

气相色谱-三重四级杆串联质谱法测定土壤中多环芳烃的方法研究

王爱霞, 陈国通, 邵家丽, 罗建民* (新疆分析测试研究院, 新疆乌鲁木齐 830011)

摘要 [目的] 建立索氏抽提、固相萃取净化、气相色谱-三重四级杆串联质谱法同时测定土壤及沉积物中 16 种多环芳烃 (PAHs) 的方法。[方法] 对萃取、净化及仪器分析条件进行了优化。[结果] 优化条件为: 1+1 的二氯甲烷+正己烷提取 16 h, 硅胶净化或不净化方法, PAHs 浓度在 0.25~5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时线性相关系数 (R^2) 为 0.990 3~0.999 9; PAHs 方法检出限为 0.002~0.020 mg/kg; 加标回收率为 61.2%~117.0%。[结论] 试验结果为土壤中多环芳烃的测定提供了理论依据。

关键词 多环芳烃; 索氏抽提; 净化; 气相色谱-串联质谱

中图分类号 S-03 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)33-0001-03

Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil by Gas Chromatography-triple Quadrupole Mass Spectrometry

WANG Ai-xia, CHEN Guo-tong, SHAO Jia-li, LUO Jian-min* (Xinjiang Analysis Test Research Institute, Urumqi, Xinjiang 830011)

Abstract [Objective] The aim was to establish a method for the simultaneous extraction, cleanup, determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil by using Soxhlet extraction method and solid phase extraction (SPE) cleanup coupled with capillary gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (GC-QqQ-MS/MS). [Method] The conditions of extraction, cleanup, and instrumental operation were optimized. [Result] The optimal conditions of Soxhlet extraction method were extracted by dichloromethane + n-hexane (1+1) for 16 hours, and the Silicagel column was chosen as column of purification or nonpurification method was chosen. The correlation coefficient (R^2) for PAHs were 0.990 3~0.999 9 in the range of 0.25~5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the limits of detection of PAHs were in the range of 0.002~0.020 mg/kg; the recoveries of the samples ranged from 61.2%~117.0%. [Conclusion] The results provide reference for the determination of PAHs in soil.

Key words Polycyclic aromatic hydrocarbons; Soxhlet extraction; Purification; Gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry

多环芳烃 (PAHs) 是环境中普遍存在的一类持久性有机污染物, 其由 2 个及 2 个以上苯环连接而成, 具有致癌、致畸、致突变作用^[1-2], 其中的 16 种无支链 PAHs 被美国环境保护署 (USEPA) 确定为环境优先控制污染物^[3], 而我国环保部优先控制的有机污染物中, 包括其中 7 种多环芳烃。除少部分 PAHs 来自自然源排放, 如: 森林火灾和火山喷发, 大部分 PAHs 来源于人类的生产和生活, 如机动车尾气排放、秸秆燃烧、工业排放等^[4]。产生的多环芳烃会直接进入土壤, 或者通过降雨、降雪和降尘进入土壤, 金相灿^[5]报道由土壤进入人体的 PAHs 数量要高于大气和水, 因此, 土壤作为 PAHs 积累的重要介质, 承担了 90% 以上的环境负荷, 关于土壤中 PAHs 的研究越来越受到人们的关注^[6-8]。有关土壤中多环芳烃的提取净化方法多样^[7-8]。笔者以索氏抽提法提取土壤中 PAHs, 通过加标回收率对前处理及仪器分析环节进行质量控制, 以建立准确、可靠的土壤中 PAHs 的分析方法, 为测定土壤中多环芳烃提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器。气相色谱-三重四级杆质谱联用仪 (TSQ 8000 EVO 美国热电公司); DB-5MS 毛细管柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)。

1.1.2 试剂与材料。正己烷、二氯甲烷 (色谱纯); 索氏抽提滤筒; 经过二氯甲烷+正己烷 (1+1) 浸提, 溶剂挥干后于 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烘干 2 h; 16 种 PAHs 混合标准品: 萘 (Na)、蒽 (Acy)、二氢蒽 (Ace)、芴 (Flu)、蒎 (An)、菲 (Ph)、荧蒽 (Fl)、

