

气质联用检测土壤中有机磷农药的优化研究

许延霞^{1,2}, 梁巧兰¹

(1. 甘肃农业大学, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省金昌市环境保护局, 甘肃 金昌 737100)

摘要: 采用气相色谱-质谱法检测土壤样品中敌敌畏、内吸磷、甲基对硫磷、马拉硫磷和对硫磷的残留量, 对土壤样品的前处理方法进行了优化。确定的优化方法为土壤样品用乙腈振荡提取, 在旋转蒸发仪上用40℃旋转浓缩至约2 mL左右, 取下后在氮吹仪上用氮气吹干, 在选定的质谱条件下对土壤样品进行分析检测。实际土壤样品均未检出, 在0.2、0.4、0.6 μg/mL添加水平下, 该方法加标回收率为75.5%~121.5%, 相对标准偏差在2.3%~8.7%, 检出限0.25~0.82 μg/kg。

关键词: 气相色谱-质谱法; 土壤; 有机磷农药; 优化

中图分类号: X502 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)07-0008-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.07.004

在我国, 六六六、滴滴涕等有机氯农药被禁用后, 有机磷农药成为我国用量最大、使用范围最广的一类农药^[1]。有机磷农药与其他种类农药相比, 具有高效、快速、广谱等特点^[2], 主要用于植物病、虫害的防治。为了保障效益与产量,

农药在农业生产中被广泛大量使用, 但有机磷农药也存在残留高、毒性强等问题, 势必会对环境造成严重污染^[3]。特别是在环保意识日益增强的现代社会, 有机磷农药污染的严重性已引起了高度重视^[4-6]。内吸磷、甲基对硫磷、对硫磷、马拉

收稿日期: 2017-03-14

作者简介: 许延霞(1985—), 女, 甘肃金昌人, 在职硕士研究生, 助理工程师, 主要从事环境检测工作。联系电话: (0)18189454446。E-mail: 372022093@qq.com。

通信作者: 梁巧兰(1968—), 女, 甘肃崇信人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要研究方向为作物保护和生物防治。E-mail: liangql@gsau.edu.cn。

5.2 轮作倒茬

要轮作倒茬, 忌连茬和重茬, 轮作3 a以上, 否则会加重病虫害, 影响生产。

5.3 合理施肥, 适时灌水

一般N、P₂O₅、K₂O按质量比为2:1:1的比例施基肥。现蕾期灌水并追施N 150 kg/hm²。

5.4 选择播期, 合理密植

应根据地力以及种植习惯合理调整密度有利于获得好的商品性。一般播量45 000粒/hm²左右。

5.5 田间管理

及时间苗定苗, 中耕锄草, 苗期控制浇水进行蹲苗。做好病、虫、鸟、鼠的危害防治工作。

5.6 及时收获

花盘发黄、籽粒皮壳干硬时即可收获。收货后及时脱粒、摊晒, 防止霉烂造成损失。

参考文献:

[1] 李昕升, 王思明. 近十年来美洲作物史研究综述(2004-2015)[J]. 中国社会经济史研究, 2016(1): 99-107.

[2] 王兴珍, 卯旭辉, 贾秀苹, 等. 甘肃省向日葵产业发

展现状和对策[J]. 甘肃农业科技, 2017(3): 174-177.

[3] 梁根生, 卯旭辉, 贾秀苹, 等. 甘肃省向日葵主要病害的发生及其防治措施[J]. 甘肃农业科技, 2016(11): 92-94.

[4] 段学艳, 杨海峰, 樊云茜, 等. 食用向日葵杂交种临葵1号的选育及栽培技术[J]. 山西农业科学, 2016, 44(7): 925-926.

[5] 孔德胤, 李军, 包佳婧. 2016年河套灌区食用向日葵结实率偏低原因分析[J]. 农业与技术, 2017, 37(4): 22-23.

