

几种酰胺类除草剂的光降解及其致突变性*

王琪全 彭展雄

(浙江大学环境与资源化学研究所, 杭州 310027)

摘要 对 3 种常见的酰胺类除草剂乙草胺、异丙甲草胺、丁草胺的光降解进行了研究, 采用 Ames 试验方法对母体和光降解产物的致突变性进行了检验。结果表明, 在紫外灯照射下, 这 3 种除草剂的光降解均较符合一级动力学, 其降解速率次序为: 异丙甲草胺 > 乙草胺 > 丁草胺。乙草胺在光降解前后均表现出无致突变性; 异丙甲草胺和丁草胺本身具有致突变性, 在光降解过程中异丙甲草胺未产生其它致突变性物质, 而丁草胺在光降解末期表现出有其它致突变性物质产生。

关键词 酰胺类除草剂, 乙草胺, 异丙甲草胺, 丁草胺, 光降解, 致突变性, Ames 试验。

The Photodegradation of Three Kinds of Amid Herbicides and Their Mutagenicity*

Wang Qiquan Peng Zhanxiong

(Institute of Environment and Resource Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract The photodegradation of acetochlor, metolachlor and butachlor was studied. The mutagenicity of these three herbicides and their photodegradation products were determined by Ames test. The results showed that the photodegradation dynamics of these three herbicides obeyed first order. The order of degradation rate constants was: metolachlor > acetochlor > butachlor. Acetochlor and its photodegradation products existed no mutagenicity, while metolachlor and butachlor showed mutagenicity. It seemed that there was no other mutagenic substance generated during the photodegradation of metolachlor. In the end of the photodegradation period of butachlor, some other mutagenic substance generated.

Keywords amid herbicide, acetochlor, metolachlor, butachlor, photodegradation, Ames test.

农药的光降解是农药及其中间体在环境中的一种重要的降解途径^[1~3]。酰胺类除草剂是被广泛使用的芽前除草剂^[1,4], 国内外的一些研究工作者^[1,4~7]已对部分酰胺类除草剂的光降解中间产物进行了检测, 并对其降解途径进行了推测。但对酰胺类除草剂光降解后产物的致突变性研究鲜见报道。乙草胺、异丙甲草胺、丁草胺是 3 种常见的酰胺类除草剂, 本文以这 3 种除草剂为研究对象, 采用目前国际上在化学物质致突变性检测中已广泛接受的 Ames 试验^[8~10]对其光降解及其致突变效应进行了研究。

1 材料与方法

(1) 试剂 乙草胺、丁草胺, 由杭州农药厂提供, 经实验室进一步提纯, 纯度分别为 97%、

98%。异丙甲草胺, 由中国水稻研究所提供, 纯度为 98%。甲醇, 分析纯, 经蒸馏后供 HPLC 使用。

(2) 仪器 Spectra-Physics 高效液相色谱, 配 Spectra 100UV-VIS 检测器, 色谱柱为 YWG C18 10 μ 20cm 柱, 流速为 1.0cm³/min。对于乙草胺的分析, 检测波长 220nm, 流动相为甲醇/水 = 75/25, 此条件下乙草胺的保留时间为 5.00min; 对于异丙甲草胺的分析, 检测波长为 230nm, 流动相为甲醇/水 = 70/30, 此条件下保留时间为 6.5min; 对于丁草胺的分析, 检测波长为 230nm, 流动相为甲醇/水 = 85/

* 国家自然科学基金资助项目 (Project Supported by the National Natural Science Foundation of China): 39670420
王琪全: 男, 30 岁, 在职博士研究生, 讲师
收稿日期: 1998-09-31

15, 流动相用 H_3PO_4 调节 $\text{pH} = 3.0$, 此条件下保留时间为 4.86min .

Shimadzu IR-470 红外光谱仪; Shimadzu UV-240; HZ-C 型恒温振荡器; DG-1 多功能恒温箱; J-2 型菌落计数器; 光降解器参见文献[11].

