

· 研究论文 ·

乙草胺碳酸钙微球的制备方法及其缓释性能研究

钱坤^{*1}, 郭艳珍¹, 臧延琴², 杨倩¹, 徐志峰¹, 厉闾¹, 何林¹

(1. 西南大学植物保护学院, 重庆 400715; 2. 广西田园生化股份有限公司, 广西 南宁 530007)

摘要:为增加乙草胺的持效性,将乙草胺与氯化钙-十二烷基硫酸钠溶液混合后与碳酸钠反应制得乙草胺碳酸钙微球。通过扫描电镜、粒径分布仪及高效液相色谱等对该微球进行了表征,并对制备工艺、载药率及缓释性能等进行了探讨。结果表明:碳酸钙载体晶型主要为方解石结构;常温条件下,当 $n(\text{CaCl}_2):n(\text{Na}_2\text{CO}_3):n(\text{SDS})=1:2:2$ 、搅拌速率为500 r/min、搅拌时间为10 min时,损耗率为0.2%,载药率接近20%;所得碳酸钙微球呈球形,粒径分布窄,且呈正态分布;微球中乙草胺的释放速率随温度和pH值的升高而增加。该微球制备工艺的优化及缓释性能研究结果可为田间定时、定量的释药研究及应用提供参考。

关键词:乙草胺;碳酸钙;微球;缓释性能

DOI:10.3969/j.issn.1008-7303.2013.02.18

中图分类号:TQ450.68

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2013)02-0234-05

Study on preparation of acetochlor calcium carbonate microsphere formulation and its controlled release performance

QIAN Kun^{*1}, GUO Yanzhen¹, ZANG Yanqin², YANG Qian¹,
XU Zhifeng¹, LI Tian¹, HE Lin¹

(1. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Guangxi Tianyuan Biochemical Co., Ltd, Nanning 530007, Guangxi, China)

Abstract:After acetochlor was mixed with calcium chloride and sodium dodecyl sulfate (SDS) solution, acetochlor calcium carbonate microsphere formulation was prepared by making sodium carbonate react upon the mixture. The microsphere formulation was then characterized by SEM, particle size distribution and HPLC, and its preparation process, loading efficiency and release properties were studied. The results showed that the crystal structure of calcium carbonate carriers belonged to calcite structure; with $n(\text{CaCl}_2):n(\text{Na}_2\text{CO}_3):n(\text{SDS})$ as 1:2:2, and stirring speed of 500 r/min, stirring time of 10 min, the loading rate was nearly 20% and loss rate was 0.2% in room temperature. Simultaneously, the surface was spherical with narrow size distribution, which was normal distribution; the release rate of acetochlor from the microsphere formulation increased as the temperature and pH value increased. The results of present study would provide useful information for further investigation and application of timing and quantitative field release of pesticide in the future.

Key words: acetochlor; calcium carbonate; microsphere; controlled release performance

收稿日期:2012-09-09;修回日期:2013-01-27.

作者简介:*钱坤,通信作者(Author for correspondence),男,博士,讲师,主要从事农药制剂加工研究,E-mail:qiankun1982@163.com

基金项目:中国博士后科学基金面上项目(2012M511892);重庆市博士后特别资助(XM2012003);重庆市自然科学基金(cstc2012jjA80015);西南大学博士后基金(111669).

常规剂型农药在靶标上或靶标附近环境中容易受到水解、光解或微生物代谢的作用而使其浓度降至有效浓度以下,因此,即使是药效优良的农药,也需多次喷洒才能保持其对病虫害的有效控制,因而易造成环境中的农药残留问题。根据文献报道^[1-3],常规农药制剂的流失率高达70%~90%,因此开发高效、低毒或无毒、低残留的农药新品种及新剂型一直是植物化学保护领域研究的目标。缓释技术在农药制剂领域的应用,使得农药剂型更加合理,可达到高效、安全、经济和使用方便的目的,因而受到了广泛的关注。

乙草胺作为芽前土壤处理剂,对禾本科杂草具有较好的防治效果,是目前我国使用量最大的一种除草剂,现阶段其主要的剂型有50%和90%乳油、微乳剂和水乳剂^[4-5],而这些制剂在应用过程中易受到光解、水解、土壤降解等环境因素的影响,因此,研究开发新型高效的乙草胺缓释制剂非常必要。

碳酸钙分布广泛、毒性低、与人体及环境相容性好,目前有关其合成方法的研究较多^[6-8],但将其用作为药物缓释载体的研究较少。笔者等^[9]曾研制了井冈霉素碳酸钙缓释剂,载药率达到20%,但尤其是针对水溶性农药进行的研究,且所采用的反相微乳法制备工艺较为繁琐;Ueno等^[6]通过在水中搅拌下使碳酸钠和氯化钙反应制得了脂溶性药物的缓释微球,但因其载药率低、药物损耗高,导致成本过高。

