

哈夫尼菌降解毒死蜱条件的优化及动力学模型建立

陶玉贵, 王其进, 谷 浩, 倪 正, 秦昌云

(安徽工程大学生物与化学工程学院, 安徽 芜湖 241000)

摘 要:利用响应面法优化哈夫尼菌降解毒死蜱的条件,并建立了降解模型。采用 Box-Behnken 设计试验,以响应面法进行优化,结果表明,哈夫尼菌降解毒死蜱的最优条件为:蔗糖浓度 0.31%,毒死蜱初浓度 $51.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,培养温度 $30.7 \text{ }^{\circ}\text{C}$,在该条件下理论预测毒死蜱降解率可达 74.7%。通过假设和验证,得出哈夫尼菌降解毒死蜱为一级动力学模型,哈夫尼菌能水解毒死蜱 P-O 键,属一级酶促反应。

关键词:哈夫尼菌;毒死蜱;响应面;动力学

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2011)03-0449-06

Optimization of *Hafnia* sp. to Chlorpyrifos Degradation Conditions and a Kinetics Model

TAO Yu-gui, WANG Qi-jin, GU Hao, NI Zheng, QIN Chang-yun

(Department of Biochemical Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu 241000, China)

Abstract: The objective of this study was to determine the optimum conditions for the biodegradation of chlorpyrifos by *Hafnia* sp., and to establish a kinetic model to simulate the degradation process. Response surface methodology (RSM) based on Box-Bohnken experimental design was employed to determine the optimum conditions. Results indicated that the optimum conditions for chlorpyrifos degradation based on response surface and contour plots were as follows: concentration of sucrose, 0.31% (*w*); initial concentration of chlorpyrifos, $51.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; culture temperature, $30.7 \text{ }^{\circ}\text{C}$. In addition, the predicted value of chlorpyrifos degradation rate under the optimum conditions was 74.7%, which was in good agreement with the experimental result; under the optimum conditions, the degradation rate of chlorpyrifos was 72.2% after 72 hour's culture. Moreover, according to hypothetical kinetic model for chlorpyrifos degradation, the kinetics for chlorpyrifos degradation could be described by a first-order equation, which is similar to an enzyme-catalyzed reaction. A possible mechanism for the degradation of chlorpyrifos by *Hafnia* sp was that this microorganism had produced an enzyme that can cleave the P-O bond of chlorpyrifos.

Keywords: *Hafnia* sp.; chlorpyrifos; response surface methodology (RSM); kinetics

毒死蜱(chlorpyrifos)是一种高效中等毒性杀虫剂,又名白蚁清、乐斯本,可以防治稻纵卷叶螟、棉铃虫、介壳虫、菜青虫和蚜虫等害虫^[1],是目前全球使用最广泛的 5 种杀虫剂之一^[2]。毒死蜱通过抑制体内神经病靶酯酶,并使之“老化”,从而引起迟发性神经病、新生儿免疫功能缺陷^[3]和癌症^[4]。此外,毒死蜱在土壤中的降解半衰期高达 278 d^[5],研究如何降解土壤和水体中的毒死蜱,降低毒死蜱在食品中的残留,具有重要的理论意义和现实意义。

目前降解土壤和水体中毒死蜱的方法众多^[6-9],其

中微生物降解被认为是有机磷农药降解最可靠、最高效的途径^[10]。Samina 等^[11]从土壤中筛选出一株短小芽孢杆菌 C2A1,可以高效降解毒死蜱及其中间产物 3,5,6-三氯-2-吡啶酚(TCP)。吴祥为等^[12]从毒死蜱废水处理系统出口处的污泥中筛选出 3 株毒死蜱高效降解菌。王金花等^[13]从污水排放口污泥中分离到 3 株以毒死蜱为唯一碳源生长的真菌 WZ-I、WZ-II 和 WZ-III,鉴定均为镰孢霉属(*Fusarium* LK.exFx)。本研究通过富集培养法,从农药厂排污沟污泥中分离得到一株能以毒死蜱为唯一碳源的降解菌,该菌株对毒死蜱具有较强的降解能力,初步鉴定为哈夫尼菌属。