(3) 测试菌 鼠伤寒沙门氏组氨酸缺陷型 TA 97、TA 98、TA 100、TA 102 菌株, 由上海市化学品毒性检定所提供. 经性状鉴定和诊断试验后, 符合要求投入试验.

(4) Ames 试验 取除草剂光降解样液, 以 Ames 试验平皿掺入法^[8]在有或无代谢活化系统 S9mix 条件下检验其致突变性, 作 2 组平行试验.

(5) 光降解 将乙草胺、异丙甲草胺配制成约 100mg/L 的水溶液, 丁草胺配制成约 100mg/L 的甲醇水 (Methanol/Water = 2/8) 溶液, 在 3 支 8W 主波长 254nm 紫外灯照射下进行光降解. 定时取样进行 HPLC 分析和 Ames 试验.

2 结果与讨论

2.1 3 种除草剂的光降解

图 1 是乙草胺、异丙甲草胺、丁草胺的光降解曲线. 由图 1 可以看出, 丁草胺降解后期降解较慢, 而异丙甲草胺降解前后期均较快, 乙草胺的降解情况介于两者之间. 农药在液相中的光降解一般符合一级反应动力学^[12~14], 对这 3 种除草剂的光降解曲线采用一级动力学拟合, 均取得较好的相关性系数, 结果列于表 1. 由表 1 中所列拟合方程的降解速率常数看, 在紫外线照射下, 3 种酰胺类除草剂的光降解速率次序为: 异丙甲草胺 > 乙草胺 > 丁草胺.

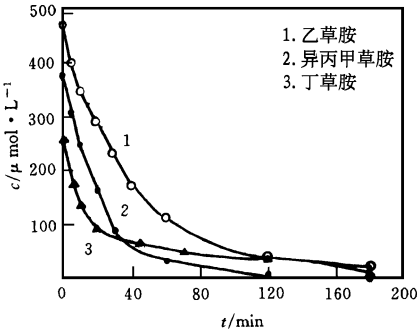
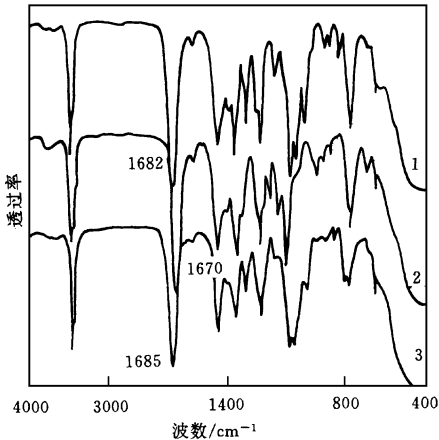


图 1 3 种除草剂的光降解曲线

表 1 3 种除草剂光降解的动力学拟合结果

除草剂名称	动力学拟合方程	相关系数
乙草胺	$\ln c = 6.071 - 0.0212t$	0.997
异丙甲草胺	$\ln c = 5.748 - 0.0334t$	0.995
丁草胺	$\ln c = 5.142 - 0.0162t$	0.970

这 3 种酰胺类除草剂在结构上十分相似, 基本结构都是 $\text{ph}-\text{N}-\text{CO}-\text{R}$, 仅在酰胺 N 的一个取代基上有明显差别, 乙草胺的取代基是 $-\text{CH}_2\text{OC}_2\text{H}_5$, 异丙甲草胺是 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2\text{OCH}_3$, 丁草胺是 $-\text{CH}_2\text{OC}_4\text{H}_9$. 当酰胺的 $\text{C}=\text{O}$ 与 N 原子、苯环发生共轭作用时, 因为 N 的 π 电子同时与 $\text{C}=\text{O}$ 、苯环重叠, $\text{C}=\text{O}$ 伸展振动吸收峰将向高波数移动^[15], 所以 $\text{C}=\text{O}$ 振动吸收峰对应波数越高, 说明其分子基本结构越稳定. 图 2 是这 3 种除草剂的红外光谱. 从图 2 中可以看出, 异丙甲草胺、乙草胺、丁草胺 $\text{C}=\text{O}$ 伸展振动吸收峰波数分别为 1670 、 1682 和 1685cm^{-1} . 造成异丙甲草胺 $\text{C}=\text{O}$ 伸展振动吸收峰波数明显低于其它 2 种除草剂的原因应当是异丙甲草胺中的 $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ 位阻效应, $\text{C}=\text{O}$ 与 N 原子、苯环难以共面而发生共轭作用. 从红外光谱看, 分子不稳定次序是: 异丙甲草胺 > 乙草胺 > 丁草胺, 这与光降解所表现出的降解速率次序恰好一致.



