

赵丽娟, 张鹏九, 高越, 等. 苯醚甲环唑水凝胶的缓释性[J]. 环境化学, 2021, 40(4): 1292-1294.

ZHAO Lijuan, ZHANG Pengjiu, GAO Yue, et al. Release behavior of diphenoxazole hydrogel[J]. Environmental Chemistry, 2021, 40(4): 1292-1294.

苯醚甲环唑水凝胶的缓释性*

赵丽娟^{1,2} 张鹏九¹ 高越^{1**} 张洪³

(1. 山西农业大学植物保护学院, 农业有害生物综合治理山西省重点实验室, 太原, 030031;

2. 忻州师范学院生物系, 034000; 3. 山西省分析科学研究院, 太原, 030031)

摘要 本文采用液质联用仪、磁力搅拌器、电子透镜测定了水凝胶的半衰期、胶凝时间、水分蒸发率、溶胀率、形态结构。结果显示苯醚甲环唑水凝胶在 24 h 后仍然可以维持 15% 以上的水分, 12 h 以内仍然保持良好的溶胀率, 苯醚甲环唑可以均匀的分布在水凝胶微孔结构内, 其半衰期为 26.4 d。氧化魔芋葡聚糖和羧甲基壳聚糖制成的苯醚甲环唑水凝胶制剂可以有效的愈合植物伤口并延长药效。

关键词 苯醚甲环唑, 水凝胶, 缓释性。

Release behavior of diphenoxazole hydrogel

ZHAO Lijuan^{1,2} ZHANG Pengjiu¹ GAO Yue^{1**} ZHANG Hong³

(1. College of Plant Protection, Shanxi Agricultural University, Shanxi Key Laboratory of Integrated Pest Management in Agriculture, Institute of Plant Protection, Taiyuan, 030031, China; 2. Department of Biology, Xinzhou Normal University, 034000, China;

3. Shanxi Academy of Analytical Sciences, Taiyuan, 030031, China)

Abstract: The half-life, gelation time, water lost, swelling rate and microcosmic morphology of the hydrogel were determined by liquid chromatography-mass spectrometry, magnetic stirrer and scanning electron microscope. The results showed that diphenoxazole hydrogel could maintain more than 15% moisture content after 24 h, and maintain good swelling rate within 12h; Diphenoxazole can be evenly distributed in the microporous structure of the hydrogel, with a half-life of 26.4 d. The diphenoxazole hydrogel made from Oxidized Konjac Glucomannan (OKGM) and Carboxymethyl chitosan (CMCS) can effectively heal plant wounds and prolong the efficacy.

Keywords: diphenoxazole, hydrogel, sustained release.

苯醚甲环唑是一种广谱的三唑类杀菌剂, 具有高效、安全、低毒等特点, 目前登记在果树上的剂型有悬浮剂、水分散粒剂、微乳剂、水乳剂、可湿性粉剂等, 施用的方式多为喷雾^[1]。其目前广泛应用于果树、蔬菜等作物, 有效防治黑星病、黑痘病、白腐病、斑点落叶病、白粉病、褐斑病、锈病、条锈病、赤霉病等^[2]。然而农药在喷雾的过程中, 产生的漂移会导致农药有效利用率降低^[3]。因此, 为解决由于农药流失造成的对非靶标和环境的危害等问题, 寻找具有抗漂移和耐雨水冲刷的农药新剂型尤为重要。

水凝胶作为一类重要的生物材料, 由于其独特的特性包括生物相容性、生物降解性、无毒性, 在药物和生物医学领域具有广泛的应用^[4-5]。为减少农药苯醚甲环唑的使用量, 同时延长其药效, 本文使用氧化魔芋葡聚糖/羧甲基壳聚糖为主要原料制成水凝胶, 通过对农药苯醚甲环唑的包裹, 制成相应的涂抹剂, 测定其各项物理化学性质, 并根据时间的变化, 对涂抹剂中的农药进行含量测定, 进而得出农药的缓释速率, 从而为农药的田间施用周期和使用效果提供相关的理论基础。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验试剂和仪器

