

土壤中磺酰脲除草剂降解机制研究进展*

郎印海 蒋新 赵其国 和文祥

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘要 磺酰脲除草剂是一种高效、低毒、低用量(10~40g/hm²)的新型除草剂,广泛应用于水稻、小麦和玉米等田间杂草的控制,在土壤中降解途径主要为水溶性光分解、醇解、化学水解和微生物分解,且 4 种降解途径下各自产生不同的降解产物。对土壤中磺酰脲除草剂降解产物的测定多采用气相色谱、液相色谱、酶连免疫吸附和生物检测,各测定方法均有利弊,色谱法需繁琐的纯化程序提纯样品以达到检测极限 0.1μg/kg,生物检测和免疫吸附法测定快速、灵敏度高但缺乏专一性。结合生物降解模型研究,阐述了磺酰脲除草剂的降解机制。

关键词 磺酰脲除草剂 降解 残留检测 生物降解模型

Advance in the research on the mechanism of degradation of sulfonylurea herbicides in soils. LANG Yin-Hai,JIANG Xin,ZHAO Qi-Guo,HE Wen-Xiang (Institute of Soil Science,Chinese Academy of Sciences,Nanjing 210008),CJEA, 2003,11(1):98~101

Abstract The sulfonylurea herbicides,an important and new type of herbicides for weed control in agronomic crops,such as rice,wheat and maize,are characterized by high activity low toxicity and low application rates (10~40g/hm²). When entering the soil,the sulfonylurea herbicides can be degraded by photolysis,alcoholysis,hydrolysis and microbial transformations,and then produce different metabolites. People often select the gas chromatography (GC),high-performance liquid chromatography (HPLC),enzyme-linked immunosorbent assay and bioassay to detect the residues of the sulfonylurea herbicides. Standard analytical methods such as HPLC and GC require complicated cleanup procedures to reach the detection limit of 0.1μg/kg,the bioassay and immunoassay procedures are all the rapid,cost-effective and sensitive methods,but are lack of selectivity and specificity. With the research on the model of biodegradation of organic pollutants,the mechanism of degradation of sulfonylurea herbicides in soils is reviewed.

Key words Sulfonylurea herbicides, Degradation, Residues analysis, Biodegradation model

20 世纪 80 年代开发的磺酰脲除草剂被作物根、茎和叶吸收后作用于植物体内的乙酰乳酸合成酶(ALS),抑制支链氨基酸合成,阻碍细胞分裂,从而杀死田间杂草,其用量少、选择性高、高效、低毒,广泛应用于水稻、油菜、小麦、大麦和玉米等作物^[8,18,22]。近年来关于磺酰脲除草剂在土壤中的吸附、迁移报道较多,但土壤中除草剂的残留问题一直困扰人们,有些作物对磺酰脲除草剂的残留极其敏感,加之除草剂残留对某些后茬作物产生药害,故研究磺酰脲除草剂在土壤中的降解机制并探寻高灵敏的残留检测方法^[3,4]意义重大。土壤中磺酰脲除草剂的降解机制主要有光解、醇解、化学水解和微生物分解,对其残留检测多应用气相色谱、液相色谱、酶连免疫吸附和生物测定。

1 生物降解模型

在土壤-水微生物系统中土壤能承载和净化有机污染物,其生物降解模型一是二级反应模型(Second-Order Model),可表示为:

$$\frac{d_s}{d_t} = kst \quad (1)$$

式中, s 为底物浓度, t 为时间,方程为对称函数曲线。此模型简单,但未考虑生物降解过程中线性吸附反应或解吸附的滞后期,应用该模型计算时必须调整滞后期反应,使之符合模型^[19]。二是 3.5 级动力学方程模型(Three-Half-Order Kinetic Model),此模型可表示为:

$$p = S_0 [1 - e^{-K_1 t - (K_2 t^2)^{1/2}}] + K_0 t \quad (2)$$

* 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCXZ-401)和国家重点基础研究(973)发展规划项目(G1999011801-03)共同资助
收稿日期:2001-07-01 改回日期:2001-08-02