1. 乙草胺 2. 异丙甲草胺 3. 丁草胺
图 2 3 种酰胺类除草剂的红外光谱

与此同时, 对这 3 种酰胺类除草剂在甲醇中的紫外光谱进行了测定, 参比为甲醇, 结果如图 3 所示. 图 3 中各除草剂的 3 个吸收峰可分别

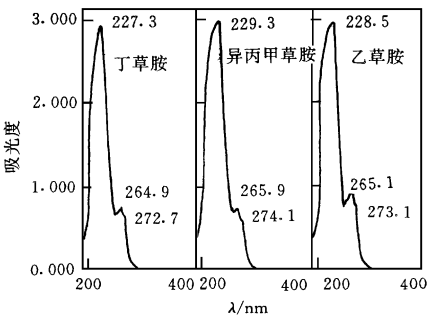


图 3 3 种酰胺类除草剂的紫外光谱

归属为芳香化合物的 E₁、E₂ 和 B 吸收带。由图 3 可以看出, 各吸收带相应波长次序为: 异丙甲草胺> 乙草胺> 丁草胺。经计算在 254nm 处异丙甲草胺、乙草胺、丁草胺摩尔吸光系数分别为 574、457、403L/(cm · mol), 这说明在 254nm 光源照射下, 异丙甲草胺吸收能量最

多, 最可能发生光解; 乙草胺次之; 丁草胺更次之。这与光降解所表现出的降解速率次序恰好也是一致的。

2.2 光降解前后的致突变性

根据 3 种除草剂的光降解曲线及光降解过程中间产物的 HPLC 图谱, 分别取降解前、降解中期(乙草胺、异丙甲草胺取 60min, 丁草胺取 40min)、降解末期(乙草胺、异丙甲草胺取 180min, 丁草胺取 120min) 的溶液进行 Ames 试验, 结果列于表 2、3、4。MR 值是添加受试液后生长出的菌落数与空白时菌落数之比, 一般认为 MR> 2, 且背景正常、具有明确的剂量关系时, 即认为受试液具有致突变性。从表 2 所列结果看, 乙草胺在光降解前后, 各项 MR 值均< 2, 乙草胺及乙草胺光降解产物均无明显的致突变效应。

表 2 乙草胺光解产物 Ames 试验的 MR 值

受试液种类	稀释倍数	TA 97		TA 98		TA 100		TA 102	
		+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9
未光解	1 × 10 ⁰	0.75	1.02	0.94	0.83	0.98	1.19	1.15	0.89
	1 × 10 ¹	0.83	0.92	1.38	1.72	1.38	0.90	1.19	0.80
	1 × 10 ²	0.78	1.02	0.62	1.61	1.24	0.94	0.93	0.92
光解 60min	1 × 10 ⁰	0.80	1.03	0.52	0.72	1.03	1.01	1.11	0.80
	1 × 10 ¹	0.66	0.99	1.19	1.44	0.99	0.75	1.12	0.93
	1 × 10 ²	1.05	1.33	1.58	1.28	1.02	0.80	1.33	0.87
光解 180min	1 × 10 ⁰	0.84	1.14	0.81	1.00	1.09	1.26	1.04	0.88
	1 × 10 ¹	0.57	1.38	1.58	1.61	1.10	1.10	1.33	0.88
	1 × 10 ²	1.04	1.53	1.08	0.87	1.37	0.80	1.03	0.89