响应面法(RSM)是一种试验条件寻优的方法,适宜于解决非线性数据处理的相关问题。通过对过程的回归拟合和响应曲面、等高线的绘制,可方便地求出

收稿日期:2010-10-21

基金项目:安徽省科技攻关计划面上项目(08010302169)

作者简介:陶玉贵(1965—),男,安徽无为为人,教授,硕士研究生导师。

E-mail:taoyugui888@yahoo.com.cn

相应于各因素水平的响应值。在各因素水平的响应值基础上,可以找出预测的响应最优值以及相应的实验条件^[14-15],广泛地应用于各类多因素试验设计和分析^[16-18]。基于本实验室筛选出的一株对毒死蜱有较高降解能力的细菌,利用 Design-expert software version 8.0.1 (STAT-EASE Inc., Minneapolis, trial version) 对哈夫尼菌毒死蜱的降解条件进行优化;通过假设和验证试验,建立哈夫尼菌降解毒死蜱的动力学模型,并进一步探讨其作用机理。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

从毒死蜱农药厂排污口污泥中分离,筛选并保藏,根据菌株形态和生理生化特征,初步判定所得菌株为哈夫尼菌属。

1.2 毒死蜱降解菌基础培养基及培养条件

1.2.1 基础培养基

毒死蜱为唯一碳源的无机盐液体培养基^[19]: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g; CaCl_2 , 0.02 g; K_2HPO_4 , 0.7 g; KH_2PO_4 , 1.7 g; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.03 g; NH_4NO_3 , 0.04 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.03 g。

1.2.2 培养条件

将哈夫尼菌按 10%接种到 pH 值为 7.5、并添加一定浓度毒死蜱和蔗糖的无机盐培养基中,于一定温度、 $170 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速下振荡培养 72 h,测毒死蜱的降解率。

1.2.3 条件优化

采用 Box-Behnken 的中心组合试验方法,以毒死蜱降解率为评判指标,即响应值(Y)对影响降解菌降解毒死蜱的 3 个显著因素:毒死蜱浓度(X_1)、蔗糖量(X_2)和温度(X_3)进行研究,并通过 Design-expert software version 8.0.1 (STAT-EASE Inc., Minneapolis, trial version) 对试验结果进行回归分析,确定毒死蜱降解菌的最优降解条件,每个因素水平见表 1。

1.3 毒死蜱降解动力学模型的构建

在最适培养条件下,按 10%的接种量将哈夫尼菌

接种至含有 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 毒死蜱无机盐培养基中,测单位时间毒死蜱的降解率,绘制降解动力学曲线;并假设毒死蜱的降解符合以下一级动力学模型:

$$-dC/dt=KC$$
$$\text{或 } C=C_0e^{-Kt}$$

式中: C 是毒死蜱在降解后的含量, K 是降解常数, t 是降解时间, C_0 是毒死蜱的初始浓度, $C_0=50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

当 $C=0.5C_0$ 时,降解半周期 $t_{1/2}=\ln 2/K$ 。 K 值越大,降解越迅速,当 $t=5/K$ 时, $C=C_0e^{-5}=0.007C_0$ 。

1.4 毒死蜱的检测及降解率计算

1.4.1 样品处理

取 20 mL 培养液样品,加入 6 g 氯化钠,摇匀后加 10 mL 二氯甲烷,振荡萃取 15 min,静置分层后,收集下层二氯甲烷萃取液,然后再用 10 mL 二氯甲烷进行第 2 次萃取。将两次收集到的二氯甲烷萃取液经无水硫酸钠漏斗脱水后,用 $0.22 \mu\text{m}$ 水系膜细菌过滤器过滤。

1.4.2 测定方法

利用 GC-2010 型气相色谱仪 (Shimadzu, 日本),带电子捕获检测器 (ECD),DB-5 毛细管色谱柱 ($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$),载气为氦气,流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;进样口温度 $250 \text{ }^\circ\text{C}$,初温 $100 \text{ }^\circ\text{C}$ (保持 1 min),以 $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 $160 \text{ }^\circ\text{C}$,再以 $5 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 $200 \text{ }^\circ\text{C}$,最后以 $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 $250 \text{ }^\circ\text{C}$;进样量为 $1 \mu\text{L}$ ^[20]。测定培养基毒死蜱的含量,并利用 1.4.3 中公式计算毒死蜱的降解率和降解速率。