式中, p 为产物浓度, S_0 为初始底物浓度, K_1 为一级速率反应常数, K_2 为二级速率反应常数, K_0 为零级速率常数。该模型假定生物降解为线性反应, 且降解反应不单是一级反应^[12]。三是双区模型(Two-Compartment Model), 该模型的最大特点是简单易用, 但它将有有机污染物的实际降解过程过于简化, 许多模型参数物理意义不明确, 且不能说明残留有机污染物在土壤中滞留作用, 无法科学预测生物降解是否结束。该模型可表示为:

$$\varphi_1 = \frac{[(K_3 + \lambda_2)S_{01} + (K_4 + \lambda_2)S_{02}]}{\lambda_2 - \lambda_1} \quad (3)$$

$$\varphi_2 = \frac{[(K_3 + \lambda_1)S_{01} + (K_4 + \lambda_1)S_{02}]}{\lambda_1 - \lambda_2} \quad (4)$$

$$P = \varphi_1(1 - e^{\lambda_1 t}) + \varphi_2(1 - e^{\lambda_2 t}) \quad (5)$$

式中, P 为反应终产物, S_{01} 、 S_{02} 分别为区 1 和区 2 反应底物, K_3 和 K_4 为一级反应速率常数, λ_1 、 λ_2 为土壤母质特征值^[16]。四是球体扩散模型(Sphere Diffuse Model), 土壤系统中土壤颗粒可被视作多孔球形颗粒, 具有内部和外部孔隙, 在初始状态下有机污染物存在于土壤颗粒内部和外部的液相中, 微生物则均匀分布在外部液相中而不能进入颗粒内部, 故有机污染物的生物降解过程只能发生于土壤颗粒外部液相中。应用土壤颗粒内部屏蔽理论, 建立定量描述生物降解有机污染物的球体扩散数学模型, 用线性吸附等温线表示可逆吸附和解吸过程, 用假一级反应动力学方程表示不可逆土壤屏蔽反应过程, 用 Monod 方程表示生物降解过程^[2], 其降解平衡方程为:

$$\left[1 + \frac{(1 - \theta)\rho K_d}{\theta}\right] \frac{\partial C_p}{\partial t} = \frac{D_p}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial C_p}{\partial r}\right) - \frac{(1 - \theta)}{\theta} \rho K_1 K_d C_p \quad (6)$$

式中, C_p 为污染物在土壤颗粒内孔隙液相的浓度, ρ 为土壤介质的密度, θ 为土壤颗粒内孔隙率, D_p 为污染物在土壤颗粒内孔隙液相的扩散系数, t 为时间, r 为沿土壤颗粒半径方向的极距, K_d 为有机污染物的土壤/水吸附分配系数, K_1 为速率常数。

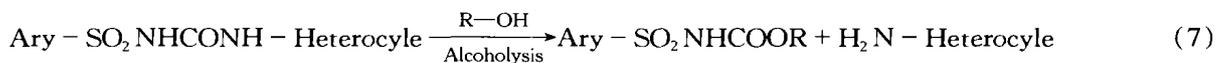
2 磺酰脲除草剂的降解途径

2.1 磺酰脲除草剂的光解作用

磺酰脲除草剂的光解主要指水溶性光分解作用。John Harvey Jr.^[15] 在有石英盖的密闭容器内进行磺酰脲除草剂的光解试验, 用容器盖下的灯泡提供光照, 14d 后用二氯甲烷提取分析发现, 光照处理的溶液中仅有 10%~20% 放射性除草剂被提取, 除草剂的降解半衰期为 1~3d, 而未光照处理的溶液约有 91% 可被提取, 说明除草剂能够快速光解。程慕如等^[1] 研究 3 种磺酰脲除草剂放置 20d 对稗草的抑制率表明, 室外光照和黑暗条件下氯嘧磺隆的抑制率分别为 70.2% 和 74.1%, 吡嘧磺隆的为 50.9% 和 57.5%, 氯磺隆的为 56% 和 69.5%, 表明 3 种除草剂水溶液均发生了光解作用, 即对稗草的抑制作用下降, 置于室外阳光下明显高于黑暗条件下的药液除草活性。磺酰脲除草剂的光分解主要发生在土壤表层, 而在较深土层中几乎不发生。

