

曾鸿鹄,吴海兵,谭良良,等. 水中有机氯农药检测方法概述[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):13-17.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.004

水中有机氯农药检测方法概述

曾鸿鹄¹, 吴海兵¹, 谭良良², 梁延鹏¹, 章礼堂¹

(1. 桂林理工大学/广西矿冶与环境科学实验中心, 广西桂林 541004; 2. 南宁建宁水务投资集团有限责任公司, 广西南宁 530031)

摘要:综述了水中有机氯农药液液萃取和固相萃取的前处理方法,以及气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)和气相色谱-质谱联用(GC-MS)2种检测方法,并对水中有机氯农药前处理方法和检测方法进行了展望。

关键词:有机氯农药;萃取;测定;前处理;气相色谱;质谱

中图分类号: X592;TQ450.2⁺63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0013-04

有机氯农药(organochlorine pesticides, OCPs)是一种广谱、毒性较低、残效期长的化学杀虫剂。由于其在自然环境中的理化性质稳定而不易降解,且能通过食物链生物富集并得到扩散,危害性强^[1-3]。由食物链进入人体的有机氯农药能产生蓄积作用,从而危害人类健康^[4-6]。联合国环境规划署关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约中所列的逐步禁止生产和使用的21种持久性有机污染物中就包括多种有机氯农药^[7]。早在20世纪70年代初中国政府就颁布出台了停止多氯联苯生产的实施细则^[8],并于80年代初开始禁止六六六和滴滴涕的生产和使用^[9-10]。但由于有机氯化物具有很强的环境截留性和迁移多样性,同时具有较长的半衰期,难以降解。因此环境中有机氯农药超标现象仍时有发生^[11]。我国现行环境质量标准中对部分有机氯农药规定了限值,如海水水质标准(GB 3097—1997)和地表水环境质量标准(GB 3838—2002)等。但有机氯农药种类繁多,仍有许多组分的监测标准尚未建立。基于有机氯农药残留的危害性和检测有机氯农药残留的重要性,国家环境保护部在“十一五”环境监测方法修订规划中提出制订水质中有机氯农药监测方法标准^[12]。本文通过综述分析各种前处理技术和检测方法的优缺点,分析建立较为合适的方法用于检测水中有机氯农药。

1 有机氯农药的种类及其来源

1.1 有机氯农药的种类及其理化性质

有机氯农药主要分为两大类,一类是氯化脂环类化合物,常见的有狄氏剂、异狄氏剂七氯、氯丹、环氧七氯等。另一类是氯化苯及其衍生物,常见的有六六六(HCHs,包括其同分异构体)、滴滴涕(DDTs,包括其同分异构体)、六氯苯等。有机氯农药除少数为黏稠状液体外,大多数为白色或淡黄色结晶;大部分难溶或不溶于水,易溶于脂类和大多数有机溶剂,理化性质较为稳定,特别是氯苯类化学结构的化合物有较长时

间的残留致毒期。有机氯农药可通过与酶和蛋白质的结合从而吸附在生物体内,由于降解困难,从而在生物体内富集,甚至引发慢性中毒,动物实验证实其有致癌、致畸作用^[13]。

1.2 环境水体中农药污染的主要来源

残留于水体中的农药,主要源自以下几个方面:(1)历史用药残留;(2)农药生产工厂及从事农业活动的废水排放;(3)施用的农药经雨水冲淋和土壤渗透进入自然水体;(4)农药生产、加工过程中的损失,这类损失主要包括药品的挥发及生产、加工过程中产生的废气、粉尘的排放等。进入空气中的农药,随气流运动,污染的范围不断扩大,而有机氯农药具有很高的稳定性,其残留于空气中的时间更长,随空气的扩散,传播距离远、污染区域大、危害性更强。通过大气中水循环,残留在空气中的农药,随着蒸汽凝结及降雨,部分会转移进入水体^[14]。

2 测定水体中有机氯农药的前处理方法

研究表明,环境中残留的有机氯农药会在大气、土壤、水体、沉积物之间迁移^[15-16]。有机氯农药主要环境归宿之一的水环境,与人类和其他生物的生存具有密切关系,水体中有机氯农药检测技术的研究对于进一步研究有机氯农药在水体中的迁移规律,从而为控制其迁移,并最终消除其在环境中的存在具有重要意义^[17]。