芘 (Pyr)、苯并 [a] 蒎 (BaA)、蒎 (Chrys)、苯并 [b] 荧蒽 (BbF)、苯并 [k] (BkF)、苯并 [a] 芘 (BaP)、茚并 [1,2,3-c,d] 芘 (IP)、二苯并 [a,h] 蒎 (dBanA)、苯并 [g,h,i] 芘 (BghiP), 2 000 mg/L, 均购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司。替代物: 对三联苯、2-氟联苯, 购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司。内标物: 萘-D₈、蒽-D₁₀、菲-D₁₀、芘-D₁₂, 购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司。无水硫酸钠 (GR): 400 $^{\circ}\text{C}$ 下纯化 4 h, 以除去可能的干扰物质。硅胶净化柱: 6 mL, 1.0 g, 直接购置; 氟罗里净化柱: 6 mL, 1.0 g, 直接购置。

1.2 方法

1.2.1 样品采集与保存。样品采集后装入经 400 $^{\circ}\text{C}$ 烘焙 6 h 的 1 L 清洁棕色瓶中, 尽快运回实验室于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。样品分析前于 -40 $^{\circ}\text{C}$ 下真空冷冻干燥 48 h, 研磨, 过 100 目筛, 装于 100 mL 棕色瓶中保存备用。

1.2.2 标准溶液、替代物、内标物的配制。内标储备液: 称取 0.25 g 内标物于 25 mL 容量瓶中, 用正己烷定容, 将其配制成浓度约为 1 mg/mL 的标准储备液。替代物储备液: 称取 0.25 g 内标物于 25 mL 容量瓶中, 用正己烷定容, 将其配制成浓度约为 1 mg/mL 的标准储备液。

1.2.3 样品的提取。称取 10 g 样品, 加入到处理过的索氏抽提筒中, 加入 10 μL 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 替代物, 加入提取液, 以 1 h 不少于 4 次的速度提取 16 h。回流提取完毕, 冷却至室温, 取出底瓶, 浓缩净化。如不过固相萃取柱, 则以正己烷定容至 1 mL。

1.2.4 样品的净化。

1.2.4.1 硅胶层析柱净化。用 5 mL 二氯甲烷、5 mL 正己烷活化层析柱, 加入样品溶液, 弃去流出液, 用 5 mL 正己烷洗脱层析柱, 弃去流出液, 用 5 mL 二氯甲烷+正己烷 (1+1/1+3) 混合液洗脱, 接收洗脱液, 浓缩至 1 mL 以下, 加入 10 μL

作者简介 王爱霞 (1979—), 女, 新疆乌鲁木齐人, 高级实验师, 硕士, 从事环境监测与检测研究。* 通讯作者, 高级实验师, 博士, 从事材料科学和环境研究。

收稿日期 2017-08-21

250 $\mu\text{g/mL}$ 内标液,以正己烷定容至 1 mL。

1.2.4.2 氟罗里硅土层析柱净化。用 5 mL 二氯甲烷、10 mL 正己烷活化层析柱,加入样品溶液,弃去流出液,用 5 mL 正己烷洗脱层析柱,弃去流出液,用 5 mL 二氯甲烷 + 正己烷(1+1/1+3)混合液洗脱,接收洗脱液,浓缩至 1 mL 以下,加入 10 μL 250 $\mu\text{g/mL}$ 内标液,用正己烷定容至 1 mL。

1.2.5 试验设计。采用索氏提取法提取,溶剂为按不同比例混合的正己烷 + 二氯甲烷,净化方法为硅胶与氟罗里硅土不同净化方法,通过加标回收率寻找样品最佳提取净化方法,试验方案见表 1。

表 1 提取溶剂净化方式的试验方案

Table 1 The test scheme of extraction solvent purification method

序号 No.	替代物溶液 + 标准溶液(5 $\mu\text{g/mL}$) 加标量 The adding amount of substitute solution +5 $\mu\text{g/mL}$ standard solution// μL	提取溶剂(二氯甲烷 + 正己烷)比例 The proportion of extraction solution (dichloromethane + n- hexane)	净化方式(固相萃取小柱类型) Purification way (solid phase extraction of small column type)
1	500	1+1	硅胶
2	500	3+1	氟罗里硅土
3	200	1+1	硅胶
4	200	3+1	氟罗里硅土
5	200	1+1	不净化
6	200	3+1	不净化

1.2.6 样品分析。

1.2.6.1 气相色谱仪条件。载气:氦气。载气流量:

1.0 mL/min。进样口温度:250 $^{\circ}\text{C}$ 。色谱柱温度:70 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min,然后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速度升温至 320 $^{\circ}\text{C}$,并保持 5.5 min,进样方式:不分流,1 min。进样量:1 μL 。

1.2.6.2 质谱条件。离子源:EI 源;离子源温度:280 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度:280 $^{\circ}\text{C}$;离子化能量:70 eV。

1.2.6.3 标准溶液、替代物标准溶液和内标溶液的制备。将多环芳烃标准溶液及替代物溶液稀释成浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的中间液,用微量注射器分别移取多环芳烃标准溶液及替代物溶液中间液 25、50、100、250、500 μL 于 5 个 10 mL 容量瓶中,再分别加入 100 μL 浓度为 250 $\mu\text{g/mL}$ 的内标溶液,用正己烷稀释定容,得到多环芳烃标准系列及替代物标准系列,浓度为 0.25、0.50、1.00、2.50、5.00 $\mu\text{g/mL}$,内标浓度为 2.50 $\mu\text{g/mL}$ 。

2 结果与分析

2.1 气相色谱质谱条件的优化 将 PAHs 标准溶液、替代物溶液(100 $\mu\text{g/mL}$)及内标溶液(250 $\mu\text{g/mL}$)混合,用全扫模式(Scan)进行初步分析,根据目标化合物的分离和峰形情况,确定气相色谱分析条件(见“1.2.6.1”气相色谱仪条件)。在 Scan 的基础上确定每种化合物的特征母离子,然后通过产物离子扫描确定相应的子离子及碰撞能量,建立气相色谱-三重四级杆串联质谱分析方法,混合标准溶液的图谱见图 1。扫描方式为 auto SRM,各化合物选择母离子、子离子及碰撞能量见表 2。

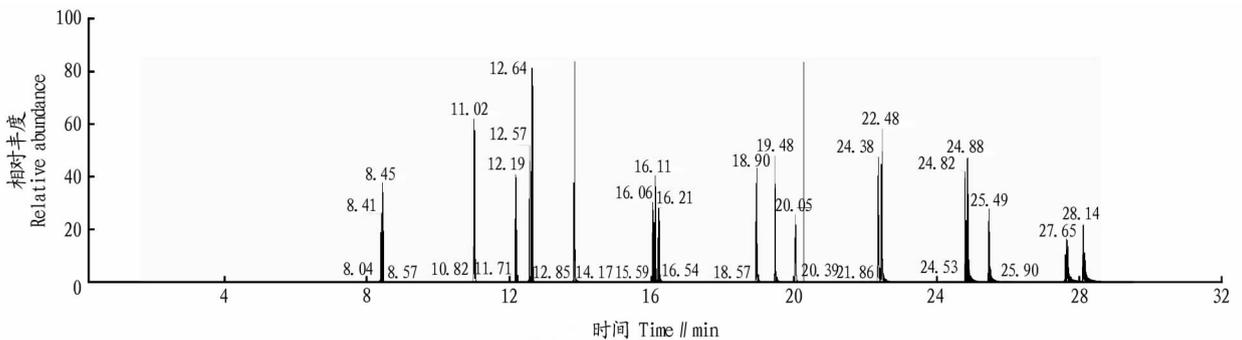


图 1 多环芳烃混合标准溶液图谱

Fig. 1 The map for polycyclic aromatic hydrocarbons mixed standard solution

表 2 GC-QqQ-MS/MS 多反应监测模式(SRM)下多环芳烃的检测条件

Table 2 The determination conditions for polycyclic aromatic hydrocarbons by GC-QqQ-MS/MS SRM

序号 No.	化合物 Compound	保留时间 Retention time//min	CAS No.	母离子(m/z) Mother ion	子离子(m/z) Sub ion	碰撞能量 Collision energy//eV
1	萘	8.41	91-20-3	136.2	84.1, 108.1	12
2	2-氟联苯(替代物)	11.02	321-60-8	171.1	151.1, 170.1	14
3	萘	12.19	208-96-8	151.1	77.1, 150.1	22
4	萘烯	12.64	83-32-8	153.1	151.1, 152.1	28
5	芴	13.85	86-73-7	165.1	115.1, 164.1	26
6	菲	16.11	85-01-8	178.1	152.1, 176.1	18
7	蒽	16.22	120-12-7	176.1	150.1, 175.2	22
8	荧蒽	18.96	206-44-0	101.1	88.1, 100.2	10
9	芘	19.48	129-00-0	200.1	174.1, 199.2	24
10	对三联苯(替代物)	20.05	92-94-4	230.2	215.2, 228.2	14
11	苯并(a)蒽	22.38	56-55-3	226.1	224.1, 225.1	34
12	屈	22.48	218-01-9	226.1	224.2, 225.2	32