2.2 磺酰脲除草剂的醇解反应

磺酰脲除草剂的醇解反应主要指断裂脲分子形成相应的磺酰氨基甲酸酯和杂环胺, 醇解反应符合一级动力学方程, 速率受其结构及醇种类的影响。研究发现不同种类的磺酰脲除草剂醇解顺序为豆磺隆 > 绿磺隆(或苄嘧磺隆) > 甲磺隆, 同一除草剂在不同醇中降解顺序为伯醇 > 仲醇 > 叔醇。磺酰脲除草剂发生醇解的同时伴随较弱的水解反应, 如绿磺隆和甲磺隆在无水丙三醇中发生降解时其醇解分别为 90% 和 85%。醇溶液含水量、pH 值对除草剂醇解有重要影响, 绿磺隆溶解在乙醇中若纯水含量为 10%~50%, 则水解反应占优势, 醇解反应较弱; 在醇溶液的 pH 值 7 时, 则醇解反应完全被抑制, 故绿磺隆和豆磺隆在 pH 7 的醇液中仅发生水解反应^[14]。磺酰脲除草剂的醇解反应可表示为:



2.3 磺酰脲除草剂化学水解

化学水解是除草剂降解的主要途径, 指磺酰脲键桥断裂生成相应的磺胺及杂环型的胺类化合物, 且不同除草剂的化学水解路径不同。Schneiders G.E. 等研究认为 Rimusulfuron 水解是磺酰脲键桥缩短, 而噻吩磺隆水解则是断裂磺酰脲键桥和在三嗪环甲氧基功能团上发生脱甲基反应^[5, 22]。磺酰脲除草剂化学水解与土壤温度、pH 和土壤含水量密切相关。Oppong F.K. 等研究表明, 30℃ 时醚苯磺隆降解半衰期为 11~13d,

10℃时为 30~79d,30℃时降解速率高于 10℃时降解速率;田间持水量分别为 25%和 75%时醚苯磺隆的降解速率分别为 87.5%和 97.5%,表明随土壤湿度增加而除草剂降解速率变大,但湿度比温度对降解速率的影响小^[8,18]。Ilaria Braschi 等研究则发现,在 pH 2~9 范围内醚苯磺隆的水解符合假一级反应方程,pH 为酸性时水解快,pH 为中性或碱性时水解则较慢^[11]。

2.4 磺酰脲除草剂微生物分解作用

降解磺酰脲除草剂的微生物主要有细菌、放线菌和真菌,研究表明壤质土壤未灭菌时噻磺隆降解 50%除草剂需 1d,经过灭菌的土壤降解 50%除草剂则需 50~70d。对同一磺酰脲除草剂而言,微生物降解和化学水解的产物不同,微生物作用于噻磺隆生成不具除草剂活性的噻磺隆酸,而化学水解的产物为 2-羧酸甲酯噻吩磺胺和 2-氨基甲氧基-6-甲基三嗪^[9]。Kerry Kulowski 等研究发现利用灰色链状真菌降解 prosulfuron 时作用于三嗪环水解甲基生成苄基醇,作用于芳香碳环 3'和 4'碳时生成酚和邻苯二酚,作用于丙基三氟化物侧链时生成另 1 种苄基醇,微生物降解磺酰脲除草剂的实质为脂肪族和芳香族 1 次水解和 2 次水解,断裂异恶唑的 N—C 键及脱掉异恶唑环形成氯苯醇^[17]。目前人们已从土壤中提取出 7 种可降解噻磺隆的微生物,其中 5 种为放线菌属,2 种为细菌属,营养液培养时有 6 种微生物能专一降解噻磺隆为噻磺隆酸^[9]。

