

咪鲜安及其主要代谢物的紫外光谱吸收特性和对蝌蚪急性毒性的研究

龚道新^{1,2}, 樊德方¹, 杨仁斌², 周作明²

(1. 浙江大学农药生态毒理研究所, 浙江 杭州 310029; 2. 湖南农业大学农业环境保护研究所, 湖南 长沙 410128)

摘要:通过紫外光谱扫描,测定了咪鲜安(BTS 40542)母体及其主要代谢物的紫外吸收光谱;在此基础上,采用静态实验法,研究了咪鲜安(BTS 40542)母体及其主要代谢物对蝌蚪的急性毒性。结果表明:咪鲜安母体的紫外吸收峰的波长为 204 nm 和 270 nm,咪鲜安的主要代谢物 BTS 44595、BTS 44596、BTS 45186 的紫外吸收峰均只有一个,其波长分别为 208 nm、206 nm 和 216 nm;咪鲜安(BTS 40542)及咪鲜安的主要代谢物:BTS 44595、BTS 44596 和 BTS 45186 对蝌蚪的 96 h LC₅₀ 分别为:2.84 mg · L⁻¹、2.68 mg · L⁻¹、5.52 mg · L⁻¹、6.22 mg · L⁻¹ 和 0.70 mg · L⁻¹,它们对蝌蚪的急性毒性大小顺序为: BTS 45186> BTS 40542> BTS 44595> BTS 44596;随着咪鲜安母体的降解代谢,咪鲜安母体及其主要代谢物的急性毒性与紫外吸收峰的波长都发生了明显的变化,表明二者之间存在一定的相关性;在评价咪鲜安的生态环境效应时,不仅应考虑咪鲜安母体的残留与毒性,还应重视咪鲜安主要代谢物的残留与毒性。

关键词: 咪鲜安; 代谢物; 紫外吸收光谱; 急性毒性; 蝌蚪

中图分类号:O657.32, S481.8 文献标识码:A 文章编号:1672-2043(2003)06-0749-05

Characters and Toxicity Towards Tadpole of Ultraviolet Spectrums of Fungicide Prochloraz and Its Major Metabolites

GONG Dao-xin^{1,2}, FAN De-fang¹, YANG Ren-bin², ZHOU Zuo-min²

(1. Institute of Pesticide Ecotoxicology, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029, China; 2. Agro-Environmental Protection Institute, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410218, China)

Abstract: The ultraviolet absorbing spectrums of fungicide prochloraz (BTS 40542) and its major metabolites (BTS 44595, BTS 44596 and BTS 45186) were experimentally determined by ultraviolet spectrums' scanning in the test. Two ultraviolet absorbing peaks for BTS 40542 were tracked at the wavelengths of 204 nm and 270 nm, respectively. For BTS 44595, BTS 44596 and BTS 45186, only one ultraviolet absorbing peak was found at 208 nm, 206 nm and 216 nm, respectively. The acute toxicity of BTS 40542 and its major metabolites to tadpoles was also evaluated. 96-hour LC₅₀ values for BTS 40542 and BTS 44595, BTS 44596 and BTS 45186 to tadpoles were measured to be 2.84 mg · L⁻¹, 5.52 mg · L⁻¹, 6.62 mg · L⁻¹ and 0.70 mg · L⁻¹, respectively, indicating that the toxicity of BTS 40542 and its major metabolites was to be: BTS 45186> BTS 40542> BTS 44595> BTS 44596. Results from this test indicated that there is a strong relationship between the toxicity of those compounds to tadpoles and the ultraviolet absorbing peak with the degradation of BTS 40542. This has consequence for the environmental risk assessment associated with fungicide BTS 40542 and its major metabolites.