1.4.3 计算方法

(1)降解率的计算

$$B_j=(C_i-C_j) \times 100\% / C_i$$

式中: B_j 为某一时刻的毒死蜱的降解率,%; C_i 为培养基中毒死蜱的初始浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; C_j 为某一时刻培养基中毒死蜱的浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

(2)毒死蜱降解速率的计算

$$B_j=(C_i-C_j)/(t_j-t_i)$$

式中: B_j 为某一时刻毒死蜱的降解速率, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; C_j 为某一时刻培养基中毒死蜱的浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; C_i 为前一时刻培养基中毒死蜱的浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; t_j 为某一时刻, h; t_i 为前一时刻, h。

2 结果与分析

2.1 最佳降解条件的优化及其验证

2.1.1 最佳降解条件的优化

根据单因素试验结果,确定在无机盐培养基中的

表 1 试验设计的因素和水平

Table 1 Levels of variables used in the experimental design

因素	单位	代号	不同编码水平取值		
			-1	0	1
毒死蜱浓度	$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	X_1	40	50	60
蔗糖量	%	X_2	0.2	0.3	0.4
温度	$^\circ\text{C}$	X_3	25	30	35

毒死蜱浓度、蔗糖含量和温度为影响降解菌降解毒死蜱的 3 个显著因素。采用 Box-Behnken 统计学试验设计方法,对上述 3 个显著因素进行优化,试验结果见表 2。

表 2 试验设计及结果

Table 2 Experiment design with real and predicted values of the degradation rate

序号	各因素编码水平			毒死蜱降解率 $Y/\%$
	毒死蜱浓度 X_1	蔗糖量 X_2	温度 X_3	
1	-1	-1	0	0.505
2	1	-1	0	0.672
3	-1	1	0	0.622
4	1	1	0	0.670
5	-1	0	-1	0.517
6	1	0	-1	0.675
7	-1	0	1	0.573
8	1	0	1	0.674
9	0	-1	-1	0.581
10	0	1	-1	0.686
11	0	-1	1	0.654
12	0	1	1	0.669
13	0	0	0	0.741
14	0	0	0	0.739
15	0	0	0	0.744
16	0	0	0	0.729
17	0	0	0	0.735

通过 Design-expert software version 8.0.1 (STAT-EASE Inc., Minneapolis, trialversion) 对表 2 试验结果进行多元回归拟合,得出毒死蜱浓度 (X_1)、蔗糖量 (X_2)和温度(X_3)与毒死蜱降解率(Y)的二次多项回归方程为:

$$Y=0.74+0.059 X_1+0.029 X_2+0.014 X_3-0.03 X_1 X_2-0.014 X_1 X_3-0.023 X_2 X_3-0.079 X_1^2-0.041 X_2^2-0.049 X_3^2$$

对回归方程进行方差分析和显著性分析(以降解率为指标),由表 3 可知,该方程及其一次项、二次项的 F 检验结果均显著($P<0.0001$)。模型的决定系数 R^2 为 0.954 7,校正决定系数 $R_{adj}^2=0.9905$,说明该方程与实际情况拟合结果较好,能够正确反应毒死蜱降解率与毒死蜱浓度、蔗糖量和温度之间的关系,因而模型可以较好地对体系的各种试验结果进行预测。

借助 Design Expert 软件,依据回归方程来绘制响应面立体分析图及其等高线,结果如图 1 所示。由图 1 可知,毒死蜱浓度是影响毒死蜱降解率的主要因素,其次是蔗糖量和温度。

表 3 模型方差分析

Table 3 ANOVA for full quadratic model

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	$Pr>F$
模型	9	0.091	0.01	186.00	<0.0001
X_1	1	0.028	0.028	516.73	<0.0001
X_2	1	0.0069	0.0069	127.01	<0.0001
X_3	1	0.0015	0.0015	28.34	0.0011
$X_1 X_1$	1	0.026	0.026	484.11	<0.0001
$X_1 X_2$	1	0.0035	0.0035	65.14	<0.0001
$X_1 X_3$	1	0.0008	0.0008	14.94	0.0062
$X_2 X_2$	1	0.0064	0.0064	132.14	<0.0001
$X_2 X_3$	1	0.002	0.002	37.26	0.0005
$X_3 X_3$	1	0.010	0.010	184.49	<0.0001
$R^2=0.9547$					
$R_{adj}^2=0.9905$					

