidetaka Takigami, et al. Simple and rapid yeast reporter bioassay for dioxin screening: evaluation of the dioxin-like compounds in industrial and municipal waste incineration plants [J]. Environmental Science & Pollution Research, 2013, 20(5): 2993-3002.

[8] 刘媛媛. 国内外二噁英检测标准制修订现状与进展[J]. 环境污染与防治，2014，36(1)：80-83.

[9] 林锦权，梁灿钦，伍建军. 二噁英类物质的检测技术研究进展[J]. 东莞理工学院学报，2012，19(1)：57-60.

[10] 刘燕群，周宜开，吕斌，等. 二噁英的毒性与生物学检测研究进展[J]. 环境与职业医学，2004，21(5)：417-421.

[11] 王承智，胡筱敏，石荣，等. 二恶英类物质的生物检测方法[J]. 中国安全科学学报，2006，16(5)：135-140.

[12] 孙晞，欧仕益，彭喜春. 二恶英类化学物质生物检测方法研究进展[J]. 环境与职业医学，2007，24(2)：218-221.

[13] 郑明辉，杨柳春，张兵，等. 二噁英类化合物分析研究进展[J]. 分析测试学报，2002，21(4)：91-94.

[14] 姜欣，乔佩颖. 二噁英类的主要形成过程及分析方法[J]. 黑龙江环境通报，2008，32(2)：34-48.

[15] 黄超，陈凝，杨明嘉，等. 二噁英类化合物的毒性作用机制及其生物检测方法[J]. 生态毒理学报，2015，10(3)：50-62.