

烯炔菌酯正辛醇-水分配系数的测定

黄杰¹, 付一峰¹, 范志金^{2*}, 王守信², 黄云¹, 刘长令³

(1. 四川农业大学 植物病理学系, 四川 成都 611130; 2. 南开大学 元素有机化学国家重点实验室, 天津 300071; 3. 沈阳化工研究院有限公司, 辽宁 沈阳 110021)

摘要:建立了水中微量烯炔菌酯的测定方法,水中的烯炔菌酯经二氯甲烷萃取后,进 HPLC 测定,方法的平均添加回收率为 98.1%~100.9%,烯炔菌酯的最小检出量为 2×10^{-9} g,最小检出浓度为 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。摇瓶法对烯炔菌酯正辛醇-水分配系数的测定结果表明,烯炔菌酯在二次蒸馏水中的 $\lg K_{ow}$ 为 3.03 ± 0.12 。生物体对烯炔菌酯具有较强程度的富集作用。

关键词:烯炔菌酯; 杀菌剂; 正辛醇-水分配系数

中图分类号: O242.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-8395(2012)01-0113-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-8395.2012.01.025

正辛醇-水分配系数(K_{ow})是评价一个化学品在有机相和水相间分配的一种趋势,与其在水中的溶解度和土壤/沉积物吸附系数以及生物富集因子等密切相关^[1]。烯炔菌酯是沈阳化工研究院继唑菌酯后于 1997 年开发的又一个新型甲氧丙烯酸酯类杀菌剂^[2],英文通用名为 enostrobin,商品名为佳斯奇,化学名称为 3-甲氧基-2-[2-(((1-甲基-3-(4-氯苯基)-2-丙烯基)氨基)氧)-甲基]苯基]丙烯酸甲酯,有 Z 和 E 两个异构体(图 1),该药低毒^[3],具有广谱和高效的杀菌活性,既有预防作用又有治疗作用,对由鞭毛菌、结合菌、子囊菌、担子菌及半知菌引起的多种植物病害有良好的防治效果^[4]。该药对黄瓜霜霉病菌游动孢子释放、游动孢子游动、芽管伸长、菌丝扩展、孢囊梗形成及孢子囊产生均有抑制作用,而且对黄瓜霜霉病菌的游动孢子释放、游动孢子游动和芽管伸长有显著的抑制作用^[5-6];稻瘟病菌对烯炔菌酯产生抗药性的风险较低^[7];在苹果和土壤中属低残留农药^[8]。为了给该药的环境行为评价提供基本的理化参数,本文在建立烯炔菌酯在水中残留分析方法的基础上用摇瓶法测定了其在二次蒸馏水中的正辛醇/水分配系数 $\lg K_{ow}$ 。

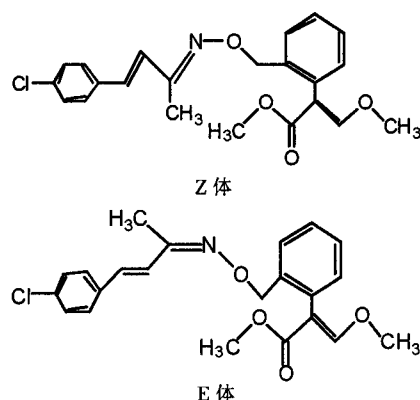


图 1 烯炔菌酯(试验代号: SYP-Z071)的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of enostrobin (experimental code: SYP-Z071)

1 实验部分

1.1 试验材料与仪器

1.1.1 供试药剂 烯炔菌酯 E 体标样,质量纯度 99.0%,沈阳化工研究院有限公司;烯炔菌酯 Z 体标样,质量纯度 99.0%,沈阳化工研究院有限公司;烯炔菌酯标样,质量纯度 93.0%(E 体 78.1%,Z 体 14.9%),沈阳化工研究院有限公司;正辛醇,分析纯,天津市津宇精细化工厂;二氯甲烷,分析纯,天

收稿日期:2009-11-04

基金项目:国家自然科学基金(20872071 和 20911120069)、国家重点基础研究发展计划“973”项目(2010CB126105)、天津市应用基础与前沿技术研究计划重点项目(10JCZDJC17500)、国家科技支撑计划(2011BAE06B02 和 2011BAE06B05)、天津市农业科技成果转化与推广项目(201002250)和农业部公益性行业专项(nyhyzx3-21,201103016 和 201003029)资助项目