对回归方程进行岭脊分析,得到响应面最佳条件及提取量预测值。本试验研究中,得到的最佳理论条件为: $X_1=0.351$, $X_2=0.510$, $X_3=0.078$,即:毒死蜱浓度为 $51.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,蔗糖量为 0.31%,温度为 30.7°C 。在该条件下,理论预测毒死蜱降解率可达 74.7%。

2.1.2 方程的验证

由于以上最佳条件未包括在响应面优化的 17 个试验中,需进一步确认计算结果。因此,实验中按响应面法优化的结果设计反应体系,即毒死蜱浓度为 $51.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,蔗糖量为 0.31%,温度为 30.7°C ,反应 72 h 后测定毒死蜱降解率,得出在此条件下毒死蜱降解率为 72.2%,与预测的理论值相差不大。这说明该方程与实际情况拟合很好,充分验证了所建数学模型的正确性,表明响应面法适用于对毒死蜱降解条件进行回归分析和参数优化。

2.2 降解动力学模型的构建

为了建立降解动力学模型,试验研究了毒死蜱含量与培养时间的关系,结果见图 2。由图 2 可以得出毒死蜱的含量随着时间的延长而减少,表明降解是一级反应。图 3 的 $-\ln(C/C_0)$ 与降解时间的关系,可以进一步验证一级反应模型并确定 K 值。

结果显示降解模型的拟合度较好,相关系数达到 0.985 9。一级反应模型也符合指数关系,因此我们认为降解模型是一个指数模型,当毒死蜱初始浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,毒死蜱降解的模拟方程为:

$$C=C_0 e^{-Kt}=50 e^{-0.207t}(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}), K=0.207$$

图 4 为初始浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,农药在不同时间的降解速率。可以看出,毒死蜱降解菌的降解速率随时间的延长先增大后减小,在接种后的 36 h 降解