Keywords: prochloraz; metabolites; ultraviolet absorbing spectrums; toxicity; tadpole

咪鲜安(prochloraz)是英国 Boots 公司于 1974 年首先合成的一种高效广谱的咪唑类杀菌剂,现已广泛应用于水果保鲜和水稻、柑桔等多种农林作物病害的

防治。我国于 20 世纪 90 年代开始引进和使用咪鲜安及其产品,目前咪鲜安及其产品已在我国的农林业生产和水果、蔬菜等农林产品的保鲜业广泛使用^[1-5],因此十分有必要全面正确的监测和评价咪鲜安及其主要代谢物对我国农业生态环境的影响。综观有关咪鲜安及其主要代谢物的国内外研究发现,当前研究主要集中在咪鲜安的杀菌效果、杀菌机理、残留降解行

收稿日期: 2002-12-16

基金项目: 本研究为与德国艾格福(AgrEvo)公司协作项目的一部分

作者简介: 龚道新(1964—),男,湖南农业大学农业环境保护研究所副所长,环境科学系主任,副教授,浙江大学在职博士研究生。

E-mail: gongdaoxin@etang.com

为及毒性等方面,而对咪鲜安代谢物的理化特性和毒性则相对研究较少^[6,7]。然而,对咪鲜安及其主要代谢物的结构进行分析后发现,它们的分子中均含有 2, 4, 6—三氯苯酚,而后者已被许多国家确定为环境中的优先污染物^[7]。所以,研究咪鲜安和咪鲜安的光谱特性和毒性具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用水:曝气井水(曝气 24 h 以上),水中不含有咪鲜安及其主要代谢物,水温保持在 $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间, pH 6.5 ~ 7.5, DO 大于 $4.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

试验用蝌蚪:蟾蜍蝌蚪,体长 $(1.5 \pm 0.2)\text{ cm}$, 大小一致,健康,同批次;从湖南农业大学试验农场生态池中捕获,在试验用水中驯养 5 d,驯养期间每天投饵一次,死亡率小于 2%。

1.2 药品试剂

咪鲜安母体(纯度 99.0%),咪鲜安的主要代谢物: BTS 44595(纯度: 99.3%)、BTS 44596(纯度 98.0%) 和 BTS 45186(纯度 99.6%),均由德国艾格福公司(AgrEvo)提供,用前配成 $1\text{ }000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的丙酮溶液,保存在 $0\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,用时稀释至相应浓度。甲醇(光谱纯,浙江临海浙东特种试剂厂生产),丙酮(分析纯,湖南师范大学化学试剂厂生产)。

1.3 试验方法

1.3.1 咪鲜安及其主要代谢物的紫外吸收光谱特性研究方法

准确称取咪鲜安及其主要代谢物: BTS 44595、BTS 44596 和 BTS 45186,用甲醇(光谱纯)溶解,采用分步稀释法配制浓度为 $2.0 \sim 4.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的咪鲜安、BTS 44595、BTS 44596 和 BTS 44186 的甲醇溶液,同时以甲醇作参比液,于 755B 型紫外分光光度计上进行紫外扫描(波长范围为 $200 \sim 320\text{ nm}$),分别测定其吸光度(A),并以吸光度(A)与紫外光线的波长(λ , m)作图,找出咪鲜安及其主要代谢物的紫外吸收峰的波长。

1.3.2 咪鲜安及其主要代谢物对蝌蚪的急性毒性试验

试验采用静态试验法,按《水污染鱼类毒性试验方法》进行^[10]。试验在 $30\text{ cm} \times 25\text{ cm} \times 25\text{ cm}$ 的玻璃缸中进行(每缸盛水 8.0 L),试验期间不喂食。

预试验:设置咪鲜安和咪鲜安的主要代谢物: BTS 44595、BTS 44596 和 BTS 45186 的浓度分别为 0.1、

0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 8 个浓度组,每一浓度组放养 10 只蝌蚪,观察 24 h,找出蝌蚪的最低全致死浓度和最高全存活浓度。

正式试验:根据预试验结果,设置适当的浓度系列:咪鲜安的浓度分别是 0、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,咪鲜安的代谢物: BTS 44595 和 BTS 44596 的浓度分别是 0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, BTS 45186 的浓度分别是 0、0.3、0.5、0.7、1.0、2.0、3.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每一浓度处理放养 20 只蝌蚪,每个处理重复 3 次。试验最初连续观察 8 h,而后定时(24、48、72、96 h)观察蝌蚪的中毒症状,记录其死亡率,试验期间及时打捞出死亡个体。试验结束后,分别以供试蝌蚪的死亡率的概率值作因变量(y),咪鲜安和咪鲜安主要代谢物的试验浓度的对数值作为自变量(x),用回归法求出咪鲜安和咪鲜安主要代谢物的 LC_{50} 、95% 可信限、直线回归方程式及相关系数。