[6] 石涛. 对民勤县食用向日葵产业健康发展的几点思考[J]. 农业经济问题, 2016(19): 8-9.

[7] 王文军, 黄绪堂, 李岑, 等. 食用向日葵杂交种龙食葵5号的选育[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 2016, 32(5): 65-66.

[8] 陈作兴, 王天礼. 食用向日葵新品种AD630选育报告[J]. 甘肃农业科技, 2016(6): 23-24.

[9] 李联社, 王德寿, 张永平, 等. 食用向日葵新品种SH361选育报告[J]. 甘肃农业科技, 2015(9): 37-38.

[10] 柳延涛, 刘胜利, 李万云, 等. 食用型向日葵新品种新食葵7号的选育与高产栽培技术[J]. 种子, 2016, 35(5): 110-111.

(本文责编: 杨杰)

硫磷和敌敌畏残留量的测定方法有气相色谱法、高效液相色谱法和气相色谱-质谱法等。国内外关于有机磷农药残留的检测方法已有诸多报道。乐洋^[7]研究了用索氏提取或加速溶剂萃取对土壤样品中的有机磷农药进行提取,旋转蒸发浓缩后,用小柱净化或凝胶渗透色谱法净化氮吹浓缩后,用GC-MS分析。贵铁砚等^[8]探讨了用GC-MS测定土壤中有机磷农药的方法。在此背景下,对土壤中农药残留量进行全面监测,具有十分重要意义^[9]。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试农药样品为敌敌畏、内吸磷、甲基对硫磷、马拉硫磷和对硫磷的标准品,均购于农业部标准物质研究所。试验土壤样品采自金昌市永昌县已种植过辣椒的农田。共采集4份。将采集的土壤样品去除杂物,经研磨过60目(孔径0.25 mm)筛,装入棕色玻璃瓶备用。

1.2 仪器与试剂

仪器有气相色谱-质谱联用仪 Thermo-scientific ITQ1100; 数控旋转蒸发仪 Hei-VAP Advantage ML/HB/G; 氮吹仪 N-EVAPTM111, Organomation Associates, Inc; TTL-800型萃取净化振荡器; MMV-1000W萃取振荡仪; TGL20M台式高速冷冻离心机。试剂有正己烷(Hexane)、乙腈(Acetonitrile)、丙酮(Acetone)、二氯甲烷(Dichloromethane),均为色谱纯,进口农残级;无水硫酸钠为马弗炉400℃烘4h,优级纯;氯化钠为马弗炉400℃烘4h,优级纯。

1.3 试验方法

1.3.1 质谱分析条件设定及标准曲线的建立 色

谱柱: DB-5MS, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm; 色谱条件为进样口温度250℃,进样量1 μL,载气为高纯氮气(纯度>99.999%),载气流量1.0 mL/min。色谱柱升温程序为初始温度40℃,保持1 min,以8℃/min升温至160℃,保持5 min;后以5℃/min升至280℃,保持4 min。