3 土壤中磺酰脲除草剂的测定方法

测定土壤中磺酰脲残留目前主要有高效液相色谱光导检测器或高效液相色谱紫外探测器、气相色谱电子捕获探测器、酶连免疫法和生物测定法。高效液相色谱和气相色谱提纯样品需要繁琐程序以保证达到样品检测极限 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$,生物测定法灵敏度高但专一性差,酶连免疫吸附法快速、灵敏,正逐步替代其他测定方法。气相色谱法测定(GC),由于色谱柱中固定相吸附、绿磺隆的热不稳定性及其他因素的影响^[10],直接应用气相色谱法分析磺酰脲除草剂的残留较困难,通常采用一些修正措施弥补测定的不足,如提高磺酰脲类的疏水性、增加热稳定性及提高与气相色谱检测器的反应等。最常用的化学反应为衍生化反应,如五氟苯化作用、碱基化作用、氟酰化与碱基化共同作用等。常用方法为重氮甲烷碱化绿磺隆,简单易行,甲基化多发生在绿磺隆分子的磺胺氮上,反应产物为 2 种,再利用 GC/MS 测定单甲基和双甲基磺酰脲衍生物。Ijaz Ahmad 利用气相色谱热离子检测器、气相色谱火焰离子检测器、气相色谱质谱测定单甲基绿磺隆衍生物,检测量可达 0.01 μg ,利用气相色谱-电子捕获检测器进行测定,在信噪比 3 时单甲基绿磺隆衍生物的检测量为 0.00005 μg ^[10]。但该方法不适用于对极性或热不稳定性除草剂及其代谢物的测定。高效液相色谱测定(HPLC),为提高检测精度,Edward W. Zahnow 改用高效液相色谱光导检测器进行测定,其原理是紫外光照射下在流动相中将不带电样品分解为带电离子,测定离子电导;样品各组分经色谱柱分离后随流动相进入光导检测器,流动相液体等分为具有同等流速两部分,分别通过等直径与等长度分析槽进入电导池时两部分样品略有差异,待分析样品被紫外光照射,而参比液体不被紫外光照射;分别测定每一流动部分的电导,仪器记录样品电导与参比电导作为检测信号;光导检测器可有选择地测定化合物中的 S、Cl、N、P 等原子,其灵敏度为其他检测器的 50 倍,其检测极限可达 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[6,7,21]。Powley C. R. 应用高效液相色谱与普通紫外检测器分析了土壤中 9 种磺酰脲除草剂的残留,分析时对待测样品进行 2 次纯化,先让待测样品通过 C₁₈ 柱后再用硅胶固相提取纯化,取得良好检测结果^[20]。但该方法不适用大批量样品的常规筛选且测定成本较高。酶连免疫吸附法测定(ELISA),分为直接竞争法和间接竞争法,其测定原理是动物对外界刺激物能产生特定抗体,从兔血清中提取出抗体作为固定相反应物。Sharp J. K 采用酶连免疫吸附法测定绿磺隆的残留,用重氮化衍生物以共价键与蛋白质结合作为免疫原,该方法检测灵敏度为 0.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,随着技术成熟该检测极限可达到 0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Jean Marc A. 采用 2 种半抗原与蛋白质结合进行免疫研究,半抗原 A 是三嗪环上的 1 个甲氧基为氨烷基团取代,半抗原 B 为氯乙氧基磺胺上连有琥珀酸基团。用半抗原 A 与锁孔形蓝蛋白融溶作为免疫原,利用酶连免疫吸附法测定可得 22 种结合在固相抗原相上的反应物,用半抗原 B 重复以上研究可得 86 种结合反应物,2 种半抗原产生的单克隆抗体为 I_gG1。利用酶连免疫吸附法测定醚苯磺隆达 I₅₀ 时检测极限为 0.05~0.09 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[13]。生物测定可定性或定量分析土壤中磺酰脲除草剂的残留,费用小,精度高,常用指示生物有玉米、大豆、水稻、高粱、紫花苜蓿、芜菁、油菜等。袁树忠采用添加培养法测定绿磺隆对玉米的生物活性,以抑制玉米生长 10% 作为受害阈限(IC₁₀),玉米根、茎叶鲜物质量的受害阈值分别为 0.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.37 $\mu\text{g}/\text{kg}$,而干物质量受害阈值则分别为 0.37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 7.31 $\mu\text{g}/\text{kg}$,玉米根系对绿磺隆的敏感性明显高于茎叶,且根系鲜物质量优于干物质量指示。不同作物对绿磺隆残留指示也不相同,大豆和油菜的敏感性略低于

玉米,而水稻的耐药力最高,不同品种水稻敏感性表现为糯稻>粳稻>汕稻^[4]。施恒桃用玉米测定胺苯磺隆的残留结果表明,根系鲜物质质量抑制率与胺苯磺隆的关系为 $y = 4.3961 + 0.7994x$ ($r = 0.9648^{**}$), $IC_{10} = 0.14\mu\text{g}/\text{kg}$,利用根系对磺酰脲除草剂的高度敏感性可在建立标准曲线基础上进行土壤磺酰脲除草剂残留的生物测定^[3]。