接下表

续表 2

序号 No.	化合物 Compound	保留时间 Retention time//min	CAS No.	母离子(m/z) Mother ion	子离子(m/z) Sub ion	碰撞能量 Collision energy//eV
13	苯并(b)荧蒹	24.83	205-99-2	125.1	112.0,124.1	12
14	苯并(k)荧蒹	24.87	207-08-9	125.1	112.1,124.2	10
15	苯并(a)芘	25.49	50-32-8	125.1	112.0,124.1	14
16	茚并(1,2,3-c,d)芘	27.64	193-39-5	138.1	125.1,137.2	12
17	二苯并(a,h)蒽	27.69	53-70-3	139.1	126.1,138.1	8
18	苯并(g,h,i)芘	28.14	191-24-2	138.1	125.0,137.1	12
19	萘-D ₈	8.41	001146-65-2	136.2	84.1,108.1	20
20	萘-D ₁₀	12.57	015067-26-2	162.2	158.1,160.2	22
21	菲-D ₁₀	16.06	001517-22-2	80.1	52.1,66.1	16
22	芘-D ₁₂	25.60	001520-96-3	260.2	232.2,256.2	32

2.2 提取净化条件优化 采用不同混合试剂进行索氏抽提,以不同型号固相萃取小柱进行净化,通过加标回收率对结果进行评价,其加标回收结果见表3。

由表3可见,加标-3回收率普遍大于加标-1,加标-4回收率普遍大于加标-2,则以加标量为200 μL 、浓度为5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液及替代物溶液为宜;通过加标-3、加标-4、加标-5、加标-6的数据比较可知,易挥发组分萘

(Na)、萘(Acy)、二氢萘(Ace)、芴(Flu)、蒽(An)、菲(Ph)、荧蒹(Fl)加标-3回收率普遍大于加标-4,加标-5回收率普遍大于加标-6,则提取溶剂以二氯甲烷+正己烷(1+1)为宜;加标-5回收率普遍大于加标-3,则样品污染不大的条件下,选择不净化的方式可增大回收率。萘的回收率偏低,可能是由于萘易升华的化学性质造成,试验中是否可以通过浓缩过程及净化过程消除始终有溶剂存在,还有待于验证。

表3 各组分回收率结果统计

Table 3 The recoveries for all constituents

%

序号 No.	组分 Constituents	加标-1 Standard addition 1	加标-2 Standard addition 2	加标-3 Standard addition 3	加标-4 Standard addition 4	加标-5 Standard addition 5	加标-6 Standard addition 6
1	萘	52.5	39.7	51.4	43.6	61.2	58.5
2	2-氟联苯(替代物)	56.2	37.8	53.3	50.1	61.5	60.1
3	萘	58.1	42.7	59.2	49.5	62.1	59.4
4	萘烯	57.1	3.4	50.1	53.3	61.4	74.5
5	芴	69.5	14.7	56.8	17.9	61.2	120.1
6	菲	72.2	22.3	81.4	21.4	101.0	112.7
7	蒽	57.9	19.4	60.3	20.3	95.6	87.2
8	荧蒹	76.0	56.2	80.4	51.7	115.0	102.7
9	芘	73.2	37.4	76.3	36.1	110.0	96.3
10	对三联苯(替代物)	58.4	62.1	63.6	60.3	117.0	103.4
11	苯并(a)蒽	53.8	59.8	56.9	58.5	82.9	65.9
12	蒎	46.2	55.1	46.5	54.5	62.9	47.0
13	苯并(b)荧蒹	62.3	64.6	60.6	62.8	85.8	69.6
14	苯并(k)荧蒹	60.5	68.0	61.8	74.5	88.2	66.0
15	苯并(a)芘	65.0	67.7	64.7	73.4	99.9	82.2
16	茚并(1,2,3-c,d)芘	63.1	70.6	68.8	71.5	99.3	85.4
17	二苯并(a,h)蒽	59.7	69.4	74.2	76.0	94.6	87.1
18	苯并(g,h,i)芘	58.0	63.0	63.3	71.2	91.9	77.0

