

乙草胺在土壤环境中的降解及其影响因子的研究

朱九生, 乔雄梧, 王 静, 秦 曙

(山西省农科院植物保护研究所, 山西省农药重点实验室, 山西 太原 030031)

摘 要: 采用实验室模拟方法研究了乙草胺在不同土壤中的降解动态。结果表明, 在未灭菌的土壤中, 乙草胺 3 种添加浓度 (1.25、2.5 和 5.0 mg · kg⁻¹) 处理的半衰期为 2.8 ~ 5.1 d, 远远小于在灭菌土壤中 3 种添加浓度处理的半衰期 (20.0 ~ 25.1 d); 乙草胺在偏碱的华北褐土中降解较快, 2.5 mg · kg⁻¹ 处理的半衰期为 4.2 d, 而在偏酸的东北黑土和湖南红土中降解较慢, 半衰期为 6.5 ~ 10.7 d; 土壤相对含水量由 13% 增至 27%, 乙草胺降解半衰期由 7.3 d 缩短至 3.0 d; 随着环境温度增高 (20 ℃ 上升至 30 ℃), 乙草胺降解速度加快 (半衰期由 5.7 d 缩短至 3.3 d); 乙草胺在黑暗条件下降解半衰期为 3.8 d, 而在光照条件下的半衰期为 5.2 ~ 6.5 d。可见, 5 种试验因子对土壤中乙草胺的降解均有不同程度的影响。其中土壤微生物是影响乙草胺降解的主要因素, 有利于土壤中微生物生长的环境因素, 如偏碱的土壤、较高的环境温度和土壤湿度等, 对土壤中乙草胺的降解有促进作用。

关键词: 乙草胺; 微生物降解; 土壤; 环境因子

中图分类号: S482.46 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672 – 2043(2004)05 – 1025 – 05

Degradation and the Influencing Factors of Acetochlor in Soils

ZHU Jiu-sheng, QIAO Xiong-wu, WANG Jing, QIN Shu

(Shanxi Key Laboratory of Pesticide Science; Institute of Plant Protection, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China)

Abstract: The degradation of acetochlor in soils from different climatic zone of China was studied in laboratory. The results showed that half – life of acetochlor was 2.8 ~ 5.1 d in non – sterilized soil and 20.0 ~ 25.1 d in sterilized soil, when the soil was treated with acetochlor of 1.25 mg · kg⁻¹, 2.5 mg · kg⁻¹ and 5.0 mg · kg⁻¹, respectively. Acetochlor depletion was faster in alkaline soil such as cinnamon soil from North China, with half – life time of 4.2 d, than that in acid soil such as terra nera soil from Northeast China and terra rossa soil from South China, with half – life time of 6.5 ~ 10.7d. Degradation rate of acetochlor increased with the increase of soil water content and environmental temperature. Light intensity also had some influence on the degradation of acetochlor. Microorganism was a critical factor among all the experimental factors that variedly influenced acetochlor depletion in soils, and could accelerate greatly the degradation in soil. The environmental factors favorable for the growth of microbes could also enhance the degradation of acetochlor.

Keywords: acetochlor; microbial degradation; soil; environmental factors

乙草胺, 英文通用名为 acetochlor, 化学名称为 2 – 氯 – N – (乙氧基甲基) – N – (2 – 乙基 – 6 – 甲基苯基) 乙酰胺, 是一种酰胺类除草剂, 主要用于大豆、花生、玉米、棉花等作物芽前防除一年生禾本科杂草和部分阔叶杂草^[1]。我国从 20 世纪 90 年代初开始引进和生产乙草胺。伴随着化学除草技术的迅猛发展和

除草剂市场扩容, 乙草胺以杀草谱广和价格优势迅速占有市场, 由 1994 年千吨级品种跃升为 1998 年的万吨级品种, 至 2001 年全国已有 22 个省、区、市 156 家企业参与生产, 乙草胺登记产品 299 个厂次, 其中, 原药 7 个厂次, 单剂 54 个厂次, 复配剂 238 个厂次。按我国农药毒性分级标准, 乙草胺属低毒除草剂, 但其原药对大鼠、小鼠有致肿瘤作用^[1], 美国环保局将其定为 B – 2 类致癌物^[2]。

乙草胺的使用方法是土壤处理, 可以认为土壤环境是乙草胺施用后的必然归宿, 土壤环境直接关系到

收稿日期: 2004 – 04 – 12

基金项目: 山西省自然科学基金(20001092)