* 联系作者简介:范志金(1968—),男,教授,主要从事农药学的教学和新农药创制的研究

津市化学试剂一厂;甲醇,光谱纯,天津市康科德科技有限公司;乙腈,光谱纯,天津市康科德科技有限公司;无水硫酸钠,分析纯,重结晶后 150 ℃ 烘干 5 h,再在 700 ℃ 马福炉中干燥 4 h,置于干燥器中备用。水,双重蒸后使用。

1.1.2 供试仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪,配备紫外检测器及工作站;金怡 SHZ-88 水浴恒温振荡器(温度范围室温-100 ℃),江苏省金坛市医疗仪器厂;DU 800 核酸蛋白分析仪,Beckman Coulter 产品;电子天平 Sartorius,精度为 0.000 01 g。

1.2 试验方法

1.2.1 水中烯炔菌酯残留分析方法的建立 将烯炔菌酯标样配制成一定浓度的乙腈母液,向双重蒸水中添加不同量的烯炔菌酯乙腈母液,使水中添加浓度分别为 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 0.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。取 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 水样 200 mL,其余各浓度水样 50 mL,加入质量分数 2% 的 Na_2SO_4 溶液 100 mL,用 50、30、30 mL 二氯甲烷分别萃取 3 次,合并二氯甲烷相经无水 Na_2SO_4 干燥后,在小于 40 ℃ 条件下旋转蒸发近干,洗耳球吹干后用乙腈定容到 2 mL 待 HPLC 测定,计算添加回收率。同时做空白试验。

1.2.2 溶剂的预饱和 将正辛醇和二次蒸馏水在振荡器上于 30 ℃ 振荡 24 h,令其相互饱和,在分液漏斗中静置分层后,分离两相,两相界面附近的溶剂弃去,分别保存备用。

1.2.3 被水饱和的正辛醇的烯炔菌酯标准溶液的配制 准确称取 5 mg(精确到 0.000 01 g)烯炔菌酯标样于 25 mL 容量瓶,加入 15 mL 被水饱和的正辛醇,振荡、溶解得 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液,再取 10 mL 质量分数 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液,用被水饱和的正辛醇定容到 50 mL,置于 30 ℃ 的恒温室备用。

1.2.4 平衡时间的确定 取 1 mL 质量分数 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的被水饱和的正辛醇的烯炔菌酯标准溶液于 25 mL 三角瓶中,加入 9 mL 被正辛醇饱和的水,盖紧盖子,置于恒温振荡器上于 30 ℃ 振荡,测定不同时间水相中烯炔菌酯的含量,水相中烯炔菌酯浓度恒定的时间即为其在正辛醇和水相中达到平衡的时间。

1.2.5 分配系数的测定 取 1 mL 被水饱和正辛醇的 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 烯炔菌酯标准溶液于 25 mL 三角瓶中,加入 9 mL 被正辛醇饱和的水,于 30 ℃ 振

荡 4 h 后,3000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 30 min,弃去辛醇相,取部分水相加 10 mL 质量分数 2% 的 Na_2SO_4 溶液,用 15 mL \times 3 的二氯甲烷萃取,合并二氯甲烷相,经无水 Na_2SO_4 干燥,二氯甲烷相在 35 ~ 40 ℃ 旋转蒸发近干,吹干后用乙腈定容,同时进行 5.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的试验,两个测定浓度相差 10 倍。烯炔菌酯的 K_{ow} 按下式计算:

$$K_{ow} = \frac{C}{C_w} = \frac{C_o V_o - C_w V_w}{C_w V_o}$$

其中, K_{ow} 为辛醇/水分配系数; C 为平衡时烯炔菌酯在正辛醇相中的浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); C_w 为平衡时烯炔菌酯在水相中的浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); C_o 为烯炔菌酯在正辛醇相中的初始浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); V_o 为正辛醇相的体积 (mL); V_w 为水相的体积 (mL)。

1.2.6 烯炔菌酯含量的 HPLC 测定条件 色谱柱: Diamonsil C_{18} 柱, 250 \times 4.6 mm, 5 μm ; 流动相: 甲醇/双蒸水体积比为 88/12; 流速: 1.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长: 290 nm。

2 结果与讨论

2.1 水中烯炔菌酯残留测定方法的建立

表 1 烯炔菌酯的表现 K_{ow} 测定值 (30 ℃)