2.3 方法回收率和精密度 标准溶液及替代物溶液浓度为0.25、0.50、1.00、2.50、5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$,内标浓度为2.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$,制作标准曲线,PAHs浓度在0.25~5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时呈良好的线性关系,以信噪比为3时的对应浓度作为方法的检出限(LOD),以信噪比为10的对应浓度作为方法的定量限(LOQ),以二氯甲烷+正己烷(1+1)为提取试剂索氏抽提16h,硅胶净化,内标法定量,平行测定6次样品,计算回收率和精密度。结果显示,检出限为0.002~0.020 mg/kg ,定量限为0.007~0.070 mg/kg ,回收率为61.2%~117.0%,相对标准偏差为0.5%~16.8% ($n=6$),相关系数(R^2)为0.9903~0.9999,表明该方法能够满足土壤样品中多环芳烃的分析要求。

3 结论

通过索氏提取法,二氯甲烷+正己烷不同比例混合的提取方法比较,硅胶净化、氟罗里硅土净化、不净化方法的比

较,以加标回收率对方法进行评价,得出采用二氯甲烷+正己烷(1+1)提取,硅胶净化或者不净化的前处理方法,气相色谱-三重四级杆串联质谱分析方法萃取净化效果较好,准确度较高,重复性、加标回收率均满足试验要求,可同时测定土壤中16种多环芳烃。

参考文献

- [1] HONG H S, YIN H G, WANG X H, et al. Seasonal variation of PM₁₀-bound PAHs in the atmosphere of Xiamen, China [J]. Atmospheric research, 2007, 85(3/4): 429-441.
- [2] TAN J H, BI X H, DUAN J C, et al. Seasonal variation of particulate polycyclic aromatic hydrocarbons associated with PM₁₀ in Guangzhou, China [J]. Atmospheric research, 2006, 80(4): 250-262.
- [3] WHO. Environmental Health Criteria 202: Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons [S]. Geneva: World Health Organization/International Program on Chemical Safety, 1998.
- [4] LIU Y, LIU L B, LIN J M, et al. Distribution and characterization of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in airborne particulates of East Asia [J]. China particulology, 2006, 4(6): 286-292.

(下转第7页)