水环境中残留的有机氯农药的浓度都很低,那么检测方法的关键在于是否适用于痕量的有机氯农药,于是样品前处理方法则至关重要^[18]。目前来说,液液萃取(liquid liquid extraction, LLE)和固相萃取(solid phase extraction, SPE)是水体中有机氯农药前处理的两种主要方法,此两种方法的理论和应用技术发展相对成熟。固相微萃取(solid phase micro extraction, SPME)因在萃取过程中不消耗有机溶剂而有利于节能环保和环境保护,发展迅速,是样品处理新方法。但目前该方法尚未稳定,对其研究仍在不断深入中^[19]。

2.1 液液萃取

液液萃取是使用一种液相溶剂从另一种液相介质中分离和提取有用物质的萃取方法,具有方法成熟、简单、稳定等优点^[20]。《生活饮用水标准检验方法》(GB/T 5750—2006)^[21]中提到水中六六六、滴滴涕的检测可采用液液萃取法^[22-24]。有机氯农药的前处理方法中,液液萃取是传统萃取方法^[25],但是有机溶剂的大量使用所附带产生的成本和环境污染以及

收稿日期:2014-01-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:51268008);教育部科学技术研究重点项目(编号:210170);广西高校优秀人才资助计划项目[编号:桂教人(2010)65号]。

作者简介:曾鸿鹄(1970—),女,四川资中人,博士,教授,研究方向为水污染(微污染)控制与处理。E-mail: zenghonghu@glite.edu.cn。
通信作者:谭良良,高级工程师。E-mail: whb11129@126.com。

操作时间过长所附带产生的耗时和效率低等问题,是制约液液萃取发展的重要因素。王娜^[26]用液液萃取富集,测定了水中有机氯农药,用加标法测得其回收率在 83.3% ~ 112.1%,但是其每个样品使用的有机萃取溶剂都高达 100 mL 以上。液液萃取技术由于消耗的有机溶剂相对较大,操作繁琐、费时,主要适用于样品体积较小,样品数量较少的前处理。

2.2 固相萃取

固相萃取是一种预处理方法,其方法发展结合了液固萃取和液相色谱相关技术。其基本原理是目标物(希望被分离)在固液或固气两相之间的再分配,其保留或洗脱,取决于目标物与各相之间的亲和力及分子作用力的大小,通过亲和力强度的不同从而选择被保留还是被洗脱。所以选择合适的固相填料,对能否达到理想的分离效果至关重要。其洗脱方式主要有 2 种,一种是直接洗脱目标物,主要适用于样品本身是有机溶剂,此时的固相萃取主要起净化作用,通常选用此种模式的样品需要经过净化;另一种是目标物先被固相填料吸附,然后用另一种与目标物亲和力更强的溶剂洗脱,此时的固相萃取主要是通过萃取小柱萃取、富集目标物。通常使用固相萃取的萃取、富集功能,即使用的是后一种模式^[27-29]。

与液液萃取所不同的是固相萃取法是使待萃取物在固相与液相或者气相之间进行分配、分离^[30]。而液液萃取则是待萃取物在两种互不相溶或多种不同液相之间的分配,从而得到分离富集。固相萃取法具有显著减少有机溶剂用量、提高样品前处理效率等优点,同时有利于环境保护和节约资源。固相萃取在水环境污染物和农药残留的检测中,应用日趋频繁且效果理想^[31-33]。固相萃取应用范围广泛^[34-36],无论是大体积样品还是小体积样品,均有较好的处理效果,特别适用于处理样品数目较大的检测分析,优势明显。

赵立达等^[37]用 C₁₈ 小柱,固相萃取水中 9 种有机氯农药,测得加标回收率在 71% ~ 121%,每个样品的有机萃取溶剂约为 25 mL。国外,在对水污染(农药)检测中,固相萃取应用广泛^[38-39],它能避免液液萃取所带来的许多问题,诸如各相之间的不完全分离,萃取结束后的除水净化过程以及大量的有机废液所带来的环境污染问题等。