作者简介: 朱九生(1963—), 男, 山西新绛, 副研究员, 硕士, 主要从事农药残留分析和农药应用技术研究。

乙草胺的降解、代谢、移动、扩散及其对生物影响等环境行为。目前对乙草胺在环境中的降解代谢及其影响因子的研究还相当薄弱, 至今主要进行的研究是乙草胺在植物体内的代谢转化和在水中的光化学降解等^[3~5]。本文应用气相色谱分析技术, 在研究乙草胺在不同环境土壤中的残留动态变化基础上, 阐明了土壤微生物及其环境因子对乙草胺降解的影响, 为进一步评价其在土壤生态环境中的持效性提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤样品分别为山西褐土、东北黑土和湖南红土, 采样深度为 0~20 cm 耕作层土壤, 经自然风干磨细, 过 2 mm 筛备用。土壤理化性质见表 1。

表 1 供试土壤样品的理化特性

Table 1 The chemical and physical characteristics of soil samples			
供试土壤样品	土壤类型	pH	有机质含量/%
华北褐土	壤土	8.3	2.3
东北黑土	粘土	6.1	2.3
华南红土	壤土	5.3	1.4

1.2 供试农药

50% 的乙草胺乳油, 河北省张家口市宣化农药厂产品, 购于农药市场。

1.3 土样处理

1.3.1 土壤微生物

供试土壤为华北褐土, 分灭菌与未灭菌处理两组, 土壤中乙草胺的添加浓度设为 1.25、2.5、5.0 mg·kg⁻¹ 3 档, 土壤相对含水量为 20% (土壤样品在 105℃±2℃ 下烘 8 h, 土壤失水重量占烘干土中的百分数, 下同)。土壤添加农药后, 置于温度 25℃、黑暗培养箱中培养, 并在不同天数后取土壤样品分析测定乙草胺的残留量, 培养土需间隔 2~3 d 加适量水以保持土壤湿度不变。未灭菌的土壤需提前 1 周进行预培养; 灭菌土壤需在 121℃, 1.1 kg·cm⁻² 压力下, 间歇灭菌 3 次, 每次 30 min。灭菌土壤的制备等操作均在无菌室内进行。每个处理重复 3 次。

1.3.2 土壤类型

供试土壤为华北褐土、东北黑土和湖南红土 3 种类型, 均为非灭菌土壤。土壤中乙草胺的添加浓度为 2.5 mg·kg⁻¹, 土壤相对含水量为 20%。土壤制备好后, 置于温度 25℃, 黑暗培养箱中培养, 在加药当天及加药后第 1、3、7、14、21、35、49 d 取土壤样品分析测定乙草胺的残留量, 培养土需间隔 2~3 d 加适量

水以保持土壤湿度不变。

1.3.3 湿度条件

供试土壤为华北褐土(非灭菌土), 土壤中乙草胺的添加浓度为 2.5 mg·kg⁻¹, 土壤相对含水量设为 13%、20%、27% 3 个梯度。土壤添加农药后, 置于温度为 25℃、黑暗培养箱中培养, 在加药当天及加药后第 1、3、7、14、21、35、49 d 取土壤样品分析测定乙草胺的残留量, 培养土需间隔 2~3 d 加适量水以保持土壤湿度不变。

1.3.4 温度条件

供试土壤为华北褐土(非灭菌土), 土壤中乙草胺的添加浓度为 2.5 mg·kg⁻¹, 土壤相对含水量为 20%。土壤添加农药后, 分别置于温度为 20℃、25℃、30℃ 黑暗培养箱中培养, 在加药当天及加药后第 1、3、7、14、21、35、49 d 取土壤样品分析测定乙草胺的残留量, 培养土需间隔 2~3 d 加适量水以保持土壤湿度基本不变。

1.3.5 光照条件

供试土壤为华北褐土(非灭菌土), 土壤中乙草胺的添加浓度为 2.5 mg·kg⁻¹, 土壤相对含水量为 20%。土壤添加农药后, 分别置于黑暗和 3 000 lx、自然光(置于室内装有空调的窗台上, 隔着 4 mm 厚的玻璃窗户, 时间为 3 月 26 日—5 月 15 日) 3 种不同光照环境中培养, 温度控制在 25℃, 并在不同天数后取土壤样品分析测定乙草胺的残留量, 培养土需间隔 2~3 d 加适量水以保持土壤湿度不变。