Table 1 Apparent K_{ow} of enostrobilurin detected at 30 ℃

介质	K_{ow}	$\lg K_{ow}$	平均值 \pm 95% 置信限
双蒸水	901.12	2.95	3.03 \pm 0.12
	1 329.77	3.12	
	1 446.11	3.16	
	1 361.20	3.13	
	773.99	2.89	
	887.88	2.95	

2.1.1 烯炔菌酯测定方法的线性范围和方法的准确度 将烯炔菌酯各异构体标样稀释成一定浓度在 DU800 核酸蛋白分析仪上在 0 ~ 800 nm 范围内扫描,结果烯炔菌酯 Z 体的最大紫外吸收峰出现在 257 nm 处,烯炔菌酯 E 体的最大紫外吸收峰出现在 292 nm 处,由于 E 体的含量高,因此,本研究选择 290 nm 为紫外检测波长,调节流动相的比例和流速发现,流动相甲醇/双蒸水体积比为 88/12,流速在 1.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 时有效成分可以得到很好的分离和检测,在此条件下两个异构体的保留时间分别是 Z 体 7.8 和 10.4 min。将烯炔菌酯各异构体标样分别稀释成一定的浓度梯度,在上述色谱条件下进

样测定,分别以两个异构体峰面积定量,烯炔菌酯 Z 体在 $2.5 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内相关性很好, R^2 为 0.999 8, 回归方程为 $y = 3.931 1x + 1.187 5$; 烯炔菌酯 E 体在 $3.1 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内相关性很好, R^2 为 0.999 9, 回归方程为 $y = 52.300 0x - 3.719 6$. 以两个异构体组成的混合物标样进行标准曲线的制备并进行添加回收试验,不同添加浓度的烯炔菌酯水溶液经二氯甲烷萃取后进 HPLC 测定,结果表明,两个异构体的混合标样在 0.1、0.5 和 $2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的添加回收率分别为 100.9%、98.1% 和 99.4%,在农药残留检测规定的范围内,因此,该法可以进行烯炔菌酯在水中的残留分析,在本研究的条件下,烯炔菌酯的最小检出量为 $2 \times 10^{-9} \text{ g}$,水中烯炔菌酯的最小检出浓度为 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

2.2 烯炔菌酯 K_{ow} 的测定结果

2.2.1 平衡时间的确定 测定不同时间取样时水相中烯炔菌酯的含量,水相中烯炔菌酯的浓度在 1.5 h 即达到最高值,以后趋于平衡.因此,烯炔菌酯在正辛醇和水相中达到平衡的时间为 1.5 h.

2.2.2 烯炔菌酯 K_{ow} 的测定结果 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂是目前创制的热点之一^[9],这类药剂亲脂性强,易造成生物富集作用,因此,其残留和理化参数的测定意义重大^[10-11].由于 K_{ow} 是新化合物或具有潜在环境毒理意义化合物的重要理化参数,目前, K_{ow} 除了进行实际测定外,还可以采用相关的理论手段进行预测^[12],由于在正辛醇/水的二元平衡体系中,在正辛醇相内含水 $2.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,在水相含 $4.5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的正辛醇,而 K_{ow} 只有在溶度浓度 $< 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时才是溶质浓度的函数,因此要求 K_{ow} 的测定要在小于 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件

下进行,并且至少要做两种浓度相差 10 倍的试验.本研究采用摇瓶法测定了烯炔菌酯在二次蒸馏水中的 K_{ow} 值,5 测定的平均结果见表 1.表 1 说明, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 时烯炔菌酯在二次蒸馏水中的 $\lg K_{ow}$ 为 3.03 ± 0.12 ,即烯炔菌酯在被水饱和的正辛醇相中的浓度是其在被正辛醇饱和的水相中的 $773.99 \sim 1446.11$ 倍.生物体对烯炔菌酯有较大的富集能力.生物体对其同类的药剂唑菌酯具有较强的富集作用^[13],因此,要避免这类药剂对地下水造成的污染,防止药剂对有益生物的危害.同时,由于甲氧基丙烯酸酯类药剂作用机制单一,加上旁路氧化途径的存在,通常情况下具有较高的抗药性风险^[14],因此,科学合理的使用该类药剂对农业生产实践具有重要的意义.

另外,在进行新型甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂创制时,应该在分子中多引入亲水的基团,在增加目标分子亲水性的同时降低目标分子的亲脂性,减少其在生物体的富集量,降低对有益生物的危害.因此,分子设计时目标分子的 $\lg K_{ow}$ 的调节应该作为一个重要的指标.有关这类药剂商品化的品种并不多见,到目前,共有 12 个品种在推广应用,其中包括沈阳化工研究院有限公司的 3 个正在产业化的品种^[15],究其深层次的原因,除了抗药性以外,其成药性的理化性质的影响可能也是一种重要因素.