2 结果与分析

2.1 咪鲜安及其主要代谢物的紫外吸收光谱特性

图 1、2、3、4 分别画出了咪鲜安及其主要代谢物(浓度在 $2.0 \sim 4.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间)在 $200 \sim 320\text{ nm}$ 的紫外吸收光谱图。

结果表明:咪鲜安的紫外吸收峰有 2 个,波长分别为 204 nm 和 270 nm; BTS 44595、BTS 44596 和 BTS 45186 的紫外吸收峰均只有一个,分别为 208 nm、206 nm 和 216 nm。

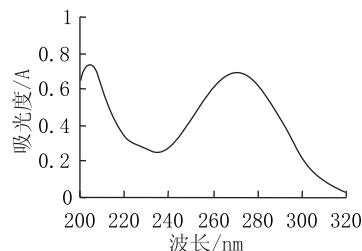


图 1 咪鲜安的紫外吸收光谱图

Figure 1 The ultraviolet absorbing spectrums of BTS40542

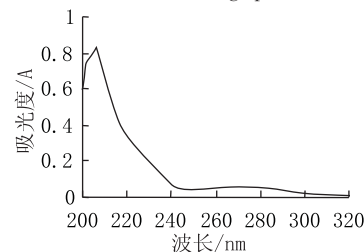


图 2 BTS44-595 的紫外吸收光谱图

Figure 2 The ultraviolet absorbing spectrums of BTS44595

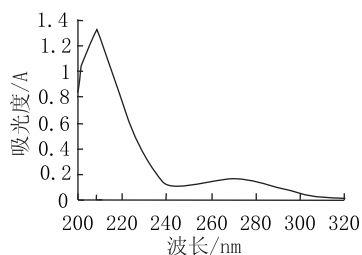


图 3 BTS44596 的紫外吸收光谱图

Figure 3 The ultraviolet absorbing spectrums of BTS44596

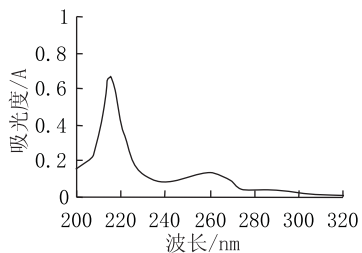


图 4 BTS45186 的紫外吸收光谱图

Figure 4 The ultraviolet absorbing spectrums of BTS45186

据报道,咪鲜安在环境和植物体中的代谢途径和降解过程如图 5^[7]。从图 5 可以看出,随着咪鲜安的代谢和降解,咪鲜安分子中的咪唑环即逐渐打开,于是便形成了 BTS 44595 和 BTS 44596,随后 BTS 44595 和 BTS 44596 又可慢慢代谢和降解成 BTS 45186。在这一过程中,咪鲜安的紫外吸收峰的波长发生了明显的改变:一是波长为 270 nm 的吸收峰会随着咪鲜安分子中的咪唑环的打开而消失;二是波长为 204 nm 的吸收峰会随着咪鲜安的代谢和降解而发生红移现象,即其吸收峰的波长会向长波长方向移动。

2.2 咪鲜安及其主要代谢物对蝌蚪的急性毒性

表 1、表 2、表 3 和表 4 分别列出了咪鲜安及其主要代谢物: BTS 44595、BTS 44596 和 BTS 45186 对蝌蚪的急性毒性试验结果。

从表 1、表 2、表 3 和表 4 可见:

(1) 咪鲜安对蝌蚪的急性毒性为中等毒性,其 96 h LC_{50} 为: $2.84 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