质谱条件: 离子化方式为EI源,检测器温度250℃,检测模式为选择性扫描(SIM),循环时间50 min,真空度36 mTorr,离子源电子能量70 eV。

标准曲线的建立: 以表液浓度为横坐标(x),峰面积为纵坐标(y)作标准曲线,得标准曲线的回归方程。

1.3.2 提取剂的选择 分别以丙酮、二氯甲烷、乙腈为土壤样品中敌敌畏,内吸磷,甲基对硫磷,马拉硫磷和对硫磷的提取剂,比较提取剂的提取效果。

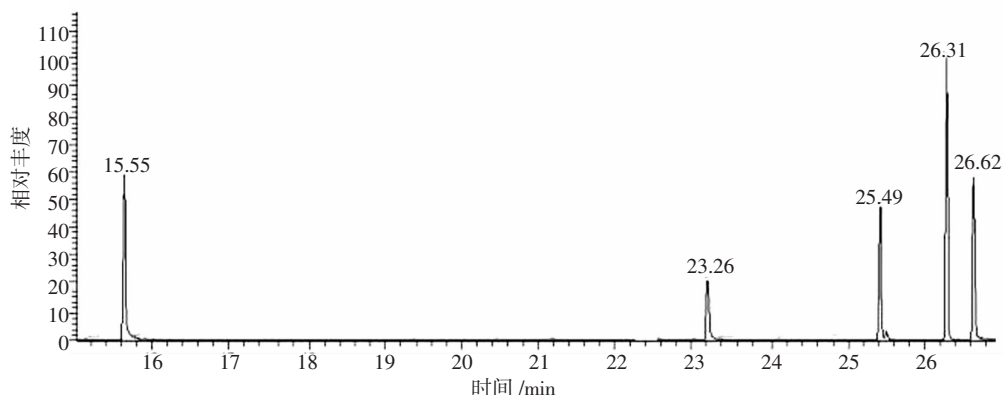
1.3.3 旋转蒸发温度对加标回收率的影响 旋转蒸发温度分别设为36、40、45℃,测定不同温度下土壤的加标回收率和旋转蒸发的效率。

1.3.4 氮吹时氮气的流速对加标回收率的影响 在氮吹的过程中,测定采用不同的气体流速在液体面上吹出2 mm深度的水涡和4 mm深度的水涡时的加标回收率,以寻求加标回收率达到最佳。

2 结果与分析

2.1 质谱分析条件优化及标准曲线建立

2.1.1 质谱分析条件优化 从图1可以看出,在选定的试验条件下,对敌敌畏、内吸磷、甲基对硫磷、马拉硫磷和对硫磷5种有机磷农药进行分析,在质谱优化的条件下,均能达到很好分离,而且离子丰度都很好。



从左至右依次为: 敌敌畏、内吸磷、甲基对硫磷、马拉硫磷、对硫磷

图1 GC-MS检测5种有机磷农药的标样色谱

2.1.2 标准曲线建立 以正己烷为对照, 将敌敌畏、内吸磷、甲基对硫磷、马拉硫磷、对硫磷 5 种药剂单标配制成混标, 制备 10、20、30、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 6 个浓度系列。根据设定的质谱分析条件, 建立了标准曲线, 得到各相关待测组分的回归方程, 且相关关系极显著(表1)。

表 1 有机磷农药的线性测定结果

序号	名称	线性回归方程	线性相关系数
1	敌敌畏	$y=66.54x-4212.1$	0.999 2
2	内吸磷	$y=60.24x-1235.2$	0.997 1
3	甲基对硫磷	$y=72.54x-3374.1$	0.996 9
4	马拉硫磷	$y=102.54x-4 135.4$	0.998 1
5	对硫磷	$y=80.45x-2 145.6$	0.999 1

2.2 土壤样品提取剂筛选

从筛选结果(表2)看, 丙酮在提取的过程中易挥发, 而且容易产生乳化现象, 得到的试验数据不可靠, 所以在试验中丙酮不作为提取溶剂; 二氯甲烷作为提取剂, 其极性比较弱, 在净化中不容易净化, 对于水溶性的农药提取效果不是很好, 其回收率比较低; 乙腈本身是极性溶剂, 溶解力比较好, 不易带杂质, 能够满足农药残留分析中提取要求的分析, 用乙腈对 5 种农药进行提取, 其平均回收率为 85.3%~103.2%, 比较稳定, 因此选乙腈作为土壤样品提取剂。

表 2 5 种农药在不同提取溶剂中的回收率

序号	农药名称	平均回收率/%		
		丙酮	二氯甲烷	乙腈
1	敌敌畏	66.3	79.2	85.3
2	内吸磷	70.2	77.6	86.9
3	甲基对硫磷	69.2	80.7	93.1
4	马拉硫磷	135.8	96.4	103.2
5	对硫磷	44.2	75.3	90.7