1.4 乙草胺在土壤中残留分析方法

1.4.1 主要仪器与试剂

Agilent 4890D 气相色谱仪, 带电子捕获检测器(ECD)和化学工作站; RE-52A 型旋转蒸发器; PYB 型普通摇床器, SB500 型超声波清洗器, LRH-150-G 型光照培养箱, HG303 型恒温培养箱及其它常规玻璃仪器。

1.4.2 土壤样品前处理

土壤样品前处理参照于建奎方法^[6], 但有部分改进。称取土壤 25 g 置于 250 mL 具塞三角瓶中(另外每个样品称取 10 g, 在 105℃ 的烘箱中烘烤 8 h, 称其干重计算含水量), 加入 10 mL 蒸馏水和 50 mL 丙酮, 用振荡器振荡提取 30 min, 随后在超声波清洗器中提取 5 min。用铺有一层定性滤纸的布氏漏斗抽滤, 残渣和三角瓶用 30 mL 丙酮分三次洗涤。将滤液转移到 250 mL 分液漏斗, 加入 8% NaCl 水溶液 50 mL, 随后用 30、30、30 mL 石油醚萃取三次, 石油醚层通过无水硫

酸钠层干燥,干燥后的提取液在 45 ℃ 旋转蒸发器上减压浓缩至 2 mL,过层析柱净化。

取长 30 cm,内径 1.5 cm 的玻璃层析柱,底部垫少量脱脂棉。自下而上装填 5 g 中性氧化铝(130 ℃ 烘烤 4 h,加 8% 蒸馏水脱活)和 0.1 g 活性碳混合物,2 g 无水硫酸钠,采用湿法装柱。装好后,用 20 mL 石油醚预淋层析柱,弃掉预淋液,将浓缩后的提取液转移到层析柱上部,用 30 mL 石油醚:乙酸乙酯(7:3, V/V)混合液淋洗,收集淋洗液,浓缩并定容至合适体积待测定。

1.4.3 气相色谱条件

色谱柱为 30 m × 0.32 mm,膜厚 0.25 μm,澳大利亚 SGE 公司产 AC1 毛细管柱;载气为高纯 N₂,柱头压为 80kPa,分流比为 1:5;柱温 170 ℃ (保持 1 min),随后以 7 ℃ · min⁻¹ 的速率升至 250 ℃;进样口温度 250 ℃;检测器温度 300 ℃。

用正己烷配置乙草胺标准母液 200 μg · mL⁻¹,并将母液稀释成系列浓度,浓度范围为 0.125 ~ 2.0 μg · mL⁻¹,在上述色谱条件下,分别进样 1 μL⁻¹,测得峰面积。以进样量为自变量,峰面积为因变量,进行回归分析。结果表明,乙草胺标准品在 0.125 ~ 2.0 ng 范围内与峰面积呈线性关系,相关系数 $r=0.997\ 6$,回归方程为 $Y=1\ 533.4+10\ 003.6X$ 。

1.4.4 回收率试验

在空白土壤样品中添加乙草胺标准溶液,使得土壤中乙草胺的浓度为 0.04、0.4、2.0 mg · kg⁻¹,充分混匀后静置 30 min,随后按以上分析方法进行回收试验。结果表明,3 个档次浓度的平均回收率分别为 89.2%、92.9% 和 92.1%,变异系数均小于 10%,表明所用的分析方法符合农药残留检测要求。本方法对乙草胺的最小检出量为 1×10^{-10} g,土壤中乙草胺最低检出浓度为 0.01 mg · kg⁻¹。乙草胺在土壤中的残留色谱图见图 1。