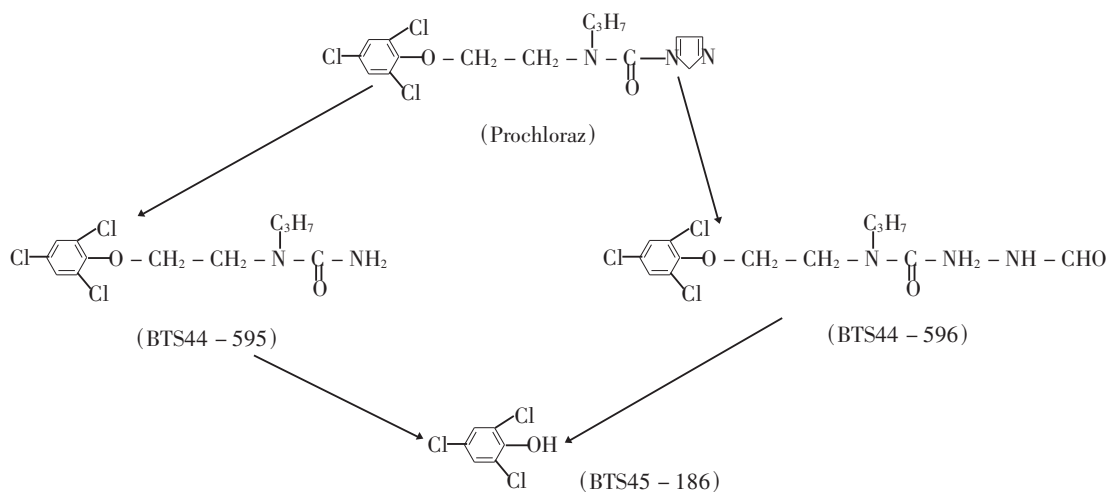


图 5 咪鲜安在环境和植物体中的代谢途径和降解过程

Figure 5 Metabolism of prochloraz in plants and environment

表 1 咪鲜安对蝌蚪的急性毒性试验结果

Table 1 The results of acute toxicity of prochloraz to tadpoles

实验时间	咪鲜安浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$							LC_{50} / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	95% 可信限 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	直线回归方程式 $y = ax + b$	相关系数 r
	CK(0)	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	5.0				
24 h	0	0	8.3	26.7	61.7	76.7	100	3.37	3.15 - 3.60	$y = 10.705x - 0.6545$	0.9952
48 h	0	0	20.0	36.7	71.7	85.0	100	3.12	2.90 - 3.36	$y = 9.5910x + 0.2609$	0.9892
72 h	0	0	28.3	40.0	78.3	90.0	100	2.97	2.76 - 3.20	$y = 9.6195x + 0.4485$	0.9734
96 h	0	0	35.0	46.7	83.3	96.7	100	2.84	2.66 - 3.03	$y = 11.1680x - 0.059$	0.9657

注:咪鲜安浓度一栏为 3 次平行试验蝌蚪的死亡率的平均值; y 为供试蝌蚪的死亡率的概率值, x 值为咪鲜安浓度的对数值。

(2) 当咪鲜安代谢为 BTS 44595 和 BTS 44596 时,对蝌蚪的急性毒性下降了一倍多, BTS 44595 和 BTS 44596 对蝌蚪的 96 h LC_{50} 分别为: $5.52 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和

$6.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 而且 BTS44595 的毒性大于 BTS 44596。

(3) BTS 44595 和 BTS 44596 转化为 BTS

表 2 BTS 44595 对蝌蚪的急性毒性试验结果

Table 2 The results of acute toxicity of BTS 44595 to tadpoles

试验时间	BTS 44595 浓度 /mg · L ⁻¹								LC ₅₀ /mg · L ⁻¹	95% 可信限 /mg · L ⁻¹	直线回归方程式 $y = ax + b$	相关系数 r
	CK(0)	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0				
24 h	0	0	0	11.7	23.3	43.3	75.0	100	7.01	6.47 - 7.59	$y = 8.9306x - 2.5545$	0.9782
48 h	0	0	0	23.3	33.3	53.3	85.0	100	6.42	5.90 - 6.99	$y = 8.3650x - 1.7554$	0.9497
72 h	0	0	3.3	35.0	41.7	71.7	93.3	100	5.92	5.56 - 6.30	$y = 10.172x - 2.8586$	0.9777
96 h	0	0	6.7	38.3	53.3	81.7	98.3	100	5.52	5.21 - 5.84	$y = 11.129x - 3.2571$	0.9789