参 考 文 献

- 1 程慕如,孙致远. 三种磺酰脲除草剂的光解和水解作用. 植物保护学报,2000 (27):93~94
- 2 刘 凌,崔广柏. 土地生物处理有机污染物过程模拟研究. 环境科学学报,2001 (21):18~23
- 3 施恒桃,刘曙照,袁树忠等. 玉米对胺苯磺隆的敏感性及其在土壤残留量测定中的应用. 江苏农业研究,2000 (21):77~78
- 4 袁树忠,刘曙照,李国生等. 几种农作物对绿磺隆敏感性的生物测定及在残留检测中的应用. 江苏农业研究,2000 (21):62~66
- 5 Cambon J. P., Bastide J. Hydrolysis kinetics of thifensulfuron methyl in aqueous buffer solutions. Agric. Food Chem., 1996, 44:333~337
- 6 Edward W. Zahnow. Analysis of the herbicide chlorsulfuron in soil by liquid chromatography. Agric. Food Chem., 1985, 30:854~857
- 7 Edward W. Zahnow. Analysis of the herbicide sulfometuron methyl in soil and water by liquid chromatograph. Agric. Food Chem., 1985, 33:479~483
- 8 Fuesler T. P., Hanafey M. K. Effect of moisture on chlorimuron degradation in soil. Weed Sci., 1990, 38:256~261
- 9 Hugh M. Brown, Madan M. Joshi, Ailien T. Van, *et al.* Degradation of thifensulfuron methyl in soil: role of microbial carboxyesterase activity. Agric. Food Chem., 1997 (45):955~961
- 10 Ijaz Ahmad, George Crawford. Trace residues analysis of the herbicide chlorsulfuron in soil by gas chromatograph-electron capture detection. Agric. Food Chem., 1990, 38:138~141
- 11 Ilaria Braschi, Luca Calamai, Mauro Andrea Cremonini, *et al.* Kinetics and hydrolysis mechanism of triasulfuron. Agric. Food Chem., 1997, 45:4495~4499
- 12 Walter Brunner, Dennis D. Focht. Deterministic three-Half-Order Kinetic model for microbial degradation of added carbon substrates in soil. Appl. Environ. Microbiol., 1987, 47:167~172
- 13 Jean Marc A. Schlaeppli, Willy Meyer, Klaus A. Ramasteiner. Determination of triasulfuron in soil by monoclonal antibody-based enzyme immunoassay. Agric. Food Chem., 1992, 40:1093~1098
- 14 Jean Sabadie. Behavior of four sulfonylurea herbicides in the presence of hydroxy compounds. Agric. Food Chem., 2000, 48:4752~4756
- 15 John Harvey Jr., Joseph J. Dulka, Jeffrey J. Anderson. Properties of sulfometuron methyl affecting its environmental fate: aqueous hydrolysis and photolysis, mobility and adsorption on soils and bilaccumulation potential. 1985
- 16 Kate M. Scow, Stephen Simkins, Martin Alexander. Kinetics of mineralization of organic compounds at low concentrations in soil. Appl. Environ. Microbiol., 1986, 51:1028~1035
- 17 Kerry Kulowski, Eric L. Zirbes, Bruce M. Thede, *et al.* Microbial transformations of prosulfuron. Agric. Food Chem., 1997, 45:1479
- 18 Oppong F. K., Sagar G. R. The activity and mobility of triasulfuron in soils as influenced by organic matter, duration, amount and frequency of rain. Weed Research, 1992, 32:157~165
- 19 Paris D. F., Steen W. C., Baughman G. L., Barnett J. T. Jr. Second-order model to predict microbial degradation of organic compounds in natural water. Appl. Environ. Microbiol., 1981, 41:603~609
- 20 Powley C. R., De Bernard P. A. Screening method for nine sulfonylurea herbicides in soil and water by liquid chromatography with ultraviolet detection. Agric. Food Chem., 1998, 46:514~519
- 21 Rober V. Slaters. Determination of bensulfuron methyl residues in rice grain and straw by high-performance liquid chromatography. Agric. Food Chem., 1988, 36:1207~1211
- 22 Schneiders G. E., Koeppe M. K., Naidu M. V., *et al.* Fate of rimsulfuron in the environment. Agric. Food Chem., 1993, 41:2404~2410