表 3 异丙甲草胺光解产物 Ames 试验的 MR 值

受试液种类	稀释倍数	TA 97		TA 98		TA 100		TA 102	
		+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9
未光解	1 × 10 ⁰	2.27	2.10	7.79	9.83	2.73	2.14	1.16	1.35
	1 × 10 ¹	1.23	1.02	1.79	2.50	1.53	1.35	0.69	0.67
	1 × 10 ²	0.89	0.79	1.29	1.78	1.68	0.82	0.76	0.70
光解 60min	1 × 10 ⁰	1.60	0.52	3.46	3.72	2.06	1.66	1.12	0.47
	1 × 10 ¹	1.02	0.77	1.33	1.89	1.40	1.08	0.86	0.81
	1 × 10 ²	0.48	0.86	1.38	1.78	1.45	1.36	0.93	1.07
光解 180min	1 × 10 ⁰	1.51	1.03	2.04	2.61	1.22	0.72	1.01	0.83
	1 × 10 ¹	0.70	1.16	1.67	1.94	1.04	0.85	0.78	0.62
	1 × 10 ²	1.26	0.70	1.54	1.83	1.13	0.55	0.70	0.39

表 4 丁草胺光解前后 Ames 试验的 MR 值

受试液种类	稀释倍数	TA 97		TA 98		TA 100		TA 102	
		+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9
未光解	1 × 10 ⁰	1.15	1.11	2.30	1.39	0.91	4.96	1.01	1.06
	1 × 10 ¹	0.80	0.89	8.27	0.72	0.97	2.00	0.46	0.46
	1 × 10 ²		1.50	2.07	1.56	1.00	0.95	0.62	0.20
光解 40min	1 × 10 ⁰	0.64	0.83	3.40	1.39	0.88	2.41	0.97	1.07
	1 × 10 ¹	0.71	0.56	3.33	1.61	0.95	1.54	1.03	0.22
	1 × 10 ²	0.31	0.59	1.87	0.94	0.96	1.49	0.36	0.52
光解 120min	1 × 10 ⁰	0.49	2.50	2.30	2.78	0.45	1.02	1.04	0.80
	1 × 10 ¹	0.85	1.15	7.27	1.28	0.42	2.11	1.56	1.52
	1 × 10 ²	0.73	1.26	1.47	1.17	0.85	1.57	0.33	0.91

从表 3 所列 MR 值看, 光降解之前 TA97、TA98、TA100 3 种菌种的 $MR \geq 2$, 且 MR 值随异丙甲草胺的稀释倍数的变化有明显的剂量关系, 这说明异丙甲草胺本身具有致突变效应. 光解 60min 后, 异丙甲草胺的浓度下降, 受试物的 MR 值出现不同程度的下降, 致突变性逐渐减弱; 对 TA97、TA102 在不加入 S9 的情况下, 光解产物表现出一定的抑菌性作用. 光解 180min 后, 光降解液除对菌株 TA98 仍有较弱的致突变性, 其它菌株均未表现出致突变性. 从 MR 值随光降解时间的变化情况看, 异丙甲草胺在光降解过程中没有产生其它致突变的降解中间产物.

表 4 所列结果表明, 丁草胺在光解前对菌株 TA98 在高浓度时有抑菌作用, 这与文献 [10] 报道一致; 在低浓度时表现有致突变性, 而且这种致突变性需要经过动物代谢活化酶作用才表现出来. 随着光降解的进行与丁草胺浓度的下降, 其致突变性减弱. 但在光降解末期, 从 TA98 菌株 MR 值变化情况看, 有致突变性物质产生.

从环境保护和防致突变性物质的角度看, 对酰胺类除草剂应进行选择, 尽可能使用乙草胺; 对异丙甲草胺和丁草胺的使用应加强管理, 尽可能地减小其对环境危害.