2.3 固相微萃取

固相微萃取技术的基本原理是先将目标物吸附在石英纤维探头上(含有特定涂层),然后在气相色谱进样口内高温解吸,最后随载气进入色谱柱的目标物会在色谱柱内重新分离、分配,从而达到色谱分析的目的^[40-42]。固相微萃取是一种无溶剂萃取新技术,装置精巧、携带方便同时与其他萃取方法相比更有利于环境保护。在水质污染检测分析及环境污染物控制方面,包括现场采样分析及对样品进行初步定性分析等方面有很好的应用前景^[43-45]。

姜普查等^[46]测试比较了 3 种预处理方法萃取水中有机氯农药的线性关系和回收情况。液液萃取实际分析时需多次提取以提高回收率,消耗有机溶剂量大,固相萃取的回收效果比较理想,消耗有机溶剂较少。目前关于使用固相微萃取虽具有方便、快捷、不消耗溶剂等优点,但固相微萃取处理水样的报道相对较少^[47],其技术应用范围尚未得到有效扩大。

3 有机氯农药的检测方法

3.1 气相色谱法

对有机氯的检测,目前采用气相色谱法(GC-ECD)测定较为普遍^[48-52]。国际标准化组织(ISO)6468—1996 和美国环保总署(EPA)8081. a 方法中,对液体样品中有机氯农药的检测采用气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)法。方志宁^[53]、董春洲等^[54]利用气相色谱(配有 ECD)对水中有机氯农药进行检测,实验结果表明,此方法可以满足农药残留分析要求。但是,气相色谱法单一通过保留时间定性的局限性、较窄的线性范围以及高浓度样品可能会污染 ECD 检测器等往往影响到测定结果的可靠性^[55]。

气相色谱法检测有机氯农药主要是基于 ECD 对电负性化合物(特别是卤代物)的选择性强、灵敏度高^[56-57]等优点。其基本原理为:有机氯农药结构中带有负电性元素(氯),当样品在进样口气化(进样口温度要足够高)随着载气进入色谱柱后,由于载气中含有的负电性元素会大量捕获由放射性同位素放射的 β -粒子轰击载气而产生的电子(同时产生的还有正离子流),形成负离子。同时生成的负离子会与正离子流相结合,从而导致基流明显下降,此时仪器会输出一个负极性的电信号,在数据上以峰的形式表达出来。ECD 是放射性离子化检测器的一种,以 ECD 作为检测器一般的最低检出浓度值都较低^[58-61],因此多年来在农残检测方面应用广泛。

3.2 气相色谱-质谱联用

近年来气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术越趋成熟,它兼具气相色谱高分离效能和质谱准确定性的特点,克服了气相色谱单独靠保留时间定性的局限性,集定性定量检测于一体。同时多种扫描方式和质量分析技术的发展使得 GC-MS 在检测目标化合物的特征离子时,具有选择性高、干扰少等优点,在农药残留分析中应用甚广^[62-64]。例如《生活饮用水标准检验方法》(GB/T 5750. 8—2006)中建议水样中有机氯农药用质谱检测器检测。欧盟 2002-657-EC 规定了有机残留物和污染物的确认方法^[65],其中,GC-MS 是有机污染物定性定量分析的重要方法。

随着质谱技术的不断发展与进步,质谱检测的灵敏度和稳定性都有了较大的提高,选择离子扫描方式(SIM)^[66-68],质谱仪可以将灵敏度提高 2~3 个数量级。基于质谱检测的以上优点,在有机氯农药的检测方法中,气质联用技术具备单独使用气相所不具备的相关优点^[69-71]。对于较为复杂的样品,其基质中含有大量的杂质,即使通过净化,也可能对目标化合物的分析产生一定干扰,此时用质谱定性准确这个优点,选择离子扫描对各个目标化合物特有的特征离子进行检测,降低了杂质背景的干扰^[72-74]。刘丰茂等使用 GC-MS 对水中 12 种农药进行检测,得到的结果较为理想^[75]。杨丽莉等使用 GC-MS 检测水中 9 种有机氯农药,准确得到定性、定量结果^[76]。

4 展望

水中有机氯农药的检测主要是色谱分析,而色谱分析中,样品前处理是十分关键的步骤^[77-78],其处理结果将直接影响色谱分析结果进而影响最后的结论。

近年来,固相萃取技术已十分成熟,而固相萃取条件的优化设置则是该技术方法的关键。要想获得较好的回收率和精密度,固相萃取条件的优化将必不可少,包括萃取小柱填料的选择^[79-81]、过柱流速的控制^[67,82]、样品的 pH 值^[83]、甲醇的