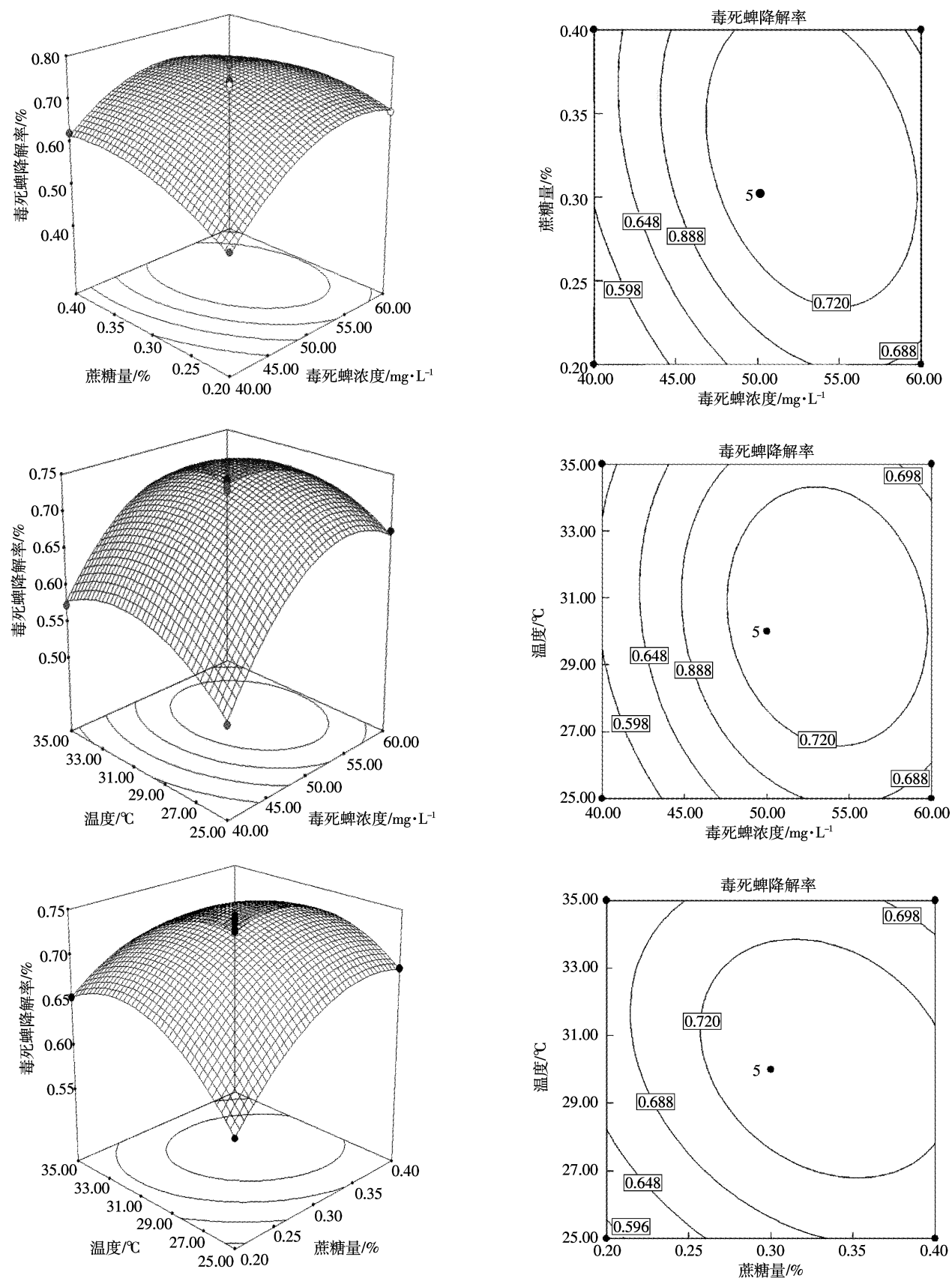


图1 不同因素间交互作用的响应面和等高线

Figure 1 Response surface plots and contour plots of degradation rate under the interaction of different factors

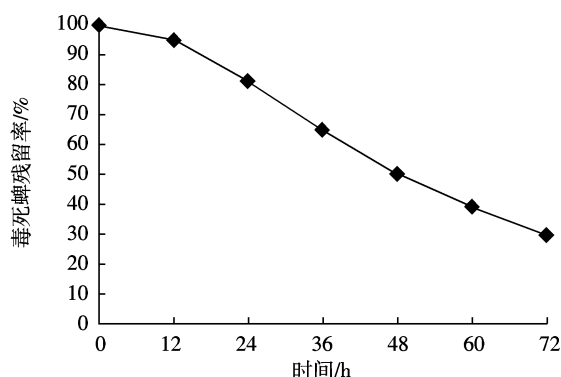


图2 毒死蜱的残留率随时间的变化

Figure 2 Relations between chlorpyrifos concentration and time

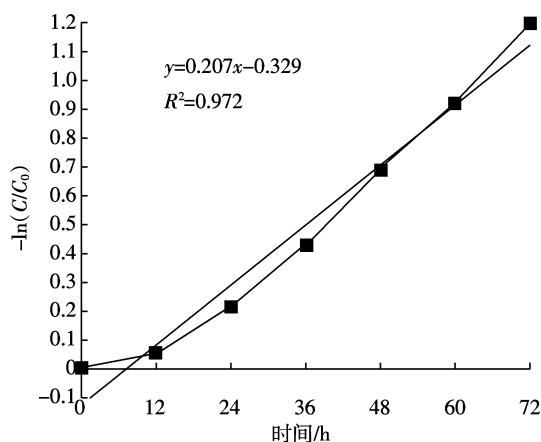
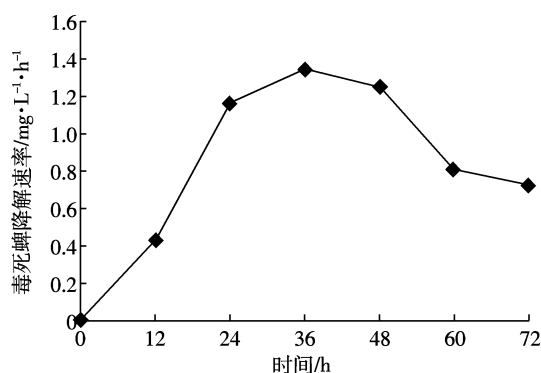
图3 $-\ln(C/C_0)$ 与降解时间的关系Figure 3 Rate of chlorpyrifos degradation by strain from the initial concentration of $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 