- 2005,36(5):772-776.
- [14] PETRINI O. Fungal endophytes of tree leaves [M]//ANDREWS J H, HIRANO S S. Microbial ecology of leaves. New York;Spring Verlag,1991:179-197.
- [15] DREYFUSS M M, CHAPLA I H. Potential of fungi in the discovery of novel, low molecular weight pharm aceuticals [M] //GULLO V P. The discovery of natural products with therapeutic potential. London; Butter Worth Heinemann,1994:49-80.
- [16] PETERSON S W, VEGA F E, POSADA F, et al. *Penicillium coffeae*, a new endophytic species isolated from a coffee plant and its phylogenetic relationship to *P. fellutanum*, *P. thiersii* and *P. brocae* based on parsimony analysis of multilocus DNA sequences [J]. Mycologia, 2005, 97(3):659-666.
- [17] ARENAL F, PLATAS G, PELÁEZ F. A new endophytic species of *Preussia* (Sporormiaceae) inferred from morphological observations and molecular phylogenetic analysis [J]. Fungal divers, 2007, 25:1-17.
- [18] 王莉衡. 植物内生菌及其次生代谢活性物质多样性的研究进展 [J]. 化学与生物工程, 2012, 29(10):1-3.
- [19] 韦继光. 罗汉松科、山茶科和红豆杉科植物内生拟盘多毛孢的多样性及拟盘多毛孢属分子系统学研究 [D]. 杭州:浙江大学, 2004.
- [20] SOUTHCOFF K A, JOHNSON J A. Isolation of endophytes from two species of palm, from Bermuda [J]. Canadian journal of microbiology, 1997, 43(8):789-792.
- [21] ARNOLD A E, LUTZONI F. Diversity and host range of foliar fungal endophytes: Are tropical leaves biodiversity hotspots? [J]. Ecology, 2007, 88(3):541-549.
- [22] 任安芝, 高玉葆. 植物内生真菌——一类应用前景广阔的资源微生物 [J]. 微生物通报, 2001, 28(6):90-93.
- [23] 黄敬瑜, 张楚军, 姚瑜龙, 等. 植物内生菌生物抗菌活性物质研究进展 [J]. 生物工程学报, 2017, 33(2):178-186.
- [24] STROBEL G A. Endophytes as sources of bioactive products [J]. Microbes and infection, 2003, 5(6):535-544.
- [25] FINDLAY J A, LI G, PENNER P E, et al. Novel diterpenoid insect toxin from a conifer endophyte [J]. Journal of natural products, 1995, 58(2):197-200.
- [26] FINDLAY J A, LI G Q, JOHNSON J A. Bioactive compounds from an endophytic fungus from eastern larch (*Larix laricina*) needles [J]. Canadian journal of chemistry, 1997, 75(6):716-719.
- [27] BLANKENSHIP J D, SPIERIN G M J, WILKINSON H H, et al. Production of loline alkaloids by the grass endophyte, *Neotyphodium uncinatum*, in defined media [J]. Phytochemistry, 2001, 58(3):395-401.
- [28] 孙景云, 杨中锋, 于海涛. 雷公藤等 10 种植物分得 49 种内生真菌的发酵提取物杀虫活性研究 [J]. 中医药学报, 2016, 44(6):9-12.
- [29] 孙涛, 孙之潭, 胡美英, 等. 鱼藤属植物内生青霉菌代谢产物的提取及杀蚜活性分析 [J]. 华南农业大学学报, 2016, 37(1):46-51.
- [30] 李秀璋, 姚祥, 李春杰, 等. 禾草内生真菌作为生防因子的潜力分析 [J]. 植物生态学报, 2015, 39(6):621-634.
- [31] 王志伟, 纪燕玲, 陈永敢. 禾本科植物内生真菌及其在农业上的应用潜力 [J]. 南京农业大学学报, 2011, 34(5):144-154.
- [32] SCHARDL C L, GROSSMAN R B, NAGABHYRU P, et al. Loline alkaloids: Currencies of mutualism [J]. Phytochemistry, 2007, 68(7):980-996.
- [33] CLEMENT S L, ELBERSON L R, BOSQUE-PÉREZ N A, et al. Detrimental and neutral effects of wild barley-*Neotyphodium* fungal endophyte associations on insect survival [J]. Entomologia experimentalis et applicata, 2005, 114(2):119-125.
- [34] SILVA G H, TELES H L, ZANARDI L M, et al. Cadinane sesquiterpenoids of *Phomopsis cassiae*, an endophytic fungus associated with *Cassia spectabilis* (Leguminosae) [J]. Phytochemistry, 2006, 67(17):1964-1969.
- [35] 李文生, 周丹丽, 陆盈池, 等. 1 株红树内生真菌 *Fusarium* sp. 代谢产物的研究 [J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(3):64-69.
- [36] STROBEL G A, MILLER R V, MARTINEZ-MILER C, et al. Cryptocandin, a potent antimycotic from the endophytic fungus *Cryptosporiopsis cf. quercina* [J]. Microbiology, 1999, 145(8):1919-1926.