本研究以乙草胺为模式农药,在搅拌条件下,使其增溶于十二烷基硫酸钠-Ca²⁺的水包油型乳液液滴中,通过氯化钙中钙离子和碳酸钠中碳酸根离子的反应生成碳酸钙外壳,将乙草胺包裹制得其碳酸钙缓释微球。通过对制备工艺进行优化及缓释动力学行为的研究,得到制备工艺简单、农药损耗率低、性能优良的乙草胺缓释微球制剂。

1 材料与方 法

1.1 药剂及试剂

92%乙草胺(acetochlor)原药,山东滨州农药有限公司产品;对照药剂90%乙草胺乳油,巴期夫(中国)有限公司产品;碳酸钠、氯化钙和十二烷基硫酸钠(SDS)等试剂为化学纯。

1.2 主要仪器设备

Agilent 1120 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);RISE-2006 粒度分析仪(济南润之科技有限公

司);HITACHI800 扫描电镜(日本日立公司);Philips TM X 射线衍射仪(荷兰飞利浦公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 乙草胺碳酸钙微球的制备 将0.125 g乙草胺原药添加至三口瓶中,与100 mL 50 mmol/L的氯化钙与十二烷基硫酸钠(物质的量之比为1:2)溶液混合,500 r/min、室温(22~25℃)条件下搅拌10 min得到其乳状液。通过滴加200 mL 50 mmol/L的碳酸钠溶液使其反应,制得白色乙草胺微球悬浮液,继续搅拌反应15 min后过滤,经水、甲醇分别洗涤2次,40℃下干燥2 h即得乙草胺碳酸钙微球。按式(1)、式(2)分别计算载药率及损耗率。

$$\text{载药率}/\% = \frac{\text{被负载原药质量}}{\text{微球总质量}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{损耗率}/\% =$$

$$\frac{\text{原药总质量} - \text{被负载原药质量}}{\text{原药总质量}} \times 100 \quad (2)$$

1.3.2 理化性质表征 将一定量的乙草胺碳酸钙微球加入到去离子水中,超声3 min后将样品滴加到硅片上,使其分散均匀,通过扫描电子显微镜(SEM)对其形态结构进行表征;采用粒度分布仪对微球的粒度分布进行评价;通过X射线衍射仪对碳酸钙晶型结构进行表征;将制得的乙草胺碳酸钙微球加入到50 mL 0.5 mol/L的乙二胺四乙酸(EDTA,pH 7.5)中,充分溶解后通过HPLC检测其载药率^[6]。

1.3.3 缓释动力学研究 HPLC检测条件:流动相为V(甲醇):V(水)=85:15的混合溶剂,流速1.0 mL/min;经Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm)不锈钢色谱柱分离;紫外检测器波长230 nm。

25℃、100 r/min条件下,分别称取50 mg载药微球加入到500 mL pH值分别为5、7、9的磷酸缓冲液释放介质中;pH为7、转速100 r/min条件下,分别称取50 mg载药微球加入到500 mL温度分别为25、35、45℃的磷酸缓冲液中。定时吸取0.1 mL各处理悬浮液,经离心后取上层清液,通过HPLC测定其中乙草胺的浓度。每次取样后向释放介质中加入磷酸缓冲液补足体积。乙草胺的累积释放量为已溶出乙草胺的质量与样品中乙草胺实际含量(mg)之比,绘制累积释放曲线。

25℃、转速100 r/min下,分别称取10 mg乙草胺原药加入到500 mL pH值分别为5、7、9的磷酸缓冲液释放介质中;pH为7、转速100 r/min条件下,分别称取10 mg乙草胺原药加入到500 mL温

度分别为 25、35、45 °C 的磷酸缓冲液中。其余处理同载药微球,绘制乙草胺的累积释放曲线。

1.3.4 除草活性研究 自 2012 年 11 月 20 日起,以重庆市潼南县油菜田为供试作物田,针对扬子毛茛、繁缕、雀舌草等一年生杂草进行了随机调查实验。分别设有效成分 525、600、750 和 1 080 g/hm² 4 个药剂处理浓度,每浓度 4 个小区,每小区 25 m²。以清水处理作为空白对照,比较所制备的 20% 乙草胺碳酸钙微球和对照药剂 90% 乙草胺乳油经土壤封闭处理后,在 15、30、45 d 的平均株防效以及 45 d 的鲜重防效^[10]。

2 结果与分析

2.1 乙草胺碳酸钙微球形态及其粒径分布

所制备乙草胺碳酸钙微球的外部形态结构扫描电镜表征结果见图 1。可见,该碳酸钙微球外表呈球形,表面由大量片状结构堆积而成,该结构有利于农药的释放。微球晶型结构 X 射线衍射表征结果如图 2 所示,其晶型主要是方解石结构,为自然界中广泛存在的形态,表明该乙草胺碳酸钙微球制剂为环境友好剂型。

