

• 研究论文 •

毒死蜱在表面活性剂混合体系中的 增溶规律及其药效评价

黄 啟良^{1*}, 张文吉¹, 李凤敏², 折冬梅², 张春华², 卜小莉²

(1. 中国农业大学 理学院, 北京 100094

2 农业部农药化学与应用技术重点开放实验室, 中国农业科学院 植物保护研究所, 北京 100094)

摘 要: 为明确表面活性剂在农药制剂微乳化中的作用和评价农药制剂微乳化对药剂生物效果的影响, 通过测定毒死蜱在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的最大增溶浓度和在不同表面活性剂/水微乳体系中的最高浓度, 研究了毒死蜱在表面活性剂混合体系中的增溶规律, 得到了毒死蜱微乳剂的优化配方, 并对 30% 毒死蜱微乳剂对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的生物活性进行了室内药效试验。结果表明: 毒死蜱在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的最大增溶浓度和在有机溶剂-表面活性剂-水微乳体系中的最高浓度分别随体系中表面活性剂浓度和表面活性剂/水(质量比)的增加而增大, 但表现出不同的增溶规律; 优化后的毒死蜱微乳体系分散液滴呈球形, 流体力学半径约 25.9 nm; 30% 毒死蜱微乳剂与 40% 毒死蜱乳油对棉铃虫的室内 LC_{50} 值分别为 500 和 561 mg/L, 无显著差异; 在相近有效使用剂量下, 微乳剂的田间防效并未比乳油显著提高。研究表明, 保证制剂中足够的表面活性剂质量分数是农药制剂微乳化形成与稳定的关键, 农药制剂微乳化带来的农药有效成分分散度提高并不能显著提高药剂的生物活性。

关键词: 毒死蜱; 微乳剂; 增溶; 表面活性剂; 药效评价

中图分类号: TQ450.62

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2006)01-0071-06

Solubilization of Chlorpyrifos in the Mixed System of Surfactants and the Bioactivity Evaluation

HUANG Qi-liang^{1,*}, ZHANG Wen-ji¹, LI Feng-min², SHE Dong-mei²,
ZHANG Chun-hua², BU Xiao-li²

(1. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100094 China;

2 Key Lab. of Pesticide Chemistry and Application Technology, Institute for Plant Protection,
CAAS, Beijing 100094 China)

Abstract In order to explain the effect of surfactant in microemulsification of pesticide and evaluate the bioactivity of pesticide microemulsion, the regularity of chlorpyrifos solubilized in the mixed system of surfactants were studied and the optimized formation of chlorpyrifos microemulsion was achieved by chlorpyrifos measurements of them maximum capacity solubilized in the solvent-surfactants system and the

收稿日期: 2005-09-29 修回日期: 2005-12-05

作者简介: 黄啟良 (1968-), 男, 山东宁阳人, 硕士, 副研究员, 主要从事农药剂型加工与使用技术原理研究。联系电话: 010-62816909; E-mail: qhuang@ippcaas.cn

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370945)

maximum concentration dispersed in different surfactants/water microemulsion systems, the bioactivity of chlorpyrifos 300 ME was also investigated on *Helicoverpa armigera* by laboratory assays and field tests. The results showed the maximum capacity of chlorpyrifos solubilized in the solvent-surfactants systems and the maximum concentration of chlorpyrifos dispersed in different surfactants/water microemulsion systems increased with the concentration of surfactants and the ratio of surfactants/water (m/m) increased respectively, but had different curves. The optimized microemulsion is composed of discrete spherical oil droplets which hydro-mechanical radius is about 25.9 nm. For laboratory assays, the bioactivity of chlorpyrifos 300 ME and 400 EC has no significant difference and with LC_{50} values of 500 mg/L and 561 mg/L respectively. For field tests of chlorpyrifos 300 ME, comparing with 400 EC at the same dosage, the control efficiency is not significant too. It indicated that it was the key to enough dosage of surfactant for the formation and stability of pesticide microemulsion and the bioactivity of pesticide was not enhanced significantly by the improvement of dispersion by microemulsification of pesticide.