3 结语

摇瓶法测得烯炔菌酯在二次蒸馏水中的 $\lg K_{ow}$ 为 3.03,结果说明生物体对烯炔菌酯有较强程度的富集作用.

参考文献

- [1] 范志金,陈俊鹏,李正名,等.单噻磺隆正辛醇-水分配系数的测定[J].环境化学,2004,23(4):431-434.
- [2] 范志金,张海科,马琳,等.新杀菌剂唑菌酯原药的 HPLC 分析[J].四川师范大学学报:自然科学版,2008,31(3):358-360.
- [3] 李肇丽,蔡磊明,赵玉艳,等.3种新型农药对赤眼蜂的急性毒性和安全性评价[J].农药,2009,48(6):435-436.
- [4] 司乃国,刘君丽,李志念,等.创制杀菌剂烯炔菌酯生物活性及应用研究(I):黄瓜霜霉病[J].农药,2003,42(10):36-38.
- [5] 王岩,冯明鸣,刘西莉,等.黄瓜霜霉病菌不同发育阶段对烯炔菌酯的敏感性[J].中国农业科学,2006,39(9):1810-1816.
- [6] 段广荣,石延霞,谢学文,等.黄瓜枯萎病防治药剂的离体和活体筛选[J].中国蔬菜,2010(12):60-65.
- [7] 秦冬梅,徐应明,黄永春,等.烯炔菌酯在苹果及土壤中的残留动态研究[J].环境化学,2007,26(6):753-756.
- [8] 陈明丽,纪明山,赵琳,等.辽宁省稻瘟病菌对烯炔菌酯敏感基线及抗药性风险研究[J].现代农药,2008,7(2):23-25.
- [9] Li H C, Chai B S, Li Z N, et al. Synthesis and fungicidal activity of novel strobilurin analogues containing substituted *N*-phenylpyrimidin-2-amines[J]. Chinese Chemical Letters, 2009, 20(11): 1287-1290.
- [10] Campillo N, Viñas P, Aguinaga N, et al. Stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of strobi-

- lurin fungicides in fruit samples[J]. *J Chromatogr*,2010,A1217(27):4529-4534.
- [11] Viñas P, Campillo N, Martínez-Castillo N, et al. Method development and validation for strobilurin fungicides in baby foods by solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr*,2009,A1216(1):140-146.
- [12] Hsieh C M, Lin S T. Prediction of 1-octanol-water partition coefficient and infinite dilution activity coefficient in water from the PR + COSMOSAC model[J]. *Fluid Phase Equilibria*,2009,285(1/2):8-14.
- [13] 张海科,刘秀峰,范志金,等. 摇瓶法结合 HPLC 测定新杀菌剂唑菌酯的正辛醇-水分配系数[J]. *安全与环境学报*,2008,8(2):5-7.
- [14] 贾俊超,马琳,范志金,等. 病原菌对 Strobilurin 类杀菌剂抗药性机理的研究进展[J]. *农药学报*,2008,10(1):1-9.
- [15] 赵平,严秋旭,李新,等. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的开发及抗性发展现状[J]. *农药*,2011,50(18):547-551.

Octanol/Water Partition Coefficient Determination of Enostrobin

HUANG Jie¹, FU Yi-feng¹, FAN Zhi-jin², WANG Shou-xin²,
HUANG Yun¹, LIU Chang-ling³

(1. Department of Plant Pathology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan;

2. State Key Laboratory of Elemento Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071;

3. Shenyang Research Institute of Chemical Industry Limited Company, Shenyang 110021, Liaoning)

Abstract: The method of residue analysis of enostrobin in water was established by HPLC detection after extraction using dichloromethane. The results indicated that fortified recoveries in water of this method were 98.1% ~ 100.9% at 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ to 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ of fortification. The minimum detectable quantity in water was 2×10^{-9} g, and the minimum detectable concentration in water was 0.02 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The K_{ow} of enostrobin detected by bottle-shaking method in double-distilled water were 773.99 ~ 1446.11, and $\lg K_{ow}$ was 3.03 ± 0.12 . The biological accumulation of enostrobin was high.

Key words: enostrobin; fungicide; octanol/water partition coefficient

(编辑 周俊)