

茚虫威对映体在土壤中的选择性降解*

李晓刚^{1**} 刘一平^{1,2} 刘双清¹ 胡昌弟^{1,2} 柏连阳^{1,3} 高必达¹ 姜辉⁴

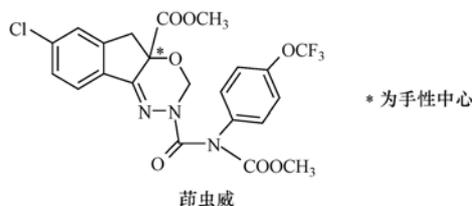
(1. 湖南农业大学生物安全科学技术学院, 长沙, 410128; 2. 湖南省农药检定所, 长沙, 410005;
3. 湖南人文科技学院, 娄底, 417000; 4. 农业部农药检定所, 北京, 100125)

摘要 研究了茚虫威在4种不同类型的农田土壤中的降解动态和选择性降解行为. 结果表明, 添加水平在0.1—5.0 mg·kg⁻¹的条件下, 茚虫威对映体在土壤中添加回收率在(78.56 ± 3.16)%—(108.16 ± 5.32)%之间, 最低检测限为0.01 mg·kg⁻¹, 定量限为0.05 mg·kg⁻¹. 茚虫威在土壤中的消解符合一级动力学规律, 消解过程受土壤pH值、有机质含量等因素的影响. 茚虫威对映体在1[#]—4[#]土壤中的降解速率存在明显的差异性, E₁的半衰期分别为15.33 d、19.09 d、10.61 d、11.40 d, E₂的半衰期分别为15.44 d、15.61 d、8.58 d、11.13 d, 降解快慢顺序为: 3[#] > 4[#] > 1[#] > 2[#], 表明茚虫威在偏碱性的土壤中的降解速率要快于在酸性土壤中, 且对映体的半衰期差异在有机质含量较高的土壤中表现得更加明显; 对映体分数EF值(enantiomer fraction)表明茚虫威对映体在4种供试土壤中除了1[#]土壤外均存在明显的立体选择性降解.

关键词 手性分离, 茚虫威, 对映选择性, 降解, 半衰期.

大约25%已登记的农药活性成分中含有一个或多个手性中心, 手性农药在生态环境中具有显著的立体选择性^[1-2]. 手性农药施用以后, 其在环境中的代谢与转化通常是作为一个化合物来对待, 而更多研究表明, 手性农药各对映体在环境中的归趋与转化具有显著差异性^[3-8]. 可见, 通过非手性分析得到的农药评价数据与实际并不相符, 因此, 农药立体选择性降解研究对环境风险评估^[9-10]具有重要意义.

茚虫威是美国杜邦公司上世纪末开发的一种噁二嗪类杀虫剂, 对几乎所有鳞翅目害虫都有防效^[11]. 茚虫威分子中含有一个手性中心, 具有一对对映异构体, 杀虫活性主要来源于S异构体^[12]. 关于茚虫威在土壤中的降解已有相关研究^[13-16], 但对映体的选择性降解行为还未见报道; 关于茚虫威的手性分析方法, 目前已报道过茚虫威对映体在万古霉素^[17]和直链淀粉^[18-20]类手性固定相的分离, 但未见其在纤维素衍生物类手性固定相上的拆分报道.



本文在实验室条件下对茚虫威在湖南4种具有代表性的土壤中的选择性降解动态进行了研究, 讨论了茚虫威对映异构体在土壤中的降解特异性, 以期为其环境风险评估提供可靠依据.

1 材料与方法

1.1 实验仪器

Agilent 1200 LC 高效液相色谱仪, 配置 G1311A 四元泵、G1322A 脱气机、G1315D DAD 二极管阵列检测器、G1329A 标准自动进样器、G1316A 柱温箱、Agilent Chemstation 色谱工作站; Chiralcel 涂敷型

2011年11月21日收稿.