Key words chlorpyrifos; pesticide microemulsion; solubilization; surfactant; bioactivity evaluation

随着人们环保意识的加强,许多国家和组织纷纷制定法规禁止或限制高毒农药品种及农药制剂中芳烃类有机溶剂的使用^[1~3]。我国是高毒农药生产大国,甲胺磷等6个高毒有机磷杀虫剂的产量占全国农药总产量的1/3以上^[4],且以乳油为主导剂型。为此,“十五”期间国家大力消减高毒有机磷杀虫剂并选择毒死蜱等品种重点开发以形成替代,同时鼓励和支持毒死蜱等农药水基化制剂的产业化开发。

毒死蜱是一种广谱、中等毒性的有机磷杀虫剂,国内外已有多家企业进行了产业化,剂型主要为乳油、颗粒剂和微囊悬浮剂。近两年来,石油能源危机促进了农药微乳剂的产业化发展,我国先后登记了3个毒死蜱微乳剂单剂和4个含毒死蜱的微乳剂混剂。刘兴武^[5]最早报道了15%毒死蜱·高效氯氰菊酯微乳剂配方的研究结果,颜桂军等^[6]则在15%毒死蜱·高氯微乳剂配方研制基础上,在室内进行了生物活性测定,认为微乳剂产品的药效好于乳油制剂。笔者等^[7]利用冷冻蚀刻电镜技术研究了毒死蜱微乳剂的微观结构。但通过增溶及生物活性评价来探讨农药制剂微乳化形成的规律及正确评价其在实际应用中的作用的相关研究国内外还未见报道。由于潜在的市场竞争,企业生产配方互相保密,再加上我国不同企业间复合农用表面活性剂配方差异很大,批次之间产品性能也很难一致,致使其产品产业化转化过程中存在较多问题。农药微乳剂主要依赖于表面活性剂混合体系的增溶作用,表面活性剂体系或有机溶剂的任何变化都会直接影响到农药微乳剂类型

及增溶体系的性能^[8],这也正是农药微乳剂产业化转化过程中存在较多问题的主要原因。

笔者研究了毒死蜱在不同表面活性剂混合体系中的增溶规律,并在室内外对其优化配方进行了生物活性评价。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

毒死蜱(chlorpyrifos)原药(有效含量97%),40%毒死蜱乳油(chlorpyrifos 400 EC),均由湖北沙隆达农药股份有限公司提供;复合表面活性剂2201(非离子表面活性剂二苄基二甲酚聚氧乙烯醚、阴离子表面活性剂十二烷基苯磺酸钙和饱和脂肪醇的混合物)由邢台市蓝天精细化工厂提供;有机溶剂二甲苯、甲醇、正辛醇、环己酮均为分析纯;室内药效评价试验对象为3龄棉铃虫*Helicoverpa armigera*幼虫,采自河北省冀县高抗区经室内饲养的第三代种群。

1.2 试验方法

1.2.1 毒死蜱在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的增溶 试验在25℃条件下采用经典的相溶解度法^[9]进行。将几种有机溶剂按照优化配比混合均匀,定量称取5、7、10 g(分别代表制剂配方中有机溶剂质量分数为5%、7%、10%)于洁净的具塞三角瓶中,加入定量克数(代表制剂配方中表面活性剂质量分数)的表面活性剂,混合、溶解,在搅拌条件下慢慢加入毒死蜱原药直至不再溶解为止。记录完全溶解在有机溶剂-表面活性剂混合体系中

的毒死蜥原药的质量, 计算毒死蜥的最大增溶浓度 (C_{max}):

$$C_{max}(\%) = m \times p \times 100$$

式中 m 代表完全溶解在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的毒死蜥原药的质量, g ; p 代表毒死蜥原药的质量分数, %。