加入量^[84]、洗脱剂的选择^[82]等,这些条件的设置将会直接影响试验结果。今后,固相萃取条件优化研究,将是扩大固相萃取应用范围的有力保障。

有机氯的检测主要包括 2 类,第一类是使用 GC-ECD,第二类是使用 GC-MS(使用 MS 检测器)。这两种方法都具有一定的优缺点:GC-ECD 的主要优点在于 ECD 对卤代物选择性强,灵敏度高,缺点在于对多种组分定性上,可靠性难以保证。GC-MS 的主要优点在于定性较为准确,主要缺点在于即使使用离子扫描方式,质谱检测器相对与 ECD 的灵敏度仍有不足。因此,是否可考虑先用 GC-MS 辅助定性,再以 GC-ECD 作为检测分析有机氯的主要方法,这样既可有效弥补了单独使用 GC-ECD 在可靠性上的缺点,又保留了 ECD 灵敏度高的优点。

参考文献:

- [1] Bidleman T F, Walla M D, Roura R, et al. Organochlorine pesticides in the atmosphere of the Southern Ocean and Antarctic, January - March[J]. Marine Pollution Bulletin, 1993, 26: 258 - 262.
- [2] Loganathan B G, Kannan K G. Organochlorine contamination trends: an overview[J]. Ambio, 1994, 23(3): 187 - 191.
- [3] Tanabe S, Hidaka H, Tatsukawa R. PCBs and chlorinated hydrocarbon pesticides in Antarctic atmosphere and hydrosphere[J]. Chemosphere, 1983, 12(2): 277 - 288.
- [4] Jaga K. What are the implications of the interaction between DDT and estrogen receptors in the body? [J]. Medical Hypotheses, 2000, 54(1): 18 - 25.
- [5] Zumbado M, Goethals M, Alvarez - León E E, et al. Inadvertent exposure to organochlorine pesticides DDT and derivatives in people from the Canary Islands (Spain) [J]. Science of the Total Environment, 2005, 339(1/2/3): 49 - 62.
- [6] Leary E S, John E V, Freudenheim J L, et al. Pesticide exposure and risk of breast cancer: a nested case control study of residentially stable women living on Long Island[J]. Environmental Research, 2004, 94(2): 134 - 144.
- [7] Whitcomb B W, Schisterman E F, Buck G M, et al. Relative concentrations of organochlorines in adipose tissue and serum among reproductive age women[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2005, 19(2): 203 - 213.
- [8] 联合国环境规划署. 有关持久性有毒物质的区域报告[R]. 内罗毕: 联合国环境规划署, 2002.
- [9] Li Y F, Cai D J, Shan Z J, et al. Gridded usage inventories of technical hexachlorocyclohexane and lindane for China with 1/6 degrees latitude by 1/4 degrees longitude resolution[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2001, 41(3): 261 - 266.
- [10] Qiu X H, Zhu T, Yao B, et al. Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China[J]. Environmental Science and Technology, 2005, 39(12): 4385 - 4390.
- [11] 赵琼晖, 靳保辉, 谢丽琪, 等. 气相色谱-质谱法测定茶叶中的 25 种有机氯农药残留[J]. 色谱, 2006, 24(6): 629 - 632.
- [12] 李杰, 韦桂欢, 席 骁, 等. 固相萃取-气相色谱法测定水中有机氯农药[J]. 舰船科学技术, 2010, 32(12): 107 - 110.
- [13] Wong C K, Yeung H Y, Cheung R Y, et al. Ecotoxicological assessment of persistent organic and heavy metal contamination in Hong Kong coastal sediment[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2000, 38(4): 486 - 493.
- [14] 谷雪景. 水质有机氯农药和氯苯类化合物的测定[R]. 泰州: 泰

州市环境监测中心站, 2001.