注: BTS 44595 浓度一栏为 3 次平行试验蝌蚪的死亡率的平均值; y 为供试蝌蚪的死亡率的概率值, x 值为 BTS 44595 浓度的对数值。

表 3 BTS 44596 对蝌蚪的急性毒性试验结果

Table 3 The results of acute toxicity of BTS 44596 to tadpoles

试验时间	BTS 44596 浓度 /mg · L ⁻¹								LC ₅₀ /mg · L ⁻¹	95% 可信限 /mg · L ⁻¹	直线回归方程式 $y = ax + b$	相关系数 r
	CK(0)	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0				
24 h	0	0	0	18.3	33.3	55.0	91.7	100	7.36	6.95 - 7.79	$y = 12.448x - 5.7875$	0.9546
48 h	0	0	0	26.7	43.3	68.3	96.7	100	6.95	6.59 - 7.33	$y = 13.441x - 6.3144$	0.9512
72 h	0	0	6.7	38.7	53.3	83.3	100	100	6.64	6.25 - 7.08	$y = 11.460x - 4.4249$	0.9858
96 h	0	0	16.7	45.0	63.3	90.0	100	100	6.22	5.81 - 6.67	$y = 10.545x - 3.3703$	0.9886

注: BTS 44596 浓度一栏为 3 次平行试验蝌蚪的死亡率的平均值; y 为供试蝌蚪的死亡率的概率值, x 值为 BTS 44596 浓度的对数值。

表 4 BTS 45186 对蝌蚪的急性毒性试验结果

Table 4 The results of acute toxicity of BTS 45186 to tadpoles

试验时间	BTS 45186 浓度 /mg · L ⁻¹							LC ₅₀ /mg · L ⁻¹	95% 可信限 /mg · L ⁻¹	直线回归方程式 $y = ax + b$	相关系数 r
	CK(0)	0.3	0.5	0.7	1.0	2.0	3.0				
24 h	0	0	0	15.0	38.3	78.3	100	1.25	1.01 - 1.54	$y = 3.9342x + 4.6246$	0.9972
48 h	0	0	0	31.7	56.7	95.0	100	0.90	0.75 - 1.07	$y = 4.6867x + 5.2176$	0.9992
72 h	0	0	6.7	41.7	68.3	100	100	0.81	0.71 - 0.92	$y = 6.5387x + 5.5830$	0.9817
96 h	0	0	25.0	53.3	73.3	100	100	0.70	0.58 - 0.85	$y = 4.2987x + 5.6633$	0.9935

注: BTS 45186 浓度一栏为 3 次平行试验蝌蚪的死亡率的平均值; y 为供试蝌蚪的死亡率的概率值, x 值为 BTS 45186 浓度的对数值。

45186 后, 后者的毒性急剧上升, 上升了约 10 倍, BTS 45186 对蝌蚪的 96 h LC₅₀ 仅为 0.70 mg · L⁻¹。

3 讨论与结论

3.1 讨论

3.1.1 关于咪鲜安的生态环境效应与毒性问题

众多研究表明, 咪鲜安在环境介质和生物体内可代谢转化为 BTS 44595 和 BTS 44596 等初级代谢物, 之后初级代谢物又可进一步转化为 BTS 45186 等次级代谢物^[7]。本试验发现咪鲜安对蝌蚪的急性毒性比其初级代谢物 BTS 44595 和 BTS 44596 对蝌蚪的急性毒性高出一倍多, 这说明咪鲜安代谢转化成 BTS 44595 和 BTS 44596 的过程为解毒过程。但是, 当 BTS 44595 和 BTS 44596 进一步代谢转化为次级代谢物 BTS 45186 后, BTS 45186 对蝌蚪的急性毒性则急剧上升, 上升了约 10 倍, 表现为显著的增毒作用, 即 BTS 44595 和 BTS 44596 代谢转化为 BTS 45186 的过程属于增毒过程。因此, 笔者认为在评价农药等化学

品的生态环境效应和毒性时, 不仅应注意其母体的生态环境效应和毒性, 而且还应特别重视其代谢物的生态环境效应与毒性, 否则所获得的评价结论很可能是不全面的, 甚至可能是完全错误的, 对此应引起高度重视。

3.1.2 关于咪鲜安及其代谢物毒性的影响因素和毒性作用机理

本试验测得的咪鲜安及其主要代谢物对蝌蚪的 LC₅₀ 值, 只能从一个侧面反映咪鲜安及其主要代谢物在农田生态环境的效应和毒性, 而难以全面准确地反映出咪鲜安的实际生态环境效应和毒性, 因为 LC₅₀ 值的大小仅仅是评价农药生态环境安全性的一个因素, 而农药的实际用量、使用剂型和农药在农田生态环境中的行为, 以及当时的环境条件状况等都会影响农药对农田生态环境的安全性。因此, 完全有必要对咪鲜安及其主要代谢物的生态环境行为、效应和毒性开展全面深入的研究。至于咪鲜安及其主要代谢物的毒性作用机理尚有许多没有研究清楚, 尤其是咪鲜安