以有机溶剂-表面活性剂混合体系中表面活性剂质量分数 (C_s , %) 为横坐标, 毒死蜥最大增溶浓度 (C_{max} , %) 为纵坐标, 绘制毒死蜥在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的增溶曲线, 并以此确定毒死蜥微乳剂配方中有机溶剂与表面活性剂的用量范围。

1.2.2 毒死蜥在有机溶剂-表面活性剂-水微乳体系中的最高浓度 将毒死蜥和有机溶剂按照 1.2.1 确定的比例混合、溶解, 作为油相, 复合表面活性剂 2201 作为表面活性剂 (SAA) 相, 标准硬水 (342 mg/L , $\text{pH} = 7.3$) 作为水相, 在 25°C 条件下参照文献 [10] 方法测定和绘制拟三元相图。在相区边界上取点, 读取各相的质量分数; 以表面活性剂/水质量比为横坐标, 毒死蜥的最高浓度 (C_w : 体系中油相的质量分数与油相中毒死蜥的质量分数的乘积, %) 为纵坐标, 绘制毒死蜥在有机溶剂-表面活性剂-水微乳体系中的最高浓度曲线。

1.2.3 不同浊点的测定 在 25°C 条件下参照文献 [11] 进行。根据 1.2.1 的测定步骤, 当毒死蜥原药在有机溶剂-表面活性剂混合体系中达到最大增溶后, 去除体系中未溶解的毒死蜥原药, 在搅拌下往混合体系中逐滴加入配方所需量的标准硬水, 混合均匀后进行浊点测定。分别以微乳体系中有有机溶剂/水质量比和表面活性剂/水质量比为横坐标、微乳体系浊点为纵坐标, 绘制毒死蜥微乳剂浊点曲线。

1.2.4 毒死蜥微乳剂分散液滴形态的表征观察 试验在 25°C 条件下参照文献报道的方法进行, 微乳剂分散液滴流体学半径采用光散射方法测定 [12], 微乳体系的分散液滴形态采用冷冻蚀刻电镜技术表征 [13]。

1.2.5 毒死蜥微乳剂的生物活性评价 于室内采用浸渍法, 用蒸馏水 ($\text{pH} = 7.0$) 将 30% 毒死蜥微乳剂和 40% 毒死蜥乳油分别稀释成系列浓度, 将个体均匀的 3 龄棉铃虫幼虫置于药液中浸渍 5 s, 取出后自然晾干, 移入装有新鲜饲料的试验盒内。每处理 30 头, 重复 3 次, 以清水为对照。处理后试虫放在 25°C 培养箱内饲养, 24 h 后取出观察记录试虫死亡情况, 用 DPS 数据处理系统进行

毒力曲线回归, 并计算抑制中浓度 LC_{50} 值 (mg/L)。

大田采用常量喷雾法 (750 kg/hm^2), 试验地点设在河南省延津县棉田内, 棉花长势均匀, 株高约 40 cm , 历年虫害发生较重。以 40% 毒死蜥乳油有效成分 600.0 g/hm^2 为对照, 30% 毒死蜥微乳剂有效成分 337.5 、 450.0 、 675.0 g/hm^2 3 个处理, 每处理 3 次重复。每小区面积 20 m^2 , 随机排列, 四周设置保护行, 于棉铃虫 2~3 龄盛发期均匀施药。药前调查虫口基数, 药后 24、72 h 调查防效, 试验数据用 DPS 数据处理系统处理。

2 结果与分析

2.1 毒死蜥在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的增溶

毒死蜥在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的增溶曲线如图 1 所示。结果表明, 不同质量分数有机溶剂下, 毒死蜥在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的最大增溶浓度 (C_{max}) 随体系中表面活性剂质量分数的增加而增大, 在混合体系中的溶解度已明显大于在单个组分中的溶解度之和, 表明有机溶剂-表面活性剂混合体系对毒死蜥产生了增溶 [14]。对于选定的毒死蜥微乳化浓度, 通过增溶曲线可以得到体系形成所必需的有机溶剂和表面活性剂用量。如配制 30% 毒死蜥微乳剂, 则体系中最少需要质量分数为 7% 的有机溶剂和质量分数为 21% 的表面活性剂。