- [15] 曹红英, 梁 涛, 陶 澍. 北京地区有机氯农药的跨界面迁移与归趋[J]. 应用基础与工程科学学报, 2004, 12(3): 249 - 258.
- [16] Simcik M F. Air monitoring of persistent organic pollutants in the Great Lakes: IADN vs. AEOLUS[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2005, 100(1/2/3): 201 - 216.
- [17] 曲 仪, 李树石, 何英男. 气相色谱法测定城市自来水中有机氯农药的残留[J]. 环境保护科学, 2005, 31(1): 47 - 49.
- [18] 董春洲, 王文芳. 顶空固相微萃取气相色谱法测定水中有机氯农药及类似物[J]. 化学分析计量, 2006, 15(1): 27 - 29.
- [19] 陈华才. 简论农药残留量检测中的样品前处理技术[J]. 中国计量学院学报, 2002, 13(3): 77 - 81.
- [20] 余益军, 苏冠勇, 林汉华, 等. 阳离子表面活性剂 Aliquat 336 对水中双酚 A 的浊点萃取及作用机制[J]. 分析化学, 2009, 37(12): 1717 - 1721.
- [21] GB/T 5750—2006 生活饮用水标准检验方法[S].
- [22] GB/T 5750.9—2006 生活饮用水标准检验方法: 农药指标[S].
- [23] 中华人民共和国卫生部. 生活饮用水卫生规范[S].
- [24] 国家环境保护局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [25] Li H P, Li G C, Jen J F. Determination of organochlorine pesticides in water using microwave assisted headspace solid - phase microextraction and gas chromatography[J]. Journal of Chromatography, 2003, 1012(2): 129 - 137.
- [26] 王 娜. 液-液萃取富集-气相色谱法测定水中有机氯农药和多氯联苯[J]. 理化检验: 化学分册, 2011, 47(3): 327 - 330.
- [27] 柳丽丽, 陈 莎, 任 仁. 有机氯农药的固相萃取前处理技术和分析方法[J]. 北京工业大学学报, 2003, 29(1): 68 - 72.
- [28] Browska H, Browski L, Biziuk M, et al. Solid - phase extraction clean - up of soil and sediment extracts for the determination of various types of pollutants in a single run[J]. Journal of Chromatography, 2003, 1003: 29 - 42.
- [29] 中国环境监测总站. 美国 SW - 846 环境监测方法 (EPA3535A 固相萃取)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2010.
- [30] 黄翠玲. 固相萃取/高效液相色谱/质谱联机分析饮用水中超痕量农药残留方法研究[D]. 北京: 北京科技大学, 2000.
- [31] 史景程, 张丽君, 张占恩. 分散固相萃取-气相色谱-质谱法直接测定水中 20 种有机氯农药[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(7): 284 - 286.
- [32] 于彦彬, 万述伟, 谭培功, 等. PSA 分散固相萃取液相色谱荧光法测定蔬菜和水果中的灭定威[J]. 分析测试学报, 2005, 24(5): 75 - 77, 81.
- [33] Conka K, Drobná B, Kocan A, et al. Simple solid - phase extraction method for determination of polychlorinated biphenyls and selected organochlorine pesticides in human serum[J]. Journal of Chromatography, 2005, 1084(1/2): 33 - 38.
- [34] 谢湘云, 沈爱斯, 叶江雷, 等. 固相萃取小柱净化-气相色谱法测定土壤和沉积物中有机氯和拟除虫菊酯农药残留[J]. 环境化学, 2006, 25(3): 347 - 350.
- [35] Nicoara S C, Minnikin D E, Lee O C, et al. Development and optimization of a gas chromatography/mass spectrometry method for the analysis of thermochemolytic degradation products of phthiocerol dimycocerosates waxes found in *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2013, 27(21): 2374 - 2382.
- [36] Ruiz J, Antequera T, Andres A I, et al. Improvement of a solid phase extraction method for analysis of lipid fractions in muscle foods[J].