* 中国博士后科学基金(20090461007); 湖南省高等学校科学研究重点项目(11A053); 湖南省研究生科研创新项目(CX2010B295)资助.

** 通讯联系人, Tel: 0731-84617373; E-mail: lfgang@yahoo.cn

OD-H手性柱(填料为纤维素-三-(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)手性固定相,250 mm × 4.6 mm,5 μm,日本大赛璐公司);C₁₈固相萃取柱(美国瓦里安公司,6 mL,500 mg)。

GZX 光照培养箱(北京中兴伟业仪器有限公司)、电子天平(美国奥豪斯公司)、H2S-H 恒温振荡器(哈尔滨东联电子技术开发有限公司)、R-215 旋转蒸发器(瑞士步琪公司)、超声波清洗器(天津市瑞普电子仪器公司)、氮气吹干仪(美国溶剂蒸发器公司)。

1.2 试验试剂

外消旋茚虫威固体标准品(98%)由湖南省农药检定所提供,将标样溶解在无水乙醇中作为储备液,-20℃保存,试验中按所需浓度由流动相逐级稀释。流动相为无水乙醇(色谱纯,美国天地公司),使用前经重蒸,0.45 μm 滤膜过滤。

1.3 供试土壤

采集湖南未施用茚虫威的耕作层土壤(5—15 cm),风干研细后过 20 目筛备用。4 种供试土壤的基本理化性质见表 1。

表 1 4 种供试土壤的特性

Table 1 The properties of the four soils used in the study

编号	采集地	有机质 /(g·kg ⁻¹)	阳离子交换量 /(cmol(+)·kg ⁻¹)	pH	砂粒/%	粉粒/%	粘粒/%	质地
1 [#]	长沙	3.09	12.8	4.7	19.15	34.05	46.80	粘土
2 [#]	益阳	30.5	14.6	5.1	24.21	47.34	28.45	粉质粘土
3 [#]	慈利	27.8	14.9	7.9	33.65	52.28	14.07	粉质壤土
4 [#]	临湘	12.0	15.6	7.4	20.76	47.65	31.59	粉质粘土

1.4 试验方法

1.4.1 土壤降解实验

添加外消旋体茚虫威前,先调整土壤样品含水率为 20%—30%,置于室温避光培养 7 d,以活化土壤中的微生物。将 120—130 g 土壤(相当于 100 g 干土)放入 250 mL 锥形瓶中,将外消旋体茚虫威标准溶液添加到土壤中,使每一对映体的添加浓度达 10 mg·kg⁻¹。将其充分混匀后,用脱脂棉塞好瓶口,放入 25℃培养箱中避光培养,每种土壤各设 3 个重复。培养期间保持湿度为 20%—30%,分别于 2 h、1 d、3 d、7 d、14 d、21 d、28 d、35 d 取出相当于 5 g 质量的干土进行前处理、分析。

1.4.2 样品处理方法

称取 5 g 干重土壤样品,置于 250 mL 平底烧瓶中,加入 50 mL 乙腈,置于振荡器中振荡 30 min,经漏斗过滤后转入装有 NaCl 的 200 mL 具塞量筒中,充分振荡分层,用移液管移取 20 mL 上层滤液于另一平底烧瓶中,40℃水浴下减压旋转蒸发至干,5 mL 乙腈稀释;将 C₁₈柱用 6 mL 乙腈活化,上样,然后用乙腈分多次进行洗脱,收集 15 mL 流出液,40℃水浴下减压旋转浓缩至干,2 mL 无水乙醇定容,0.22 μm 滤膜过滤,取 20 μL 进样分析。