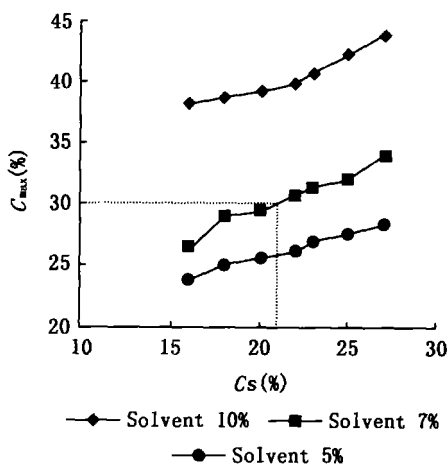


Fig 1 Solubilization curve of chlorpyrifos in the mixed system of solvents-surfactants

2.2 毒死蜥在有机溶剂-表面活性剂-水微乳体系中的最高浓度

图 2 是毒死蜥在不同有机溶剂-表面活性剂-

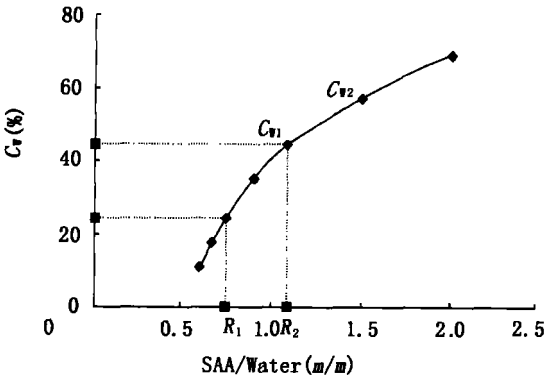


Fig 2 Solubilization curve of chlorpyrifos in the mixed system of solvents-surfactants-water

水微乳体系中的最高浓度曲线。结果表明, 毒死蜱在有机溶剂-表面活性剂-水微乳体系中的最高浓度 (C_w) 随体系中表面活性剂/水质量比的增加而增大, 但其与毒死蜱在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的增溶规律存在明显不同。表面活性剂/水的比值 $R < R_1$ 时, C_w 快速增加到 C_{w1} ; 当 $R_1 < R < R_2$ 时, C_w 的增加变缓; 当 $R > R_2$ 后, C_w 的增加基本与 R 呈正线性相关, 与其在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的增溶规律趋于一致。表明

微乳体系中毒死蜱的浓度在 $R > R_2$ 后主要依赖于有机溶剂-表面活性剂混合体系的增溶作用; 而在 $R < R_2$ 时, 可能存在其他的增溶或分散方式。假如选定 30% 为毒死蜱微乳化浓度, 通过图 2 则可以获得其微乳化配方的重要信息, 即表面活性剂/水的比值不小于 0.68。

2.3 混合体系中有有机溶剂、表面活性剂对毒死蜱微乳剂浊点的影响

图 3a 是有有机溶剂/水不同质量比值下毒死蜱微乳剂的浊点曲线。曲线显示, 当有机溶剂/水比值升高到 0.23 微乳剂浊点达到最高值; 该比值在 0.23 后继续上升, 微乳剂浊点逐渐下降; 体系中存在有机溶剂与水的最佳配比。图 3b 是表面活性剂/水不同质量比值下毒死蜱微乳剂的浊点曲线, 随表面活性剂/水比值增加, 毒死蜱微乳剂浊点提高, 表明适当提高表面活性剂质量分数有助于提高微乳剂的浊点。