- Analytica Chimica Acta, 2004, 520(1/2): 201–205.
- [37] 赵立达, 龚文杰, 马建明. 固相萃取源水中有机氯农药的测定方法探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(10): 1206–1207.
 - [38] Ozcan S, Tor A, Aydin M E. Application of magnetic nanoparticles to residue analysis of organochlorine pesticides in water samples by GC/MS[J]. Journal of AOAC International, 2012, 95(5): 1343–1349.
 - [39] Chee K K, Wong M K, Lee H K. Determination of organochlorine pesticides in water by membranous solid e – phase extraction, and in sediment by microwave assisted solvent extraction with gas chromatography and electron – capture and mass spectrometric detection[J]. Journal of Chromatography, 1996, 736: 211–218.
 - [40] Berlardi R P, Pawliszyn J. The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns[J]. Water Pollut Res J Canada, 1989, 24: 179–191.
 - [41] 贾金平, 何 翊, 黄骏雄. 固相微萃取技术与环境样品前处理[J]. 化学进展, 1998, 10(1): 74–84.
 - [42] 马继平, 王涵文, 关亚凤. 固相微萃取新技术[J]. 色谱, 2002, 20(1): 16–20.
 - [43] Fernández M, Padrón C, Marconi L, et al. Determination of organophosphorus pesticides in honeybees after solid – phase microextraction[J]. Journal of Chromatography, 2001, 922(1/2): 257–265.
 - [44] 袁 宁, 余彬彬, 张茂升, 等. 微波辅助萃取 – 固相微萃取 – 气相色谱法同时测定茶叶中的有机氯和拟除虫菊酯农药残留[J]. 色谱, 2006, 24(6): 636–640.
 - [45] 胡玉玲, 钟伟健, 李攻科. 固相微萃取 – 高效液相色谱联用分析环境水样中的氨基甲酸酯农药[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2004, 43(6): 124–127.
 - [46] 姜普查, 徐 旭, 梁一灵, 等. 水中 OCPs 预处理方法比较[J]. 中国计量学院学报, 2007, 18(3): 249–252.
 - [47] Wu J C, Tragas C, Lord H, et al. Analysis of polar pesticides in water and wine samples by automated in – tube solid – phase microextraction coupled with high – performance liquid chromatography – mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography, 2002, 976(1/2): 357–367.
 - [48] 孙逸山, 徐红玲. GC – MS 在水中有有机氯农药监测中的应用[J]. 水利技术监督, 2007, 15(5): 26–28.
 - [49] Ene A, Bogdevich O, Sion A. Levels and distribution of organochlorine pesticides (OCPs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in topsoils from SE Romania[J]. Science of the Total Environment, 2012, 439: 76–86.
 - [50] 王若苹. 饮用水源地的有机氯农药测定[J]. 中国环境监测, 2007, 23(5): 31–34.
 - [51] 刘 艳, 高 娟, 聂丽军, 等. 气相色谱法测定南昌市水源水与饮用水 10 种有机氯农药残留[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(21): 12814–12817.
 - [52] 龙素群, 钟志京, 何小波, 等. 水中有有机氯农药的固相萃取 – 气相色谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(8): 704–706.
 - [53] 方志宁. 气相色谱法测定水中有有机氯农药[J]. 化学工程与装备, 2008(5): 100–102.
 - [54] 董春洲, 杨 敏, 齐本菊. 水中有有机氯农药的顶空固相微萃取气相色谱测定[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(12): 1518–1519.
 - [55] 郭 琴, 孙 琦, 苏敬武. GC – MS 内标法测定生活饮用水中有有机氯农药残留量[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(1): 55–56.
 - [56] 樊吉平. ECD 气相色谱法同时测定多种有机氯和有机磷农药[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(6): 1253–1254.
 - [57] Shen Z G, He Z Y, Wang P, et al. Low – density magnetofluid dispersive liquid – liquid microextraction for the fast determination of organochlorine pesticides in water samples by GC – ECD[J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 793: 37–43.
 - [58] 初丽伟, 阎吉昌, 陈 丹, 等. 生晒参、全须生晒参中 19 种有机氯残留农药的毛细管气相色谱测定[J]. 分析化学, 2006, 34(10): 1482–1486.
 - [59] Chen M J, Liu Y T, Lin C W, et al. Rapid determination of triclosan in personal care products using new in – tube based ultrasound – assisted salt – induced liquid – liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography – ultraviolet detection[J]. Analytica Chimica Acta, 2013, 767: 81–87.
 - [60] Dong C Z, Zeng Z R, Yang M. Determination of organochlorine pesticides and their derivations in water after HS – SPME using polymethylphenylvinylsiloxane – coated fiber by GC – ECD[J]. Water Research, 2005, 39(17): 4204–4210.
 - [61] Xiang Z X, Zhao W J, Gao S L. Determination of organochlorine insecticide residues in *Lonicera japonica* Thunb. by gas chromatography[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2005, 14(2): 62–68.
 - [62] 王旭东, 宋 姚, 王 磊, 等. 固相萃取气质联用测定水中痕量有机氯农药[J]. 中国给水排水, 2009, 25(12): 79–82.
 - [63] 许秀艳, 张 颖, 程麟钧, 等. 固相萃取 – GC/MS 法测定水中 16 种有机氯农药[J]. 环境监测管理与技术, 2010, 22(6): 51–54.
 - [64] Schellin M, Popp P. Membrane – assisted solvent extraction of seven phenols combined with large volume injection – gas chromatography – mass spectrometric detection[J]. Journal of Chromatography, 2005, 1072(1): 37–43.
 - [65] Vargas M, Gascon J, Jimenez D A M T, et al. Prevalence of shigella enterotoxins 1 and 2 among shigella strains isolated from patients with traveler’s diarrhea[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1999, 37(11): 3608–3611.
 - [66] Katase T, Okuda K, Kim Y S, et al. Estrogen equivalent concentration of 13 branched para – nonylphenols in three technical mixtures by isomer – specific determination using their synthetic standards in SIM mode with GC – MS and two new diastereomeric isomers[J]. Chemosphere, 2008, 70(11): 1961–1972.
 - [67] Bonansea R I, Amé M V, Wunderlin D A. Determination of priority pesticides in water samples combining SPE and SPME coupled to GC – MS. A case study: Suquia River Basin (Argentina) [J]. Chemosphere, 2013, 90(6): 1860–1869.
 - [68] 王万红, 王颜红, 王世成, 等. GC – MS 测定土壤中阿特拉津、六氯苯等十种农药残留[J]. 环境化学, 2009, 28(6): 899–903.
 - [69] 高 玲, 杨 元, 景 露, 等. 饮水中 57 种农药的 GC/MS 确证检验方法[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(8): 1847–1849, 1853.
 - [70] Selvi C, Paramasivam M, Rajathi D S, et al. Multiresidue analysis of organochlorine pesticides in milk, egg and meat by GC – ECD and confirmation by GC – MS[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2012, 89(5): 1051–1056.
 - [71] Zacharis C K, Tzanavaras P D, Roubos K, et al. Solvent – based de – emulsification dispersive liquid – liquid microextraction combined with gas chromatography – mass spectrometry for determination of trace organochlorine pesticides in environmental water samples[J]. Journal of Chromatography, 2010, 1217(38): 5896–5900.
 - [72] 佟 玲, 黄园英, 张玲金, 等. 气相色谱 – 质谱法测定土壤中有有机氯农药及多氯联苯[J]. 理化检验: 化学分册, 2009, 45(7): 858–861.