2.3 旋转蒸发温度对加标回收率的影响

从试验结果(表3)可知, 当水浴温度低于 36 $^{\circ}\text{C}$ 时, 旋转蒸发效率极低, 不符合加标回收率的范围要求。将水浴温度调至 45 $^{\circ}\text{C}$ 以上时, 乙腈的蒸发速度较快, 与之前相比加标回收率稍有偏低, 但也处于合理范围之内; 当温度控制在 40 $^{\circ}\text{C}$ 时, 加标回收率比较理想, 既可以提高土壤的加标回收率又可保证旋转蒸发效率。

2.4 氮吹时氮气的流速对加标回收率的影响

通过表 4 可以看出, 当气体的流速在液体面上吹出 2 mm 深的水涡时, 土壤样品的加标回收率较好; 小于 2 mm 时, 氮吹过程的效率较低, 但对加标回收率的影响变化不大; 当气体的流速在液体面上吹出 4 mm 深的水涡时, 加标回收率较差。

2.5 优化条件下气质联用方法检测有机磷农药的灵敏性

2.5.1 有机磷农药的检出限 根据美国环保局(EPA)SW-846 规定的方法确定检出限(MDL): 检出限 $=S \times t_{(n-1, 0.99)}$; n 为重复分析样品的个数; $t_{(n-1, 0.99)}$ 是指 99% 的置信度、自由度为 $n-1$ 时 t 的值; n 为重复分析样品的个数; 当 $n=7$ 时, 在 99% 的置信区间下, $t_{6, 0.99}=3.143$, S 是空白土壤样品, 重复测定 7 次的标准偏差(RSD)。

取空白土壤样 20 g, 加入配制好的含有 1 $\mu\text{g/L}$ 内标物的标准溶液 20 mL, 平行测定 7 次, 根据表 1 公式计算得出 5 种有机磷的检出限(表5)。

2.5.2 气质联用检测方法准确度和精密度 在选定的质谱条件和土壤样品前处理方法优化条件下, 添加回收的结果(表5)表明, 在 0.2、0.4、0.6 $\mu\text{g/mL}$ 添加水平下, 加标回收率为 75.5%~121.5%, 相对标准偏差在 2.3%~8.7%, 方法检出限在 0.25~0.82 $\mu\text{g/kg}$ 。5 种有机磷农药均满足试验要求。

2.6 气质联用对土壤中 5 种有机磷农药的检测

2.6.1 土壤样品的前处理 根据试验筛选结果,

表 3 旋转蒸发温度对 5 种有机磷农药加标回收率的影响

序号	温度/ $^{\circ}\text{C}$	加标回收率/%				
		敌敌畏	内吸磷	甲基对硫磷	马拉硫磷	对硫磷
1	40	96.3	95.3	94.2	92.5	96.4
2	40	94.2	96.7	94.2	94.2	91.2
3	40	93.2	94.5	96.5	94.7	97.2
4	45	84.2	86.7	84.2	87.5	86.5
5	45	82.5	81.2	78.5	79.4	80.2
6	45	83.2	90.7	85.2	78.5	76.2

表 4 不同氮吹流速下 5 种有机磷农药的加标回收率

序号	水涡深度/mm	加标回收率/%				
		敌敌畏	内吸磷	甲基对硫磷	马拉硫磷	对硫磷
1	2	92.3	93.8	93.8	95.2	93.5
2	2	94.2	97.4	94.2	91.2	94.2
3	2	90.8	94.5	95.7	94.3	91.5
4	4	82.4	86.7	87.2	85.3	79.8
5	4	87.3	89.4	82.4	81.4	75.9
6	4	79.5	82.3	79.4	72.3	79.5