1.4.3 HPLC 检测条件

流动相为无水乙醇(100%),色谱柱温度 25℃,流速为 1.0 mL·min⁻¹,检测波长为 310 nm,进样量为 20 μL。

2 结果与讨论

2.1 方法的准确度和灵敏度

往空白土壤样品中添加外消旋茚虫威标准溶液,按照色谱操作条件进行分析,以单一对映体的浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制该分析方法的标准曲线,见图 1。在 0.1—40 mg·kg⁻¹ 范围内,茚虫威对映体 E₁、E₂ 的峰面积与浓度呈直线相关,相关系数分别为 0.9993 和 0.9991。

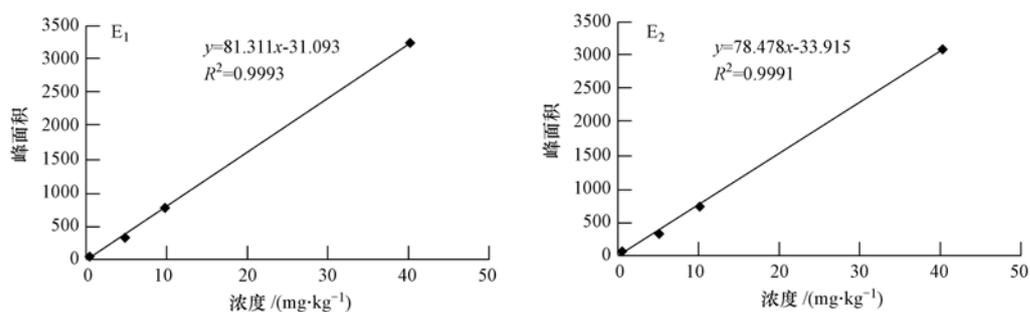


图1 1#土壤中茚虫威对映体浓度与峰面积标准曲线

Fig.1 Calibration curve of the two indoxacarb enantiomers in 1# soil

图2为各种土壤的空白对照和外消旋茚虫威标准溶液的图谱,可以看出经过前处理的土样在待测组分两个对映体的保留时间处均无杂质干扰,而回收率结果表明(表2),两对映体在各土壤中的添加回收率在 $(78.56 \pm 3.16)\%$ — $(108.16 \pm 5.32)\%$ 之间.按照3倍噪声确定方法的最低检测限为 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,定量限为 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.综合上述方法检验结果表明,本实验方法的回收率、精密性及准确度符合残留分析的要求,可满足供试土壤样品的前处理及分析检测需要.

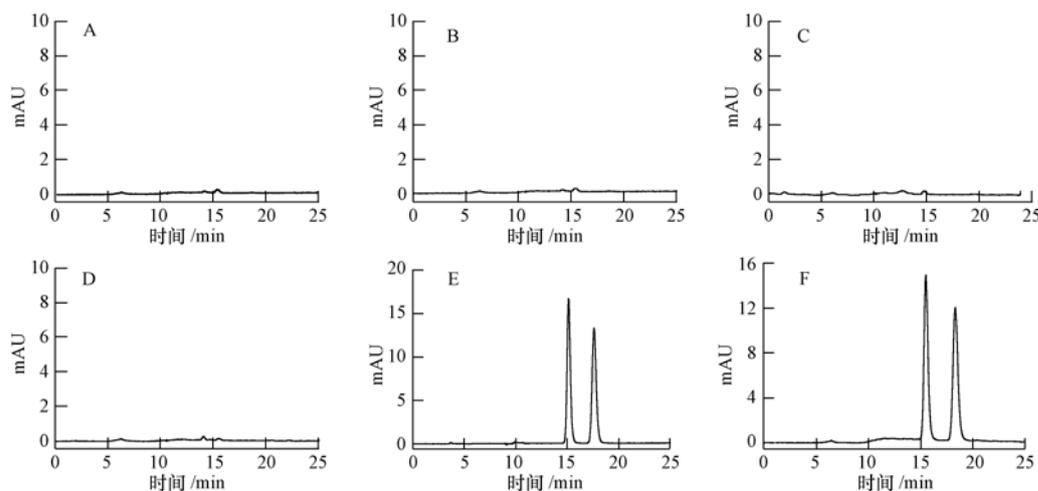


图2 土壤样品空白及添加茚虫威标准图谱

(A—D) 1#—4#空白土壤样品;(E) 外消旋茚虫威标样($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);
(F) 3#土壤空白样品添加外消旋体标样($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);流动相:乙醇(100%),流速: $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$