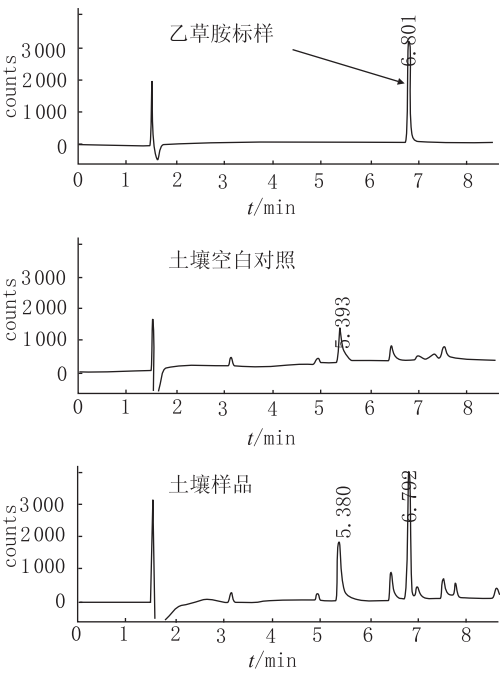


图 1 乙草胺色谱图

Figure 1 Chromatograms of acetochlor

2 结果与分析

2.1 微生物对土壤中乙草胺降解的影响

对乙草胺在非灭菌土壤和灭菌土壤中的残留量测定结果进行回归分析,其结果见表 2。从表中可以看出,乙草胺在土壤中前期降解较快,后期降解较慢,符合一级反应动力学方程 $C_t = C_0e^{-Kt}$,但在两组土壤中的降解速度存在显著差异。在非灭菌土壤条件下,1.25、2.5、5.0 mg · kg⁻¹ 3 种浓度处理组降解半衰期分别为 5.1、3.8、2.8 d,在灭菌土壤条件下,3 种浓度处理组降解半衰期分别为 20.0、22.5、25.3 d,后者的半衰期为前者的 4 ~ 9 倍,远远大于前者。在未灭菌土壤条件下,1.25、2.5、5.0 mg · kg⁻¹ 3 种浓度处理组降解 90% 所需天数分别为 37.0、29.1、28.2 d,在灭菌土壤条件下,3 种浓度处理组降解 90% 所需天数分别为 84.3、104.2、80.7 d,后者所需天数也远远大于前

表 2 乙草胺在灭菌与非灭菌土壤中的降解

Table 2 Degradation of acetochlor in sterilized soil and in non-sterilized soil

土壤	添加浓度 /mg · kg ⁻¹	$C_t = C_0e^{-Kt}$		相关系数 / r	降解率分别达 50% 和 90% 的天数/d	
		C_0	K		DT ₅₀	DT ₉₀
非灭菌土	1.25	0.501 4	-0.050 6	-0.946 5	5.1	37.0
	2.50	0.952 3	-0.063 7	-0.924 8	3.8	29.1
	5.00	2.433 8	-0.063 4	-0.953 4	2.8	28.2
灭菌土	1.25	1.011 6	-0.025 0	-0.945 9	20.0	84.3
	2.50	1.657 2	-0.019 7	-0.918 7	22.5	104.2
	5.00	4.079 9	-0.029 3	-0.962 2	23.4	78.3

表 3 乙草胺在不同类型土壤中的降解

Table 3 Degradation of acetochlor in different types of soils

土壤类型	$C_t = C_0 e^{-Kt}$		相关系数 / r	降解率分别达 50% 和 90% 的天数 / d	
	C_0	K		DT_{50}	DT_{90}
华北褐土	1. 172 5	- 0. 108 7	- 0. 981 5	4. 2	19. 0
东北黑土	1. 371 9	- 0. 053 9	- 0. 960 4	10. 7	40. 6
湖南红土	1. 280 7	- 0. 092 6	- 0. 993 1	6. 5	23. 9

注:添加浓度为 2. 5 mg · kg⁻¹,下表同。

者。由此可见,微生物对土壤中乙草胺的降解速度有显著影响,微生物的存在能加快土壤中乙草胺的降解,从而使土壤中乙草胺的滞留时间变短,对杂草的防治效果减弱。

2. 2 土壤类型对土壤中乙草胺降解的影响

乙草胺在不同类型土壤中的降解结果如表 3 所示。从结果中可知,乙草胺在 3 种类型土壤中的降解速度存在着较大差异,在 3 种供试土壤中的半衰期分别为华北褐土 4. 2 d、东北黑土 10. 7 d、湖南红土 6. 5

d。可见,乙草胺在偏碱土壤(华北褐土)中的半衰期短于在偏酸土壤(东北黑土、湖南红土)中的半衰期,也就是说,乙草胺在偏碱土壤中的降解速度明显地快于在偏酸土壤中的降解速度。乙草胺在不同类型土壤中的降解差异除与土壤的酸碱度有关外,也可能间接与土壤有机质含量有关。因为土壤 pH 值和有机质含量决定了微生物的生长和繁殖状况。