- [37] LI J Y, HARPER J K, GRANT D M, et al. Ambuic acid, a highly functionalized cyclohexenone with antifungal activity from *Pestalotiopsis* spp. and *Monochaetia* sp. [J]. Phytochemistry, 2001, 56(5):463-468.
- [38] CASTILLO U F, STROBEL G A, FORD E J, et al. Munumbicins, wide-spectrum antibiotics produced by *Streptomyces* NRRL30562, endophytic on *Kennedia nigricans* [J]. Microbiology, 2002, 148(9):2675-2685.
- [39] KUMAR S, HYDE K D. Biodiversity and tissue- recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii* [J]. Acta crystallogr, 2004, 17(1):69-90.
- [40] MORATH S U, HUNG R, BENNETT J W. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential [J]. Fungal biology reviews, 2012, 26:73-83.
- [41] 倪佳俊, 周婷, 赖童飞, 等. 飞蓬草内生真菌的分离及抑菌活性研究 [J]. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2017, 16(1):57-63.
- [42] FISHER P J, ANSON A E, PETRINI O. Fungal endophytes in *Ulex europaeus* and *U. gallic* [J]. Transactions of the british mycological society, 1986, 86(1):153-156.
- [43] RAGHUKUMAR C, MURALEEDHARAN U, GAUD V R, et al. Xylanases of marine fungi of potential use for biobleaching of paper pulp [J]. Journal of industrial microbiology and biotechnology, 2004, 31(9):433-441.
- [44] HOFFMAN M T, GUNATILAKA M K, WIJERATNE K, et al. Endohyphal bacterium enhances production of indole-3-acetic acid by a foliar fungal endophyte [J]. PLoS One, 2013, 8(9):1-8.
- [45] 张亮, 桑曼曼, 郭小伟, 等. 杜仲内生真菌的多样性分析及抗植物病原真菌的活性 [J]. 生物资源, 2017, 39(1):48-52.
- [46] LU H, ZOU W X, MANG J C, et al. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia anava* [J]. Plant science, 2000, 151(1):67-73.
- [47] 张集慧, 王春兰, 郭顺, 等. 兰科药用植物的 5 种内生真菌产生的植物激素 [J]. 中国医学科学院学报, 1999, 21(6):460-465.
- [48] 詹寿发, 卢丹妮, 毛花英, 等. 2 株溶磷、解钾与产 IAA 的内生真菌菌株的筛选、鉴定及促生作用研究 [J]. 中国土壤与肥料, 2017(3):142-151.
- [49] REIS V M, BALDANI J I, BALDANI V L D, et al. Biological dinitrogen fixation in Gramineae and palm trees [J]. Critical reviews in plant sciences, 2000, 19(3):227-247.
- [50] REDMAN R S, SHEEHAN K B, STOUT R G, et al. Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis [J]. Science, 2002, 298(5598):1581.
- [51] 侯姣姣, 孙涛, 余仲东, 等. 盐胁迫下内生真菌对国槐幼苗生长及生理的影响 [J]. 浙江农林大学学报, 2017, 34(2):294-300.
- [52] WALLER F, ACHATZ B, BALTRUSCHAT H, et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance and higher yield [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2005, 102(38):13386-13391.
- [53] HESSE U, HAHN H, ANDREEVA K, et al. Investigations on the influence of *Neotyphodium* endophytes on plant growth and seed yield of *Lolium perenne* genotypes [J]. Crop science, 2004, 44(5):1689-1695.
- [54] MALINOWSKI D P, BELESKY D P. Tall fescue aluminum tolerance is affected by *Neotyphodium coenophialum* endophyte [J]. Journal of plant nutrition, 1999, 22(8):1335-1349.
- [55] GONG B, LIU G X, LIAO R Q, et al. Endophytic fungus *Purpureocillium* sp. A5 protect mangrove plant *Kandelia candel* under copper stress [J]. Brazilian journal of microbiology, 2017, 48(3):530-536.
- [56] 周振宇, 胡金丽, 苏昕, 等. 一株野大豆内生真菌 YD02 菌株的鉴定及抗逆性研究 [J]. 生物技术通报, 2017, 33(11):1-6.
- [57] 唐雪辉, 毛凯, 干友民, 等. 植物内生真菌的应用研究概况 [J]. 草原与草坪, 2006(5):16-21.
- [58] MUCCIARELLI M, SCANNERINI S, BERTEA C, et al. *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization [J]. New phytologist, 2003, 158(3):579-591.

(上接第 3 页)

- [5] 金相灿. 有机化合物污染化学:有毒有机物污染化学 [M]. 北京:清华大学出版社, 1990.
- [6] 曹云者, 柳晓娟, 谢云峰, 等. 我国主要地区表层土壤中多环芳烃组成及含量特征分析 [J]. 环境科学学报, 2012, 32(1):197-203.
- [7] 张枝焕, 卢勇, 贺光秀, 等. 北京地区表层土壤中多环芳烃的分布特征及污染源分析 [J]. 生态环境学报, 2011, 20(4):668-675.
- [8] 苑金鹏, 王晓利, 周家斌, 等. 济南市表层土壤中 PAHs 的分布、来源及风险分析 [J]. 环境化学, 2015, 34(1):166-171.