表 5 土壤样品中 5 种有机磷农药添加回收实验结果

序号	农药名称	检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$		0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$		0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$	
			回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
1	敌敌畏	0.82	121.5	2.3	99.1	4.8	112.7	2.7
2	内吸磷	0.55	98.3	5.3	104.2	5.1	79.2	6.7
3	甲基对硫磷	0.25	89.2	8.3	98.2	4.8	80.4	8.7
4	马拉硫磷	0.55	95.4	6.4	85.4	6.7	75.5	3.2
5	对硫磷	0.42	105.2	5.9	112.1	5.4	94.2	2.4

确定土壤样品的前处理方法为：准确称取土样 (20 \pm 0.1)g，将土壤样品置于 250 mL 的称量瓶中，加水 10 mL，振荡摇匀后加入 40 mL 的乙腈摇匀，浸泡 6 h，振荡提取 30 min。之后将泥浆溶液倒入 50 mL 的具塞离心管中，室温下 4 000 r/min 离心 10 min，取出后将上清液过滤到装有 5.0 ~ 7.0 g 氯化钠的具塞量筒中，激烈震荡 1 min，室温静置 30 min，使乙腈和水相充分分层。从具塞量筒中准确吸取 10.0 mL 的上层溶液乙腈相，置于圆底烧瓶中，在旋转蒸发器上用 40 $^{\circ}\text{C}$ 旋转浓缩至约 2 mL 左右，取下后在 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴的氮吹仪上用氮气吹干(以气体的流速在液体面上吹出 2 mm 深度的水涡为好)。将 1.0 mL 正己烷准确加入待净化样品中后摇匀，之后用 0.22 μm 的滤膜过滤到样品瓶中，供 GC-MS 检测。

2.6.2 测定分析结果 在选定的质谱条件和土壤样品前处理方法优化的情况下，测定实际土壤样品，因谱图未出峰，所以实际土壤样品均未检出，但不排除有机磷农药在分析过程中容易挥发流失的情况。

3 小结

本研究用质谱检测土壤中的敌敌畏、内吸磷、甲基对硫磷、马拉硫磷和对硫磷的残留量，对土

壤样品的前处理方法进行了优化。土壤样品用乙腈振荡提取，在旋转蒸发器上用 40 $^{\circ}\text{C}$ 旋转浓缩至约 2 mL 左右，取下后在氮吹仪上用氮气吹干(以气体的流速在液体面上吹出 2 mm 深度的水涡为好)，在选定的质谱条件下对土壤样品进行分析检测。实际土壤样品均未检出。在 0.2、0.4、0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加水平下，加标回收率为 75.5% ~ 121.5%，相对标准偏差在 2.3% ~ 8.7%，方法检出限为 0.25 ~ 0.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

用质谱法检测土壤中的有机磷农药，具有迅速、准确度高、灵敏度高，检出限低等优点，能够满足对土壤中的农药残留进行分析监测，可在环境监测中广泛应用。

参考文献：

- [1] 杨水岗, 彭钰欣. 农药与未来农业的发展[J]. 环境导报, 1997(6): 35-38.
- [2] 汤亚飞, 土焰新, 蔡鹤生, 等. 有机磷农药的使用与污染[J]. 武汉化工学院学报, 2004, 27(1): 11-14.
- [3] ZHANG CH X, HOU M, BAO H Y, *et al.* Interrelated progress of acute organophosphorus pesticide poisoning [J]. Journal of Qinghai Normal University, 2012, 28 (1): 54-61.
- [4] 马 瑾, 潘根兴, 万洪富, 等. 有机磷农药的残留、毒性及前景展望[J]. 生态环境, 2003, 13 (2): 213-

培养料添加菜籽饼对双孢蘑菇产量的影响

张楠, 朱子雄

(甘肃怡泉新禾农业科技发展有限公司, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 研究了培养料中添加不同量的菜籽饼对双孢蘑菇产量的影响。结果表明, 不加菜籽饼作为氮源对双孢蘑菇产量没有显著性影响。同时添加菜籽饼和鸡粪可提高培养料的发酵温度, 当菜籽饼添加量为 6.5 t 时, 3 潮菇总产量为 96.84 kg/m²、平均产量 32.28 kg/m², 比对照组高 78%。