Fig.2 Standard chromatograms of blank and indoxacarb fortified soil samples

表2 添加外消旋茚虫威对映体的回收率(表中为3次重复平均值±标准差)

Table 2 Mean recoveries (\pm SD) ($n=3$) of fortified indoxacarb enantiomers

供试土壤	对映体	添加水平		
		$0.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}/\%$	$0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}/\%$	$5.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}/\%$
1#	E ₁	108.16 ± 5.32	92.45 ± 0.37	85.15 ± 1.75
	E ₂	104.07 ± 1.06	91.9 ± 1.25	84.64 ± 2.06
2#	E ₁	98.23 ± 6.51	86.37 ± 0.89	79.63 ± 6.17
	E ₂	101.01 ± 3.78	85.5 ± 1.67	78.56 ± 3.16
3#	E ₁	99.86 ± 4.17	86.16 ± 2.28	88.61 ± 2.21
	E ₂	105.32 ± 3.85	82.09 ± 1.58	87.33 ± 1.39
4#	E ₁	92.38 ± 3.56	82.93 ± 4.09	95.18 ± 2.08
	E ₂	95.87 ± 2.04	89.51 ± 3.16	92.67 ± 1.78

2.2 供试土壤中的降解动态

茚虫威对映体在土壤中的降解趋势基本一致,符合一级反应动力学规律^[21],整个降解过程呈现快

速降解-相对平缓的降解趋势(图 3). 对消解动态进行动力学回归, 并计算出降解半衰期(表 3). 从表 3 可以看出, 不同土壤中的降解速率差别较大, 3[#]和 4[#]两种土壤中的消解速率更快, 半衰期在 8.58—11.40 d 之间; 而 1[#]和 2[#]两种土壤降解较慢, 其半衰期均大于 15 d; 茚虫威在 4 种供试土壤中的降解快慢顺序为: 3[#] > 4[#] > 1[#] > 2[#], 可以发现, 茚虫威在偏碱性的土壤中的降解要快于在酸性土壤中. 根据土壤中的降解等级划分标准^[22], 茚虫威在 4 种供试土壤中均属于易降解.

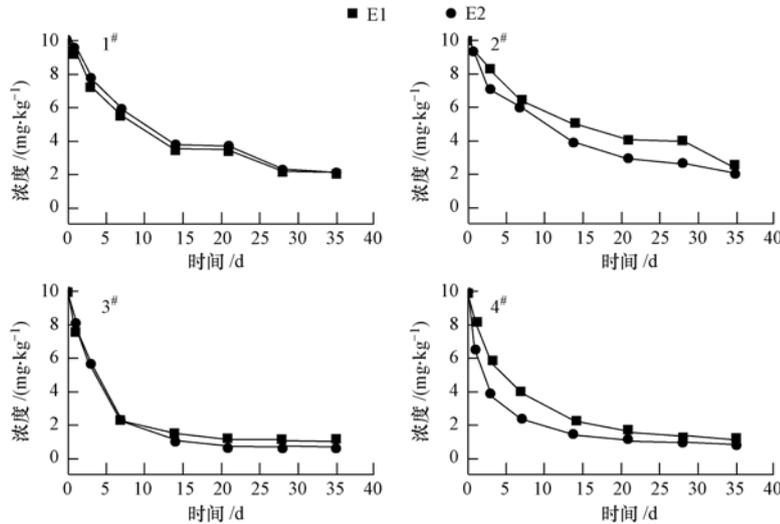


图 3 茚虫威对映体在供试土壤中的降解动态

Fig. 3 Degradation graph of indoxacarb enantiomers in the four test soils

表 3 茚虫威对映体在土壤中的消解动态回归方程

Table 3 Regression equations (RE) of degradation of indoxacarb enantiomers in soils