3 结论

(1) 在紫外灯照射下, 乙草胺、异丙甲草胺和丁草胺的光降解均比较符合一级动力学, 其光降解速率次序为: 异丙甲草胺 > 乙草胺 > 丁草胺, 与其红外光谱中表现出的基本结构不稳定性一致.

(2) 乙草胺在光降解前后, 均无致突变效应. 异丙甲草胺和丁草胺本身有致突变性, 在光降解过程中异丙甲草胺未产生其它的致突变性物质, 而丁草胺在光解末期表现出有致突变性物质产生.

参 考 文 献

- 1 Regi Mathew and Shahamat U Khan. Photodegradation of Metolachlor in Water in the Presence of Soil Mineral and Organic Constituents. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**:

3996 ~ 4000

- 2 Zhou Shi, Michael E Sigman, Mriganka M Ghosh et al. Photolysis of 2-Chlorophenol Dissolved in Surfactant Solutions. *Environ. Sci. Technol.*, 1997, **31**: 3581 ~ 3587
- 3 Hua Rimao, Tang Feng and Yue Yongde. The Effects of Five Pesticides on the Photodegradation of Triadimefon. *Environmental Chemistry (In Chinese)*, 1995, **14**(1): 21 ~ 24
- 4 Wang Yiru, Liu Changwu, Niu Chengyu et al. Phototransformation of Butachlor in Aquatic System and Its Fate in Rice Fields. *Acta Scientiae Circumstantiae (In Chinese)*, 1996, **15**(4): 475 ~ 481
- 5 Jan Kochany and R James Maguire. Sunlight Photodegradation of Metolachlor in Water. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**: 406 ~ 412
- 6 Mangiapan S, E Benfenati, P Grasso et al. Metabolites of Alachlor in Water: Identification by Mass Spectrometry and Chemical Synthesis. *Environ. Sci. Technol.*, 1997, **31**: 3637 ~ 3646
- 7 Gordon Chesters, Geronimo V Simsiman, Jonathan Levy et al. Environmental Fate of Alachlor and Metolachlor. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 1989, **110**: 2 ~ 74
- 8 黄幸珍, 陈星若主编. 环境化学物致突变致畸致癌试验方法(第一版). 杭州: 浙江科学技术出版社, 1985. 13 ~ 18
- 9 Ma Weiyi, Sun Liwei and Bo Haihang. The Genetically Toxic Effects of Fenvalerate Degraded by Microbes. *Journal of Nanjing University (Nature Science) (In Chinese)*, 1988, **24**(3): 555 ~ 561
- 10 Ma Weiyi, Wen Xiaoyan, Liu Fang et al. Toxic Effects of Herbicides Chlorosulfuron, Metsulfuron and Butachlor after Degraded by Microorganisms (Ames Test). *Environmental Chemistry (In Chinese)*, 1991, **10**(3): 59 ~ 63
- 11 Liu Weiping, Wang Qiquan and Fang Zhuo. Environmental Behavior of Pesticide-Adsorption and Photolysis of the Herbicide Triclopyr in Soil-Water Environment. *China Environmental Science (In Chinese)*, 1995, **15**(4): 311 ~ 315
- 12 Liu Weiping, Fang Zhuo, Alba Pusino et al. Environmental Behaviour of Pesticide(V): Persistence and Transformation of Herbicide Acifluorfen in Soil-Water Environment. *Acta Scientiae Circumstantiae (In Chinese)*, 1995, **15**(3): 295 ~ 301
- 13 Moorth N Mallipudi, Steven J Stout, Adrian R da Cunha et al. Photolysis of Imazapyr (AC243997) Herbicide in Aqueous Media. *J. Agric. Chem.*, 1991, **39**: 412 ~ 417
- 14 Bi Gang, Tian Shizhong, Feng Zhigang et al. Photolysis of Pyrethroids Blended with Organic Phosphorus Pesticides. *Acta Scientiae Circumstantiae (In Chinese)*, 1996, **16**(3): 318 ~ 323