至此, 综合 2.1、2.2、2.3 中的结果, 基本可以确定 30% 毒死蜱微乳剂的优化配方 (见表 1)。配方中各质量比为: 有机溶剂/表面活性剂 = 0.31, 表面活性剂/水 = 0.72 有机溶剂/水 = 0.23。

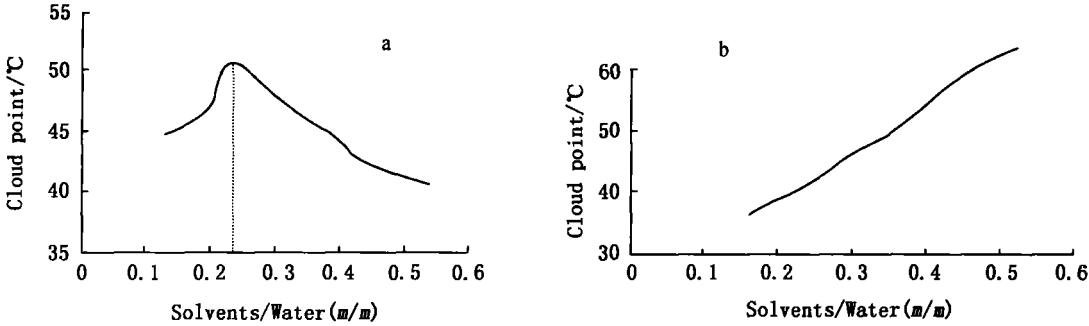


Fig 3 Cloud point curves of chlorpyrifos microemulsion

Table 1 Compositions of the optimized formation of chlorpyrifos 300 ME				
Compo sitions	Chlorpyrifos TC	Solvents	Surfactants	Standard water
Concentration(m in, %)	31.0	8.0	25.5	35.5

2.4 毒死蜱微乳剂分散液滴形态的表征观察

图 4 是按照表 1 优化配方配制的 30% 毒死蜱微乳剂中分散液滴形态的冷冻蚀刻电镜观测结果, 制剂中的分散液滴呈球形, 经过光散射测定, 其流体力学半径约 25.9 nm (权重 61.1%)。这与文献报道^[7-13]结果一致。

2.5 毒死蜱微乳剂的生物活性评价

表 2 是毒死蜱微乳剂与乳油对棉铃虫的室内毒力测定结果, 二者无显著差异。

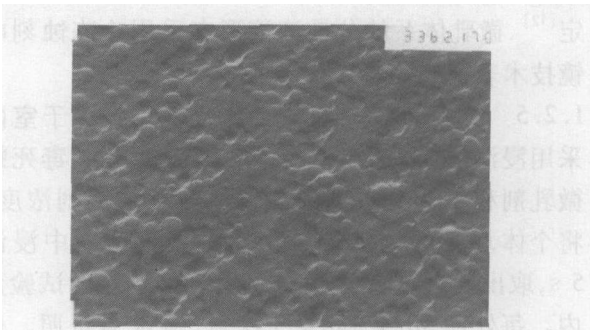


Fig 4 Cryo-fracture electron microscope photo of chlorpyrifos 300 ME (× 33K)

表 3 是毒死蜱微乳剂与乳油防治棉铃虫的大田药效试验结果。与 40% 毒死蜱乳油有效成分 600 g/hm² 相比, 30% 毒死蜱微乳剂有效成分 450 g/hm² 药后 1 d 和 3 d 对棉铃虫均具有较好防

效, 1%、5% 水平下差异不显著; 30% 毒死蜱微乳剂有效成分 337. 5 g/hm² 药后 1 d 防效较差, 但药后 3 d 即达到较好防效, 与 40% 毒死蜱乳油防效相当。

Table 2 The toxicity of chlorpyrifos to *Helicoverpa armigera* in laboratory tests