土壤	对映体	回归方程	相关系数 R^2	半衰期* $T_{1/2}/d$	$T_{1/2}(E1) - T_{1/2}(E2)$
1 [#]	E ₁	$C = 8.9405e^{-0.0452t}$	0.9549	15.33 ^a	-0.11
	E ₂	$C = 8.543e^{-0.0449t}$	0.943	15.44 ^a	
2 [#]	E ₁	$C = 9.2077e^{-0.0363t}$	0.9579	19.09 ^a	3.48
	E ₂	$C = 8.6994e^{-0.0444t}$	0.9538	15.61 ^a	
3 [#]	E ₁	$C = 5.9903e^{-0.0653t}$	0.8078	10.61 ^a	2.03
	E ₂	$C = 6.2484e^{-0.0808t}$	0.8415	8.58 ^a	
4 [#]	E ₁	$C = 7.2913e^{-0.0608t}$	0.919	11.40 ^a	0.27
	E ₂	$C = 5.3679e^{-0.0623t}$	0.8058	11.13 ^a	

* 相同字母代表两对映体半衰期差异不显著, $F < 0.05(1, 4) = 7.71$.

2.3 茚虫威在降解中的对映选择性

从表 3 中可以看出, 在供试的 4 种土壤中, 1[#]和 4[#]土壤中两个对映体的降解半衰期差异很小, 对映体的半衰期差值均小于 0.5 d; 2[#]和 3[#]土壤中的降解半衰期差异相对较大, 2[#]土壤中对映体半衰期相差约 3.5 d, 3[#]土壤中的对映体半衰期相差约 2 d. 4 种土壤中, 茚虫威对映体的半衰期相近, 经 $F_{(0.05)}$ 检验无显著差异; 其差值大小顺序为 2[#] > 3[#] > 4[#] > 1[#], 与各土壤中的有机质含量高低顺序有一定的相关性, 即茚虫威对映体在有机质含量较高的土壤中的半衰期差异相对较大.

对各取样时间点不同的对映体残留量的对映体分数 EF 值进行计算, 结果如图 4 所示. 从图 4 中可以看出, 1[#]土壤在整个降解周期内 EF 值均处在 0.5 左右, 茚虫威两对映体在土壤中的立体选择性行为不明显; 2[#]土壤中 EF 值没有明显规律; 3[#]和 4[#]土壤 EF 值呈先增大后减小的趋势, 分别于第 28 天和第 7 天达到最大值 0.60 ± 0.11 和 0.63 ± 0.23 ; 2[#]、3[#]和 4[#]土壤的 EF 值始终都高于 0.5, 表明茚虫威对映体在 3 种土壤中存在立体选择性降解现象.