2. 3 土壤湿度对乙草胺降解的影响

乙草胺在不同湿度土壤中的残留测定结果见表

表 4 乙草胺在不同湿度土壤中的降解

Table 4 Degradation of acetochlor in soils with different water content

土壤相对含水量 / %	$C_t = C_0 e^{-Kt}$		相关系数 / r	降解率分别达 50% 和 90% 的天数 / d	
	C_0	K		DT_{50}	DT_{90}
13	1. 254 7	- 0. 066 0	- 0. 979 8	7. 3	31. 7
20	0. 952 2	- 0. 063 7	- 0. 924 7	3. 8	29. 1
27	0. 969 4	- 0. 075 3	- 0. 934 9	3. 0	24. 3

4。从表中可以看出,乙草胺在不同湿度的土壤中其降解速度存在显著差异。在相对含水量为 13%、20% 和 27% 土壤中,乙草胺的降解半衰期分别为 7. 3、3. 8、3. 0 d;降解 90% 所需天数分别为 31. 7、29. 1、24. 3 d。结果显示,在一定的土壤湿度范围内,随着湿度增高,乙草胺的降解速度加快,在土壤中的半衰期变短。分析原因可能是,合适的土壤湿度有利于土壤微生物的生长和繁殖,从而促进了乙草胺的生物降解。当然,在土壤环境中,水分还与氧化还原电位、化合物的溶解等密切相关^[7],这些对乙草胺的非生物降解也可能有一定的影响。

2. 4 温度对土壤中乙草胺降解的影响

不同环境温度条件下土壤中乙草胺残留测定结

果如表 5 所示。从表中可知,环境温度不同,乙草胺的降解速度不同。在温度 20 ℃、25 ℃ 和 30 ℃ 条件下,其降解半衰期分别为 5. 7、3. 8、3. 3 d;降解 90% 所需天数分别为 32. 2、29. 1、14. 9 d。结果表明,随着温度升高,乙草胺在土壤中的降解速度加快,即温度越高,乙草胺在土壤中的降解半衰期越短。由于农药的生物降解过程实际上是微生物所产生的酶催化的生化反应^[7],而温度正是酶反应动力学的重要支配因素,且微生物生长速度也受温度直接影响,因而温度对控制农药的降解转化起着关键作用。同时,较高的温度也有利于乙草胺的化学分解。

2. 5 光照强度对土壤中乙草胺降解的影响

不同光照条件下土壤中乙草胺残留测定结果如

表 5 不同温度条件下乙草胺在土壤中的降解

Table 5 Degradation of acetochlor in soil under different temperatures

温度 / ℃	$C_t = C_0 e^{-Kt}$		相关系数 / r	降解率分别达 50% 和 90% 的天数 / d	
	C_0	K		DT_{50}	DT_{90}
20	1. 136 9	- 0. 060 6	- 0. 949 6	5. 7	32. 2
25	0. 952 2	- 0. 063 7	- 0. 924 7	3. 8	29. 1
30	1. 279 8	- 0. 139 2	- 0. 984 6	3. 3	14. 9

表 6 不同光照强度下乙草胺在土壤中的降解
Table 6 Degradation of acetochlor in soil under different light intensities

光照强度	$C_t = C_0 e^{-Kt}$		相关系数 / r	降解率分别达 50% 和 90% 的天数/d	
	C_0	K		DT_{50}	DT_{90}
黑暗	0.952 2	-0.063 7	-0.924 7	3.8	29.1
3 000 lx	1.138 9	-0.061 2	-0.956 1	5.2	31.5
自然光	1.082 9	-0.063 3	-0.983 7	6.5	31.9

表 6 所示。从表中可知,在黑暗和光照条件下,土壤中乙草胺的降解速度表现出一定的差异。在黑暗、3 000 lx 和自然光照下,其降解半衰期分别为 3.8、6.5、5.2 d。结果显示,在黑暗条件下,土壤中乙草胺的降解速度较快,而在 3 000 lx 和自然光照条件下乙草胺的降解速度较慢。说明,光照对土壤中的乙草胺没有直接的降解作用。土壤中乙草胺的降解速度在光照下慢于在黑暗条件下的降解速度,其原因可能是在光照条件下土壤微生物生长或活性受到抑制,土表局部温度湿度发生变化,乙草胺生物降解受阻的缘故。

3 结果与讨论

施入土壤中的除草剂在土壤中的降解和残留除与农药本身的理化性质有关外,还与土壤的理化特性、土壤微生物及其环境因子有密切关系^[8,9]。本研究结果表明,土壤微生物、土壤类型、土壤湿度、环境温度以及光照对土壤中乙草胺的降解均有不同程度的影响。