图4 毒死蜱降解菌株的降解速率随时间的变化

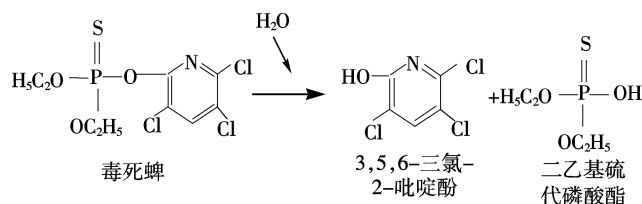
Figure 4 Relation between degradation rate and time by strain

速率达到了最大值,这可能是由于菌体对农药有一定的适应过程,在36 h产生的降解酶达到了最大值。在降解菌的作用下,降解一半毒死蜱所需的时间为: $t_{1/2}=40.2 \text{ h}$ 。

2.3 降解机理的探讨

有机磷农药能被微生物所降解,目前普遍认为在

有机磷底物诱导下,微生物产生一种酶能降解有机磷农药 P=O 或 P-S 键,很多这样的酶已被纯化和表征出来。基于上述哈夫尼菌降解毒死蜱动力学模型,试验结果表明,这个动力学模型能很好地表述毒死蜱的降解过程。这个模型和一级酶促反应的模型很相似,因此可以认为毒死蜱的降解是一级酶促反应。毒死蜱降解菌对毒死蜱的降解是由于该菌诱导产生了能破坏毒死蜱当中 P-O 的酶。基于 Racke 等^[2]的研究成果,由此推断毒死蜱的降解途径为:



本研究得出的结论与之基本一致。

3 结论

本研究利用响应面法对毒死蜱的降解条件进行优化,结果表明,在蔗糖浓度 0.31%、毒死蜱初浓度 $51.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、培养温度 30.7°C 的条件下,哈夫尼菌对毒死蜱的最优降解率为 74.7%,并通过实验充分验证了所建数学模型的正确性。通过假设和验证,得出哈夫尼菌对毒死蜱的降解为一级动力学模型,其方程为: $C=C_0e^{-0.207t}$ 。哈夫尼菌对毒死蜱的降解是一级酶促反应,哈夫尼菌对毒死蜱的降解是由于该菌诱导产生了能破坏毒死蜱当中 P-O 的酶。

参考文献:

- [1] 边全乐. 使用毒死蜱的安全性[J]. 中国农学通报, 1997, 13(6): 71.
BIAN Quan-le. Safety of chlorpyrifos using[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 1997, 13(6): 71.
- [2] 张悦周, 吴耀国, 胡思海, 等. 微生物降解有机磷农药的研究进展[J]. 化工环保, 2007, 27(6): 514-519.
ZHANG Yue-zhou, WU Yao-guo, HU Si-hai, et al. Research advances in biodegradation of organic phosphorus pesticides[J]. *Environmental Protection of Chemical Industry*, 2007, 27(6): 514-519.
- [3] Galloway T, Handy R. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides [J]. *Ecotoxicology*, 2003, 12: 345-363.
- [4] Won J L, Aaron B, Jane A H, et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the agricultural health study [J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2004, 96(23): 1781-1789.
- [5] Yucel U, Yilm M, Gozek K, et al. Chlorpyrifos degradation in Turkish soil[J]. *J Environ Sci and Health*, 1999, 34(1): 75-95.
- [6] 田 芹, 周志强, 江树人, 等. 毒死蜱在环境水体中降解的研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(2): 289-293.
TIAN Qin, ZHOU Zhi-qiang, JIANG Shu-ren, et al. Degradation of