魔芋葡甘聚糖 (KGM) 纯度 ≥ 95%, Ruibio 公司; 羧甲基壳聚糖 (CMCS), 山东卫康生物医药公司; 过碘酸钠, 乙二醇, 南京新化原化学有限公司; 苯醚甲环唑原药, 温州绿佳化工有限公司。

磁力搅拌器 (scilogex 公司, MS-H280-Pro), 液相色谱质谱联用 (Waters 公司, XEVO-TQ); 扫描电镜 (日本日立公司,

* 农业有害生物综合治理山西省重点实验室开放基金 (YHSW2019002), 忻州师范学院学术带头人和忻州师范学院博士科研启动金资助。

Supported by Shanxi Key Laboratory of Integrated Pest Management in Agriculture Program (YHSW2019002), the Academic Leader of Xinzhou Normal University and the Doctoral Research Start-up Fund of Xinzhou Normal University.

** 通讯联系人 Corresponding author, E-mail: gaoyue1207@sina.com

Hitachi SU8010).

1.2 实验方法

1.2.1 氧化魔芋葡聚糖(OKGM)的制备

称取一定量的 KGM,在搅拌状态下缓慢加入到纯水中,使 KGM 与水的比例为 1:100(W/V),加入过碘酸钠(占溶液比例为 0.03%),将混合物置于 30 ℃ 黑暗中剧烈搅拌 8 h.加入乙二醇(占溶液比例为 0.2%)用于去除未反应的过碘酸钠,再搅拌 3 h.将混合物转入到透析袋中,放入蒸馏水中透析 2 d,用硝酸银检测,直到透析液中不含碘酸盐.将反应产物在 -50 ℃ 真空干燥,得到纯化的 OKGM.

1.2.2 OKGM/CMCS 苯醚甲环唑水凝胶制备

将一定量的 OKGM 和 CMCS 缓慢加入水中,使得 OKGM 和 CMCS 的浓度均为 5%.将苯醚甲环唑原药溶解于丙酮中,按照一定比例混入水凝胶中,使其浓度达到 20 mg·L⁻¹.

1.2.3 胶凝时间测试

将 OKGM 和 CMCS/苯醚甲环唑溶液的混合物放在培养皿(10 cm)中和磁力搅拌棒(特氟隆氟碳树脂 5 cm)放置在溶液液滴的中心.使用搅拌器以 150 r·min⁻¹搅拌溶液,当溶液形成与培养皿底部完全分离的固体小球时,确定凝胶时间^[6].使用 3 次测量计算每个样品的数据.

1.2.4 溶胀率的测试

将水凝胶样品(圆柱状,直径 20 mm 和高度 10 mm)置于 50 ℃ 的真空中并干燥至恒重.然后将样品浸入 pH 7.4 磷酸盐缓冲盐水中,并在室温下放置 48 h.去除溶胀的凝胶,并用滤纸吸收表面上多余的液体.然后测量水凝胶的重量,使用 3 次测量计算每个样品的数据.溶胀率(Swelling rate,SR)由下式计算:

$$SR = \frac{(W_s - W_d)}{W_d} \times 100\%$$

其中,W_s,W_d 分别是溶胀状态和干燥状态下样品的重量.

1.2.5 水蒸发速率

将获得的新鲜水凝胶样品(圆柱状,直径 20 mm,高 10 mm)在室温下浸入蒸馏水中,直到达到溶胀平衡.然后取出样品并称重.将样品放在 50 ℃ 和 50% 相对湿度的培养箱中,放置 24 h.定期测量样品的重量,直到其变得恒定为止.使用 3 次测量计算每个样品的数据.蒸发速率(Water loss rate,WLR):

$$WLR = \frac{W1 - W2}{W1 - W3} \times 100\%$$

其中,W1、W2 和 W3 分别是样品的初始重量、测量重量和最终重量.

1.2.6 扫描电镜分析

将 OKGM 和 CMCS/苯醚甲环唑水凝胶进行冷冻干燥并在扫描电镜下观察,加速电压 5 kV.

1.2.7 苯醚甲环唑水凝胶缓释试验

将制备好的苯醚甲环唑水凝胶涂抹于树干,每棵树分别涂抹 20 mL.分别于 1、3、7、14、28、35、42、49 d 取样,LC-MS 测定含量.