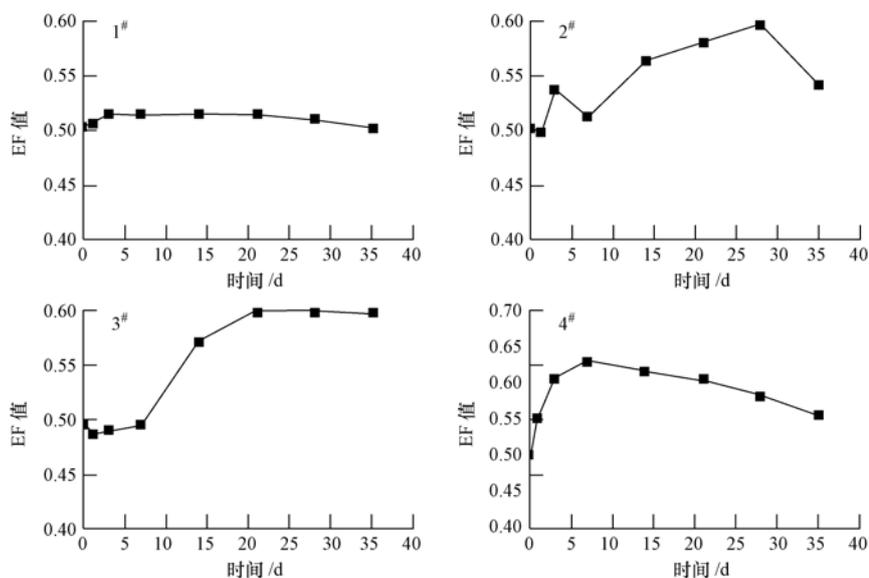


图 4 茚虫威对映体在土壤中 EF 值变化动态

Fig. 4 Change of the enantiomer fraction (EF) value of indoxacarb in the four tested soils with time

3 结论

本实验建立了茚虫威对映体在土壤中残留分析方法,并通过室内培养考察了在供试土壤中的降解行为.根据土壤中的降解等级划分标准,茚虫威在 4 种供试土壤中属于易降解,茚虫威在土壤中的选择性降解除与农药本身性质有关外,还受土壤 pH 值、有机质含量等因素的影响,该结果对明确茚虫威在环境中的归趋,全面评估环境风险均具有重要意义.

参 考 文 献

- [1] Liu W P, Gan J Y, Schlenk D, et al. Enantioselectivity in environmental safety of current chiral insecticides[J]. PNAS, 2005, 102: 701-706
- [2] Sekhon B S. Chiral pesticides[J]. J Pestic Sci, 2009, 34: 1-12
- [3] Lewis D L, Garrison A W, Wommack K E, et al. Influence of environmental changes on degradation of chiral pollutants in soils[J]. Nature, 1999, 401: 898-901
- [4] Li Z Y, Zhang Z C, Zhou Q L, et al. Fast and precise determination of phenthoate and its enantiomeric ratio in soil by the matrix solid-phase dispersion method and liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 977: 17-25
- [5] Qin S J, Liu W P, Gan J, et al. Enantioselective degradation and chiral stability of pyrethroids in soil and sediment[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54: 5040-5045
- [6] Qin S J, Gan J. Enantiomeric differences in permethrin degradation pathways in soil and sediment[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54: 9145-9151
- [7] Kure-karakus P B, Stroud J, Jones K C, et al. Enantioselective degradation of organochlorine pesticides in background soils: variability in field and laboratory studies[J]. Environ Sci Technol, 2007, 41: 4965-4971
- [8] Ma Y, Xu C, Liu W P, et al. Enantioselective separation and degradation of herbicide dichlorprop methyl in sediment[J]. Chirality, 2009, 21: 480-483
- [9] 刘维屏,许惠庆,俞康宁,等. 禾草灵在大田系统中迁移、降解动态规律研究[J]. 环境化学, 1991, 10(2): 48-54
- [10] 宋立岩,花日茂,赵由才,等. 精噁唑禾草灵微生物降解的初步研究[J]. 环境化学, 2005, 24(2): 193-196
- [11] 丁宁,孟庆伟,赵伟杰,等. 噁二嗪类杀虫剂茚虫威的研究进展[J]. 农药学报, 2005, 7(2): 97-103
- [12] Mccann S F, Annis G D, Shapiro R, et al. The discovery of indoxacarb: oxadiazines as a new class of pyrazoline-type insecticides[J]. Pest Manag Sci, 2001, 57: 153-164
- [13] Snyser B P. Anaerobic aquatic metabolism of [indanone-1-¹⁴C] DPX-JW062 and [trifluoro-methoxyphenyl (U)-¹⁴C] DPX-JW062, a racemic (50: 50) mixture of DPX-KN128 and IN-KN127. DuPont Report No. AMR 3236-94, Revision No. 2. E. I. [R] duPont de Nemours and Company, Wilmington, DE, 2002