- chlorpyrifos in environmental water[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(2):289-293.
- [7] 汪东, 王敬国, 慕康国. TiO_2 对毒死蜱在土壤表面光降解的催化作用[J]. *生态环境学报*, 2009, 18(3):934-938.
- WANG Dong, WANG Jing-guo, MU Kang-guo. Effect of TiO_2 on photodegradation of chlorpyrifos in surface soil [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(3):934-938.
- [8] 张春永, 袁春伟, 付德刚, 等. 双级微电解法处理毒死蜱生产废水的研究[J]. *水处理技术*, 2009, 35(4):99-103.
- ZHANG Chun-yong, YUAN Chun-wei, FU De-gang, et al. Treatment of chlorpyrifos waste water by two-band micro-electrolysis[J]. *Technology of Water Treatment*, 2009, 35(4):99-103.
- [9] 陈振德, 吉玉玲, 张清智, 等. 硝酸稀土对菠菜中毒死蜱残留的降解作用研究[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(6):1307-1312.
- CHEN Zhen-de, JI Yu-ling, ZHANG Qing-zhi, et al. Effects of rare earths nitrate on degradation of chlorpyrifos residue in spinach[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(6):1307-1312.
- [10] Munnecke D M, Dennis P H. Microbial decontamination of parathion and p-nitrophenol in aqueous media[J]. *Applied Microbiology*, 1974, 28:212-217.
- [11] Samina Anwar, Fauzia Liaquat, Qaiser M Khan, et al. Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol by *Bacillus pumilus* strain C2A1 [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 168:400-405.
- [12] 吴祥为, 花日茂, 唐俊. 表面活性剂对毒死蜱在水溶液中的光解影响[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(8):1705-1711.
- WU Xiang-wei, HUA Ri-mao, TANG Jun. Effect of surfactants on photolysis of chlorpyrifos in aqueous solution[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(8):1705-1711.
- [13] 王金花, 朱鲁生, 王军, 等. 3株真菌对毒死蜱的降解特性[J]. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(2):211-214.
- WANG Jin-hua, ZHU Lu-sheng, WANG Jun, et al. Degradation characteristics of three fungi to chlorpyrifos[J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2005, 11(2):211-214.
- [14] 季宏飞, 许杨, 李燕萍. 采用响应面法优化红曲霉固态发酵产红曲色素培养条件的研究[J]. *食品科技*, 2008, 27(8):9-13.
- JI Hong-fei, XU Yang, LI Yan-ping. Optimization of cultivation conditions for *monascus* pigments by solid fermentation of *Monascus*[J]. *Food Science And Technology*, 2008, 27(8):9-13.
- [15] Meng Chun, Chngchun S, Guo Yanghao, et al. Study on characteristics of biocometabolic removal of omethoate by the *Aspergillus spp*[J]. *Water Research*, 2004, 38:1139-1146.
- [16] Huiping Li, Guoqun Zhao, Chuanzhen Huang, et al. Technological parameters evaluation of gas quenching based on the finite element method[J]. *Computational Materials Science*, 2007, 38(4):561-570.
- [17] 王能强, 彭芳刚, 梁芳, 等. 聚乙烯醇降解酶酶解聚乙烯醇最优条件研究[J]. *环境科学学报*, 2010, 30(7):1390-1394.
- WANG Neng-qiang, PENG Fang-gang, LIANG Fang, et al. Optimal degradation conditions of a poly(vinyl alcohol)-degrading enzyme[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(7):1390-1394.
- [18] 刘娅, 刘宏娟, 张建安, 等. 响应面法优化 *Clostridium beijerinckii* 木糖发酵产丁醇培养基的研究[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(7):194-196.
- LIU Ya, LIU Hong-juan, ZHANG Jian-an, et al. Optimization of biobutanol production strain *Clostridium beijerinckii* with xylose medium by response surface methodology [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2010, 31(7):194-196.
- [19] Mallick K, Bharati K, Banerji A. Bacterial degradation of chlorpyrifos in pure cultures and in soil[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1999, 62(1):48-54.
- [20] 张庆芳, 王锋, 哈益明. 毒死蜱和氯氰菊酯的辐射降解及产物特性研究[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(5):1041-1049.
- ZHANG Qing-fang, WANG Feng, HA Yi-ming. Research on irradiation degradation and products characteristics of chlorpyrifos and cypermethrin[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(5):1041-1049.
- [21] Racke, K D. Environmental fate of chlorpyrifos[J]. *Rev Environ Contam Toxicol*, 1993, 131:1-150.