关键词: 双孢蘑菇; 培养料; 菜籽饼; 产量; 生物学效率

中图分类号: Q949.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)07-0012-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.07.005

Effects of Adding Rapeseed Cake on Yield of *Agaricus bisporus* Compost

ZHANG Nan ZHU Zixiong

(Gansu Yiquanxinhe Agricultural Science & Technology Development Co., Ltd, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: In this paper, the effects of supplementing cultivation compost with rapeseed cake to casing on *Agaricus bisporus* fruit body yields are determined. The result shows that the addition of rapeseed cake as nitrogen source alone had no effect on the yield of *Agaricus bisporus*, while adding rapeseed cake and chicken manure could increase the fermentation temperature of the compost, and then decompose the nutrients fully to improve the yield. When the rapeseed cake adding 6.5 t, the mushroom total yield is 96.84 kg/hm², the average yield is 32.28 kg/m², which is 78% higher than that of the control.

Key words: *Agaricus bisporus*; Compost; Rapeseed cake; Yield; Biological efficiency

双孢蘑菇 (*Agaricus bisporus*) 隶属伞菌目蘑菇科蘑菇属, 又名蘑菇、白蘑菇、洋蘑菇、二孢蘑菇、洋覃、洋茸等, 迄今其人工栽培已有多年的历史, 是世界上人工栽培范围最广、产量最高、消费量最大的食用菌^[1]。在我国, 最早是 1953 年从日本引进双孢蘑菇菌种进行试种, 但由于当时技术条件落后, 种植面积不大且产量低^[2]。目前, 随着技术的发展和菌种的改良, 我国双孢蘑菇栽培面积迅速扩大, 年产量和出口量均居世界第一, 并远销美国、日本、加拿大、南美、东南亚等国家和地区^[3-4]。

目前欧洲发达国家的双孢蘑菇工厂化单产约为 35 kg/m², 中国双孢蘑菇工厂化单产约为 25 kg/m²^[5]。双孢蘑菇生长发育所需的营养绝大多数来自培养料, 培养料是子实体生长的物质基础, 其配方、发酵工艺、理化性状对产量起着决定性作用^[6]。目前, 为了提高双孢蘑菇的产量, 在欧美很多工厂化生产中, 都在培养料中加入添加剂提供养分, 如黄豆粉、豆粕、蓖麻粉、刺梨渣、醋糟、酒糟、葡萄籽饼等^[7-8]。菜籽饼是油菜籽榨完油后剩下的废弃物, 其中含有丰富的营养物质, 含氮量达到 5.3%~6.2%, 是优质的氮源, 是一种增产效果

收稿日期: 2017-03-10

作者简介: 张楠(1986—), 女, 甘肃靖远人, 硕士, 研究方向为生物化工。E-mail: zhangnanzsx@163.com。

通信作者: 朱子雄(1986—), 男, 四川凉山州人, 硕士, 研究方向为微生物学。E-mail: zhxz1056@163.com。

- 215.
- [5] 吴建刚. 平凉市蔬菜中有机磷农药残留检测及评价[J]. 甘肃农业科技, 2013(5): 34-35.
- [6] 任金萍. 平凉市蔬菜农药残留动态分析[J]. 甘肃农业科技, 2014(9): 38-40.
- [7] 刘玉红, 孙仕萍. 蔬菜、水果中 16 种有机磷农药残留的气相色谱测定法[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(3): 451-453.
- [8] 乐洋. 气相色谱法测定水中六种有机磷农药和阿特拉津[J]. 净水技术, 2013, 32(1): 52-54; 78.
- [9] 贲铁砚, 刘成亮. 超声波萃取 GC-MS 测定土壤中有机磷农药的方法探讨[J]. 黑龙江环境通报, 2007, 31(2): 27-28.

(本文责编: 陈伟)