及其主要代谢物的物理化学特性与它们的行为、效应和毒性等之间的内在联系还有许多是未知的,虽然在本试验研究中初步探讨了咪鲜安及其主要代谢物的紫外吸收光谱特性,并与咪鲜安的代谢降解过程结合进行了一些探讨,但这还很不深入,还有许多方面尚需从分子的组成、结构及其特性等诸多角度,来研究咪鲜安及其主要代谢物的生态环境行为、效应与毒性。

3.2 结论

(1) 咪鲜安的紫外吸收峰有 2 个,其波长分别为 204 nm 和 270 nm;咪鲜安的主要代谢物 BTS 44595、BTS 44596 和 BTS 45186 的紫外吸收峰均只有一个,其对应的波长分别为 208 nm、206 nm 和 216 nm。这表明随着咪鲜安的代谢降解,其紫外吸收光谱的波长发生了明显的变化:一是波长为 270 nm 的吸收峰会随着咪鲜安分子中咪唑环的打开而消失;二是波长为 204 nm 的吸收峰会随着咪鲜安的代谢降解而发生红移现象。

(2) 咪鲜安母体及其主要代谢物 BTS44595、BTS 44596 和 BTS 45186 对蝌蚪的 96 h LC_{50} 分别为: 2.84 $mg \cdot L^{-1}$ 、5.52 $mg \cdot L^{-1}$ 、6.22 $mg \cdot L^{-1}$ 和 0.70 $mg \cdot L^{-1}$ 。它们对蝌蚪的急性毒性大小顺序为: BTS 45186> 咪鲜安> BTS 44595> BTS 44596。

(3) 咪鲜安代谢转化为初级代谢物 BTS 44595 和 BTS 44596 的过程表现为明显的解毒作用,而咪鲜安的初级代谢物 BTS 44595 和 BTS 44596 代谢降解为次级代谢物 BTS 45186 的过程则表现极显著的增毒作用。因此,在评价咪鲜安的生态环境效应和毒性时,不

仅应考虑咪鲜安母体的生态环境效应与毒性,而且还应重视咪鲜安代谢物的生态环境效应与毒性。

(4) 随着咪鲜安代谢降解过程的进行,咪鲜安及其主要代谢物的紫外吸收峰的波长和对蝌蚪的急性毒性都发生了深刻的变化。这表明二者之间存在着一定的内在联系,至于它们之间的相关性尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] 陈道茂译. 杀虫剂扑霉灵(咪鲜安)[J]. 农药译丛,1995,13(3): 62-65.
- [2] 陈 青,等. 柑桔贮藏保鲜试验研究结果[J]. 农药,1997,36(11): 48-49.
- [3] 彭人双. 施保克防治水稻恶苗病研究[J]. 吉林农业大学学报, 1995,17(4):49-52.
- [4] 丁晓青,余晓秋. 施保克防治西瓜和香瓜炭疽病试验[J]. 现代化农业,1998,(10):7-8.
- [5] 马 兰,高 虹. 平菇菌丝及其霉菌对施保功敏感性的研究[J]. 现代化农业,1998,(6):4-5.
- [6] 李兴红,张桃芝. 柑桔上施保克及其降解产物的 GC 快速检测[J]. 华中师范大学学报(自然科学版),2001,35(4):438-440.
- [7] 彭晓春,杨仁斌,郭正元,等. 咪鲜安的残留毒理研究现状[J]. 世界农药(原《农药译丛》),2000,22(2):52-55.
- [8] 彭晓春,杨仁斌,郭正元,等. Sportak 对湘云鲫肝脏 SOD 酶、CAT 酶活性的影响及其机制研究[J]. 农业环境保护,2002,21(2): 126-129.
- [9] Goto H. Residues of prochloraz in rice following seed soak or foliar application with a 25% E. C. formulation in Japan[M]. Inst Environ Toxicot, Japan. 1980.
- [10] 邱郁春. 水污染鱼类毒性实验方法[M]. 北京:中国环境科学出版社,1992. 517-539.