将涂抹于树干的水凝胶 500 mL 水中浸泡 30 min,超声波提取 5 min,取 10 mL 浸泡液加入 10 mL 乙腈,再加入 5 g 氯化钠,剧烈震荡,静置后取上清液,过 0.22 μm 有机滤膜,上机检测.

色谱柱:AcquityC18 色谱柱(50 mm×2.1 mm,1.7 μm),流动相为乙腈:水(0.1%甲酸)= 40:60,流速:0.5 mL·min⁻¹;正离子模式(ESI⁺),多反应离子检测模式(MRM),毛细管电压 3.5 kV,脱溶剂气 900 L·h⁻¹,干燥气温度 450 ℃;锥孔电压:20 V,第一对母离子和子离子参数(定量离子对):406.5>251,碰撞电压:20 V,第二对母离子和子离子参数:406.5>337.

本方法的采用外标法定量,检出限为 0.0001 mg·kg⁻¹,回收率为 88.6%—97.5%,相对标准偏差 2.3%.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 凝胶时间

通过 3 次重复试验,凝胶时间为 35.6 s,耗时较短,可能是在水凝胶的形成过程中,OKGM 充当了大分子化学交联剂,使 OKGM 的醛与 CMCS 的氨基发生自发且快速的化学交联反应,所以交联网络结构的形成比较迅速^[7].

2.2 水分蒸发速度

苯醚甲环唑水凝胶的失水率在最初 8 h 急剧增加.在 24 h 内达到了恒定的百分比.24 h 后,所有水凝胶仍保留了 15% 以上的水分.这表明水凝胶可以较好的防止水分蒸发,从而为植物伤口的愈合提供理想的环境.

2.3 溶胀率

溶胀率是评估其对吸收伤口渗出液吸收能力重要参数.样品在前 12 h 显示出良好的溶胀能力,随着时间增加,溶胀率开始下降,36 h 基本达到饱和.OKGM、CMCS 是亲水性聚合物,包含大量的亲水基团,例如—OH、—NH₂和—COOH,自

由水可以进入水凝胶网络,直至最好达到动态的平衡^[8-9].

2.4 电镜扫描后的结构和形态分析

水凝胶在不同放大倍数下的横截面图像如图 1 所示.可以观察到,水凝胶样品具有连续且稳定的三维网络结构,水凝胶样品在不同的放大倍数下均显示出许多微孔,这些微孔均匀地分布在水凝胶内部.CMCS 和 OKGM 之间的交联形成密集多孔的网络,苯醚甲环唑分子可以均匀的分布于各个微孔内部并与之形成较为稳定的水凝胶混合物.

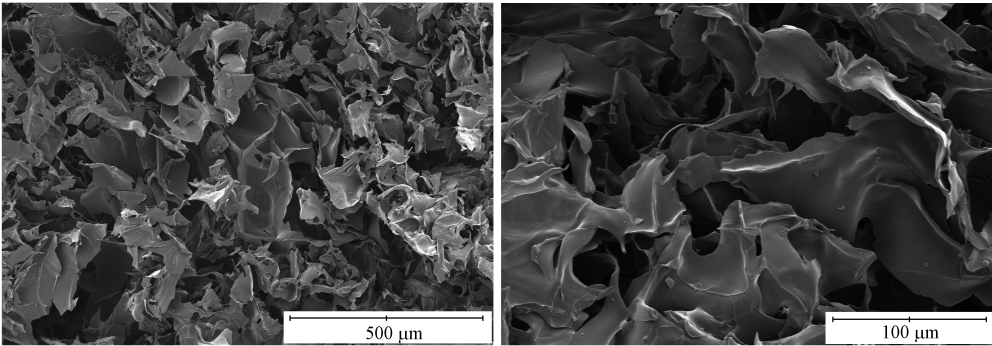


图 1 苯醚甲环唑水凝胶断面在不同放大倍率下的扫描电镜图片
Fig.1 Scanning electron micrographs of difenoconazole hydrogel sections under different magnifications