Insecticide	LC ₅₀ (95% CL) /mg·L ⁻¹	LC ₉₀ (95% CL) /mg·L ⁻¹	Regression equation
Chlorpyrifos 300 ME	500 (337. 7~ 740. 7)	1 433 (777. 7~ 3 741. 3)	Y = - 2. 58 + 2. 81x (±0. 380 7)
Chlorpyrifos 400 EC	561 (386. 6~ 814. 1)	1 532 (744. 9~ 4 760. 3)	Y = - 3. 08 + 2. 94x (±0. 448 8)

Table 3 The field control effect of chlorpyrifos to *Helicoverpa armigera*

Insecticide	Concentration /g·hm ⁻²	Average control effect (%)	
		1 d	3 d
Chlorpyrifos 300 ME	337. 5	64. 2±5. 1 Bc	85. 8±5. 3 Aa
	450. 0	74. 3±9. 4 ABbc	92. 5±6. 5 Aa
	675. 0	89. 4±1. 4 Aa	96. 7±5. 4 Aa
Chlorpyrifos 400 EC	600. 0	76. 8±1. 3 ABb	86. 7±6. 1 Aa

* The capital and small letters after values show significant difference at P = 0. 01 and 0. 05, respectively.

3 讨论

农药微乳剂是农药有效成分或其有机溶剂溶液和水在表面活性剂存在下形成的热力学稳定、各向同性、光学透明或半透明的分散体系^[7, 14]。由于毒死蜱原药在常温常压下为固体, 很难直接分散在有机溶剂-表面活性剂-水形成的微乳体系中, 必须选择适宜的有机溶剂将其溶解, 并充分利用有机溶剂-表面活性剂混合体系的增溶作用, 在保证制剂必要稳定性的前提下, 尽可能降低制剂中有机溶剂和表面活性剂用量, 提高农药有效含量, 这是农药微乳剂配方设计的主要任务。

毒死蜱在有机溶剂-表面活性剂-水微乳体系中的最高浓度与其在有机溶剂-表面活性剂混合体系中的最大增溶浓度表现出明显不同的规律, 这与两种体系的微观结构截然不同有关^[15, 16]。微乳体系根据其配方中表面活性剂/水质量比的不同, 往往会产生油包水 (W/O)、双连续 (B. C.) 到水包油 (O/W) 等不同结构类型的转变。在 W/O 型微乳液中, 有机溶剂为连续相, 水为分散相, 毒死蜱大多分布在连续相中, 其最高浓度主要依靠有机溶剂-表面活性剂混合体系的增溶作用, 从而表现出与有机溶剂-表面活性剂混和体系趋于一致的增溶规律; 在双连续 (B. C.) 和 O/W 型微乳液中, 水逐渐成为连续相, 有机溶剂大多处在表面活性剂形成的界面膜中, 除有机溶剂-表面活性剂混合

体系的增溶作用外, 毒死蜱还可能被分散而存在于界面膜等不同位置, 从而使其最高浓度曲线发生变化。其分散及稳定存在的机理还有待进一步研究。

与普通乳油相比, 微乳剂对水稀释使用具有更高的分散度 (微乳剂对水稀释一般仍为微乳液, 分散液滴流体力学半径在 10~ 100 nm; 而乳油对水稀释一般形成乳状液, 分散液滴流体力学半径大于 100 nm), 然而, 30% 毒死蜱微乳剂对棉铃虫的室内外药效试验并未表现出比 40% 毒死蜱乳油更为突出的效果, 这可能与农药剂量传递的复杂性^[17]或者稀释后药液对靶标的润湿、展着和沉积等药液性能差异不大有关^[18]。

参考文献:

[1] LIANG Wen-ping (梁文平), ZHENG Fei-neng (郑斐能), WANG Yi (王仪), et al. 21 世纪农药发展的趋势: 绿色农药与绿色农药制剂 [J]. Pesticides (农药), 1999, 38(9): 1-2

[2] Thomas SW. The formulas to box-product forms for modern agriculture [A]. Brooks G T, Roberts T R. Pesticide Chemistry and Bio science: The Food-environment Challenge [M]. Book-craft (Bath) LTD, 1999. 121-133.