- [14] 董丰收, 郑永权, 沙宪英, 等. 茚虫威 15% 悬浮剂在棉花和土壤中的残留动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24 (5): 1027-1031
- [15] 李畅方, 何强, 徐伟松, 等. 茚虫威在甘蓝和土壤中的残留量及消解动态研究[J]. 农药科学与管理, 2005, 26 (12): 8-11
- [16] 周凤霞, 李培. 茚虫威在土壤中的消解动态研究[J]. 环境科学与管理, 2008, 33(10): 58-61
- [17] Mojtahedi M M, Chalavi S, Ghassempour A, et al. Chiral separation of three agrochemical toxins enantiomers by high-performance liquid chromatography on a vancomycin crystalline degradation products-chiral stationary phase[J]. Biomed Chromatogr, 2007, 21(3): 234-240
- [18] Saito K, Yato M, Ito T, et al. Verification of the need for optical purity measurement of chiral pesticide standards as agricultural reference materials[J]. Accred Qual Assur, 2008, 13(7): 373-379
- [19] 董丰收, 郑永权, 李重九, 等. 茚虫威在直链淀粉手性固定相上的对映体分离研究[J]. 化学试剂, 2008, 30(7): 517-518, 521
- [20] Cheng L, Dong F S, Liu X G, et al. Determination of indoxacarb enantiomer residues in vegetables, fruits, and soil by high-performance liquid chromatography[J]. J Aoac Int, 2010, 93: 1007-1012
- [21] 袁蕾, 王会利, 李建中, 等. 阿维菌素在油菜和土壤中残留及降解行为研究[J]. 环境化学, 2011, 30(2): 490-494
- [22] 国家环境保护局. 化学农药环境安全评价试验准则[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989: 1-25

Enantioselective degradation of indoxacarb enantiomers in soils

LI Xiaogang^{1*} LIU Yiping^{1,2} LIU Shuangqing¹ HU Changdi^{1,2}
BAI Lianyang^{1,3} GAO Bida¹ JIANG Hui⁴

(1. College of Bio-safety Science & Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, 410128, China; 2. Hunan Institute for the Control of Agrochemicals, Changsha, 410005, China; 3. Hunan University of Humanities, Science and Technology, Loudi, 417000, China; 4. Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, Beijing, 100125, China)

ABSTRACT

The dissipation dynamic and enantioselective degradation of indoxacarb in soils were studied by incubation with racemic indoxacarb in four agricultural soils. When the concentration of indoxacarb was fortified from 0.1 to 5.0 mg·kg⁻¹, the average recoveries varied from (78.56 ± 3.16)% to (108.16 ± 5.32)%, respectively. The limit of detection of indoxacarb in the test soils was 0.01 mg·kg⁻¹, and the limit of quantitation was 0.05 mg·kg⁻¹. The dissipation of indoxacarb enantiomers in the soils followed pseudo-first-order kinetic. The dissipation rate was greatly influenced by pH and organic matter content of each soil. The results showed that the degradation rate of indoxacarb was different in soils 1[#]—4[#]. The half-time of the first enantiomer was 15.33 d, 19.09 d, 10.61 d, 11.40 d, and the half-time of the second enantiomer was 15.44 d, 15.61 d, 8.58 d, 11.13 d. The dissipation rate in the descending order was 3[#] > 4[#] > 1[#] > 2[#]. The results indicated a faster dissipation rate for indoxacarb in alkaline soil than in acidic soil, and there was a bigger difference on half-time period of indoxacarb enantiomers in soil of high organic matter. The EF value indicated that the stereoselective degradation led to significant difference between two enantiomers in the test soils except 1[#].

Keywords: chiral separation, indoxacarb, enantioselectivity, degradation, half-time.