孙小龙,付永前. C_4 二羧酸全生物合成技术的研究现状与展望[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):17-20.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.12.005

C_4 二羧酸全生物合成技术的研究现状与展望

孙小龙,付永前

(南京工业大学生物与制药工程学院/材料化学工程国家重点实验室,江苏南京 210009)

摘要:富马酸、 L -苹果酸和 L -天冬氨酸是 3 种典型的 C_4 二羧酸,目前工业化生产富马酸多采用化学合成法,以石油基富马酸为平台化合物,进一步衍生出 L -苹果酸和 L -天冬氨酸。依托于石油基工业生产 C_4 二羧酸的工艺不仅带来较多负面问题,同时也限制了 3 种 C_4 二羧酸在食品、医药等领域的应用。随着生物制造技术的不断发展,开发 C_4 二羧酸全生物合成技术成为历史必然。本文对生物合成富马酸、 L -苹果酸和 L -天冬氨酸的现状及其存在问题进行了综述,并对 3 种 C_4 二羧酸的全生物合成技术的可行性及发展进行了分析与展望。

关键词:富马酸; L -苹果酸; L -天冬氨酸;生物合成

中图分类号: Q819 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)12-0017-04

依托于石油基工业的 C_4 二羧酸是重要的基础化工原料,其应用范围已涉及到国民生活中的各个方面,俨然成为社会稳定、人类可持续发展的重要基石。富马酸是一种典型的 C_4 二羧酸,可广泛应用于化工、食品、医药、涂料等行业,目前全世界富马酸的需求量为 1.00×10^6 t/年,我国富马酸产能就达到了 $(1.0 \sim 1.5) \times 10^5$ t/年,其中,有 40% 来自江苏,主要生产企业包括常茂生化有限公司、宜兴前成有限公司、南京利邦有限公司等,其中 2/3 市场份额主要用于生产不饱和树脂、醇酸树脂,而纯度高于 99% 的食品级富马酸(主要应用于酸味剂、防腐剂、抗氧化剂、pH 调节剂、饲料添加剂等领域),加