通过土壤灭菌和未灭菌对照试验发现,土壤微生物对乙草胺的降解起主要作用。在灭菌土壤中,乙草胺的半衰期为 20.0 ~ 25.1 d,是未灭菌处理的 3.9 ~ 8.4 倍,降解速率与未灭菌处理相比明显缓慢。张惠文等^[10]研究认为,乙草胺对试验土壤的呼吸强度和脱氢酶活性具有明显的刺激效应,同时也可使土壤中真菌数量明显提高。而土壤生物量及其代谢活性的高低直接决定了土壤中残留农药的多少^[8]。可见,乙草胺施入土壤后,可能增强了土壤中微生物的活性,提高了土壤生物量(真菌数量);反过来,微生物的存在及其代谢活性的提高又能加快土壤中的乙草胺的降解,使乙草胺在土壤中的滞留时间变短,持效性降低。

除土壤微生物对乙草胺的降解有显著影响外,土壤类型、土壤湿度和环境温度对土壤中乙草胺的降解也有一定的影响。但在实验条件下,光照对土壤中乙草胺没有降解作用。分析原因可能有以下几个方面:①农药必须吸收适当波长的光能呈激发态分子,才能进行光化学反应^[11]。太阳发射的光谱较宽,但由于臭

氧层的作用,到达地球表面最短波长为 286.3 nm,而乙草胺的最大吸收光谱为 194.0 nm^[5],因此对于达到地球表面的太阳光不能有效地吸收。②土壤颗粒对光的吸收和传导可能产生阻碍、掩蔽效应,从而使乙草胺的光致降解受阻。③玻璃对紫外线也有相当程度的阻挡作用。花日茂等^[5]研究发现,乙草胺在纯水中(置于石英试管中)于自然太阳光照射下光解半衰期为 161.2 h,且光量子产率较低;认为乙草胺在自然光范围内的直接光解速度极慢。本试验结果与之相吻合。

综上所述,土壤微生物是影响土壤中乙草胺降解的主要因素,在乙草胺的降解中占有首要地位。同时,对土壤微生物生长、繁殖以及代谢活性有影响的环境因子也是影响乙草胺降解的重要因素。即适宜土壤中微生物生长并能增强其活性的环境因素,如偏碱的土壤、较高的环境温度、较高的土壤湿度等,对土壤中乙草胺的降解有促进作用,反之则有抑制作用。

参考文献:

[1] 农业部农药检定所主编. 新编农药手册(续集)[M]. 北京:中国农业出版社,1998.

[2] U. S. Environmental Protection Agency. Prevention, pesticides and toxic substances, Questions and answers. Conditional registration of acetochlor; U. S. EPA, Washington D C. 1994: 18.

[3] Jablonkai I, hulesch A, Barta I. Factors affecting the phototoxicity of the herbicideacetochlor to monocotyledonous and dicotyledonous weeds[J]. *Pesticides Sciences*, 1997, 49(4): 395 ~ 397.

[4] Breaux E J. Identification of the initial metabolites of acetochlor in corn and soybean seedlings[J]. *J Agric Food Chem*, 1986, 34: 884 ~ 888.

[5] 花日茂,丘永得,樊德方. 乙草胺在水中的光化学降解[J]. *农药学报*, 2000, 2(1): 71 ~ 74.

[6] 于建奎,赵德友,刘炳海. 乙草胺在大豆和土壤中的残留研究[J]. *农药*, 1998, 37(1): 28 ~ 30.

[7] 孔繁翔主编. 环境生物学[M]. 北京:高等教育出版社,2000.

[8] 乔雄梧. 农药在土壤中的环境行为[J]. *农药科学与管理*, 1999, 增刊: 12 ~ 16.

[9] 国家环保总局. 化学农药环境安全评价试验准则[J]. *农药科学与管理*, 1990, 2: 1 ~ 5.

[10] 张惠文,张倩茹,周启星,张成刚. 乙草胺及铜离子复合施用对黑土农田生态系统土著微生物的毒性效应[J]. *农业环境科学学报*, 2003, 22(2): 129 ~ 133.

[11] 中国农业百科全书农药卷编辑委员会. 中国农业百科全书农药卷[M]. 北京:农业出版社,1993. 244.