2.5 苯醚甲环唑凝胶消解动态

根据表 1 数据得出涂抹于树干的苯醚甲环唑的水凝胶消解动态方程为 $y = 597.05e^{-0.312x}$, 相关系数为 $R^2 = 0.9691$, 半衰期为 26.4 d.赵方方等研究苯醚甲环唑悬浮剂在云南和海南两地芒果土壤中的消解,其半衰期分别为 15.3 d 和 12.8 d^[10];毛江胜研究苯醚甲环唑水分散粒剂在梨上的半衰期为 10.3 d^[11];韩丙军研究不同剂型在香蕉上的残留消解动态,结果表明,乳油、悬浮剂、水乳剂等 3 种剂型的苯醚甲环唑以相同的施药浓度施用香蕉上以后,在香蕉中的消解半衰期分别为 13、12、12 d^[12].本试验的苯醚甲环唑水凝胶剂的半衰期可达 26.4 d,显著高于其它剂型,药效得以延长.

表 1 凝胶包裹苯醚甲环唑降解动态
Table 1 Degradation dynamics of gel-coated difenoconazole

时间/d	1	3	7	14	21	28	35	42	49
浓度/(mg·kg ⁻¹)	19.33	17.16	15.81	12.06	10.05	9.56	9.16	8.82	7.85

3 结论 (Conclusion)

氧化魔芋葡聚糖和羟甲基壳聚糖制成的苯醚甲环唑水凝胶制剂的结构形态具有连续稳定的网络结构,苯醚甲环唑可以均匀的分布在微孔结构内.苯醚甲环唑的水凝胶剂凝胶时间较为迅速,且在 24 h 后仍然可以维持 15% 以上的水分,为植物的创伤面提供较为理想的愈合环境.水凝胶在涂抹后的 12 h 以内保持良好的溶胀率,可以吸收植物伤口出现的渗出液,从而保证苯醚甲环唑水凝胶的药效.通过苯醚甲环唑的水凝胶的消解动态研究,发现其水凝胶制剂相比较于其他剂型消解速度减慢,半衰期显著延长,农药可以较长时间的发挥其药效.

参考文献 (Reference)

[1] 何永利,周炜,陶亚春. 高效低毒杀菌剂苯醚甲环唑新工艺研究[J]. 今日农药, 2020, 42(1):20-22.
[2] 张晓茹,叶进刚,王丽珍,等. 40% 苯醚· 肟菌酯悬浮剂的高效液相色谱分析[J]. 中国农药, 2018,134(8):37-41.
[3] 袁会珠,杨代斌,闫晓静,等. 农药有效利用率与喷雾技术优化[J]. 植物保护, 2011,37(5):14-20.
[4] 邓敏.功能性高分子水凝胶的制备与性能研究[D].武汉:湖北大学材料科学与工程学院,2018.
[5] 刘利琴.基于多重弱相互作用构筑的多功能水凝胶的制备及其性能研究 [D]. 兰州:西北师范大学化学化工学院,2019.
[6] 樊李红,易嘉琰,童骏,等.羟丙基壳聚糖/氧化魔芋/氧化石墨烯水凝胶的制备及表征[J]. 武汉大学学报(理学版),2016,62(4):361-367.
[7] YEO Y, GENG W, KOHANE D, et al.Photocrosslinkable hydrogel for myocyte cell culture and injection[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B, 2007,81(2):312-322.
[8] 许槿桢. 羧甲基壳聚糖/氧化葡甘聚糖/三七复合海绵的制备及评价 [D].广州:暨南大学.2018.
[9] 李洁,许槿桢,胡萍,等. 羧甲基壳聚糖/氧化魔芋葡甘聚糖复合海绵的制备与性能评价[J]. 化学与生物工程, 2020,(8):5-12.
[10] 赵方方,郑雪红,吕岱竹,等. 芒果基质土壤中苯醚甲环唑的残留分析[J]. 河南农业大学学报, 2017,(1):115-119.
[11] 毛江胜,陈子雷,李慧冬,等. 毒死蜱、吡虫啉、螺虫乙酯及其代谢物和苯醚甲环唑在梨中的残留消解动态[J]. 农药学报, 2019,21(3):395-400.
[12] 韩丙军,林靖凌,何秀芬. 不同剂型苯醚甲环唑在香蕉中的残留消解动态[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(3):279-280.