[3] Kozo T. Recent trends in pesticide formulation in Japan [A]. Mueninghoff JC, Viets A K, Downer R. Pesticide Formulation and Application System: A New Century of Agricultural Formulations Twenty First Volume [M]. WestConshohocken,

- PA, 2001 63-79
- [4] WANG X iao-guang(王晓光), LI H ai-ping(李海屏). 我国高毒有机磷农药替代品种开发进展 [J]. Pesticides (农药), 2001, 40(2): 10-13
- [5] LIU X ing-wu(刘兴武). 15% 毒死蜱·高效氯氟菊酯微乳剂的研究 [J]. Anhui Chemical Industry (安徽化工), 2001, 113(5): 46
- [6] YAN Gui-jun(颜桂军), WANG Cheng-ju(王成菊). 15% 毒死蜱·高氯微乳剂的研制 [J]. Pesticides (农药), 2003, 42(11): 23-24
- [7] Huang Q L, Yuan H Z, Yang D B. Studies on the microscopic mechanism of the thermodynamic stability of pesticide microemulsion [J]. Agricultural Sciences in China, 2002, 1(9): 994-997.
- [8] Tadros T. microemulsions in agrochemicals [A]. Solans C, Kunieda H. Industrial Applications of Microemulsion [M]. Marcel Dekker, New York, 1996. 199-207.
- [9] Higuchi T, Connors K A. Phase-solubility techniques [A]. Reill C N. Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation Vol 4 [M]. Wiley-Intersciences New York, 1965. 117-212
- [10] Li G Z, Friberg S. Surfactant cosurfactant association and emulsion stability [J]. J Am Oil Chem Soc, 1982, 59 569-572
- [11] GUO Rong(郭荣), ZHU Wen-qing(朱文庆), CHEN Zong-qi(陈宗琪), et al. 醇对非离子型表面活性剂浊点的影响 [J]. Chem J Chin Univ (高等学校化学学报), 1995, 16(7): 1104-1108
- [12] Boumeim, Schechter R S. Microemulsion and Related Systems Formulation, Solvency, and Physical Properties. Surfactant Science Series Vol 30 [M]. Marcel Dekker, New York, 1988 335.
- [13] HAO Jing-cheng(郝京诚), WANG Han-qing(汪汉卿), GE Jin-huan(葛金环). 微乳液结构的研究 [J]. Acta Physico-Chemica Sinica (物理化学学报), 1997, 13(7): 593-597
- [14] ZHU Jian-lin(朱建林), ZHANG Kun(张坤), CUI Zheng-gang(崔正刚). 表面活性剂在环境保护中的应用—农药微乳剂 [J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业), 2002, 32(4): 43- 47
- [15] HAO Jing-cheng(郝京诚), WANG Han-qing(汪汉卿), GE Jin-huan(葛金环). 微乳液结构的研究 [J]. Acta Physico-Chemica Sinica (物理化学学报), 1997, 13(7): 593-597
- [16] CHEN Shi-hong(陈时洪), HU Bi-qin(胡必琴), LI Xue-gang(李学刚). 氯化十六烷基三甲胺-壬基酚聚氧乙烯醚硫酸钠的表面活性及其加溶能力 [J]. J Southwest China Normal University (Natural Science) [西南师范大学学报(自然科学版)], 2003, 28(5): 780-783
- [17] TU Yu-qin(屠豫钦). 农药剂型和制剂与农药的剂量传递 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 1999, 1(1): 1- 6
- [18] WU Wen-jun(吴文君), HU Zhao-nong(胡兆农), JI Zhi-qin(姬志勤). 从应用毒理学的角度讨论我国农药制剂存在的几个问题 [J]. Pesticides (农药), 2000, 39(5): 1- 3.

(Ed. TANG J)