上医药级富马酸盐(主要应用于临床医学上)不足市场份额的 1/3。目前工业上富马酸主要通过顺酐异构和糠醛氧化等化学方法制得,其制备工艺过程普遍存在生产条件苛刻、催化剂毒性大、环境污染严重等缺点,严重破坏了人类的生存环境,同时产品的安全性限制了在食品及医药领域的应用^[1]。

L -苹果酸是利用富马酸衍生的 C_4 二羧酸之一。国内苹果酸的生产企业主要包括南京国海有限公司、常茂生化有限公司、恒康有限公司等,生产工艺主要采用石油基富马酸,通过生物酶转化合成 L -苹果酸,石油基富马酸所存在的安全性同样也限制了 L -苹果酸的进一步应用,然而, L -苹果酸所具有的多种特殊生理功能,如护肝、解毒、抗疲劳、减肥等,给其发展带来了巨大的市场空间,同时, L -苹果酸在某些新兴应用领域也具有巨大的市场,如南京国海开发的 DME 添加剂能抑制瘤胃酸中毒,提高饲料利用率,增加产奶量。此外,苹果酸作为酸味剂,在某些传统领域部分替代柠檬酸,将增加 $(2.0 \sim 3.0) \times 10^5$ t 的潜在市场^[2]。

L -天冬氨酸是另外一种利用富马酸衍生的 C_4 二羧酸,

收稿日期:2014-01-08

基金项目:国家自然科学基金(编号:21106091);国家“863”计划(编号:2011AA02A206)。

作者简介:孙小龙(1989—),女,江苏盐城人,硕士研究生,研究方向为可再生资源开发利用以及微生物的代谢调控。E-mail:377801324@qq.com。

通信作者:付永前。E-mail:fuyq@tzc.edu.cn。

[73] Schellin M, Hauser B, Popp P. Determination of organophosphorus pesticides using membrane-assisted solvent extraction combined with large volume injection-gas chromatography-mass spectrometric detection[J]. Journal of Chromatography, 2004, 1040(2): 251-258.

[74] Nevado J J, Cabanillas C G, Llerena M J, et al. Sensitive SPE GC-MS-SIM screening of endocrine-disrupting herbicides and related degradation products in natural surface waters and robustness study[J]. Microchemical Journal, 2007, 87(1): 62-71.

[75] 刘丰茂,钱传范,江树人. 水中 12 种农药的固相萃取及 GC-MS 测定方法研究[J]. 农药学报, 2000, 2(2): 89-93.

[76] 杨丽莉,母应锋,胡恩宇,等. 固相萃取-GC/MS 法测定水中有机氯农药[J]. 环境监测管理与技术, 2008, 20(1): 25-28.

[77] 汪正范. 色谱分析中的样品前处理[M]. 北京:化工出版社, 2005.

[78] Poole C F. New trends in solid-phase extraction[J]. Trends in

Analytical Chemistry, 2003, 22(6): 362-373.

[79] 田蕴,郑天凌,王新红. 厦门西港表层沉积物中多环芳烃(PAHs)的含量、分布及来源[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35(1): 15-20.

[80] Tamn F Y, Ke L, Wang X H. Concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps[J]. Environmental Pollution, 2001, 114: 255-263.

[81] 支辛辛,汪雨,张玲金. 利用炭石灰固相萃取测定水中的有机氯农药[J]. 分析测试学报, 2006, 25(5): 30-32, 37.

[82] 戴树桂, Publiel T T, 张东梅, 等. 固相萃取技术预富集环境水样中邻苯二甲酸酯[J]. 环境科学, 2000, 21(2): 66-69.

[83] 龙庆云,张洪彬,韦桂欢,等. 固相萃取-气质联用测定水中半挥发性有机物研究[J]. 舰船科学技术, 2010, 32(12): 102-106.

[84] 徐恒振,宣秋江,周传光,等. 10 种多氯联苯和 16 种有机氯农药的分离与检测[J]. 环境化学, 2009, 28(4): 585-589.