乙草胺碳酸钙微球的粒径分布结果见图 3。从中可看出,该制剂粒径分布相对较窄,主要集中在 1.5 μm 左右并呈正态分布。分布较窄的粒径有利于碳酸钙微球在使用时均匀分散,也有利于药剂的均匀、持续释放。

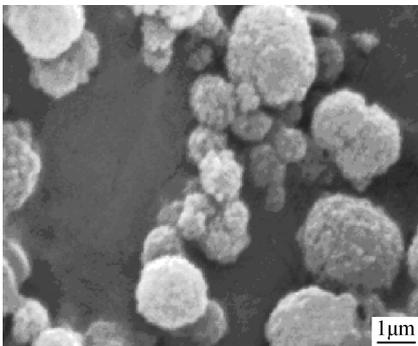


图 1 乙草胺碳酸钙微球的扫描电镜图
Fig. 1 SEM of acetochlor calcium carbonate microsphere formulation

2.2 乙草胺碳酸钙微球的载药率

不同因素对乙草胺碳酸钙微球载药率的影响见表 1。研究表明:在本实验条件下,当 $n(\text{CaCl}_2):n(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 1:2$ 时,载药率最高(19.8%),且原药损耗最少(0.2%)。当搅拌速率为 500 r/min,搅拌

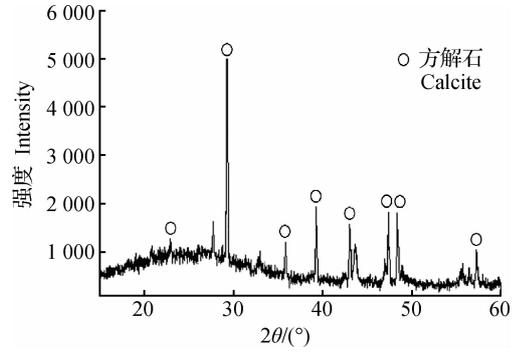


图 2 乙草胺碳酸钙微球的 X 射线衍射图
Fig. 2 XRD of acetochlor calcium carbonate microsphere formulation

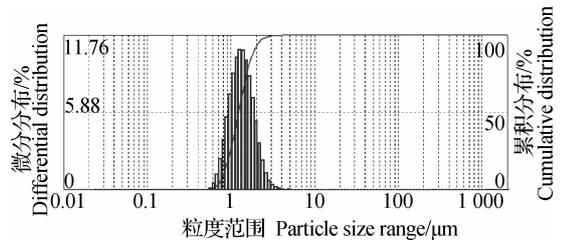


图 3 乙草胺碳酸钙微球的粒径分布图
Fig. 3 Size distribution of acetochlor calcium carbonate microsphere formulation

表 1 不同因素对乙草胺碳酸钙微球载药率的影响
Table 1 The effects of different conditions on loading efficiency of acetochlor microsphere formulation

影响因素 Factors	载药率 Loading rate/%	损耗率 Loss rate/%
$n(\text{CaCl}_2):n(\text{Na}_2\text{CO}_3)$	1:1	15.0
	1:2	19.8
	1:3	19.2
$n(\text{CaCl}_2):n(\text{SDS})$	2:1	16.5
	1:1	19.7
	1:2	19.8
搅拌速率 Stirring rate/(r/min)	200	19.1
	500	19.8
	1 000	18.4
搅拌时间 Stirring time/min	5	18.5
	10	19.8
	15	19.2

时间为 10 min 时,载药率最高,原药损耗最少。当 $n(\text{CaCl}_2):n(\text{SDS}) = 2:1$ 时,载药率较低,仅为 16.5%,有效成分损耗率却高达 3.5%。可能是由于在胶束浓度过低的情况下,乙草胺被乳化的效率

降低,同时,被结合在液滴中的钙离子过少,也使得钙离子与碳酸根离子在反应过程中不能很好地将乙草胺包裹在碳酸钙微球内,从而使其载药率下降。

综上所述,在本实验条件下,为了使所制备乙草胺碳酸钙微球的载药率最高,且原药损耗最少,其最优的制备条件应为: $n(\text{CaCl}_2):n(\text{Na}_2\text{CO}_3):n(\text{SDS})=1:2:2$,搅拌速率为 500 r/min,搅拌时间为 10 min。

2.3 乙草胺碳酸钙微球的缓释动力学

结果见图 4。0~1 d 的累积释放率在 10% 左右,说明有一定量的原药被吸附在碳酸钙载体的表面,在分散到水中后能够迅速释放,从而在一定程度上实现速效的目的。不同 pH 值对缓释动力学的影响见图 4A。第 10 天时,pH = 5、7、9 条件下乙草胺的累积释放率分别为 80%、50%、50%,第 25 天时分别为接近 100%、大于 80% 和小于 80%。表明乙草胺碳酸钙微球可有效延长有效成分的持效期;在酸性条件下由于碳酸钙易分解而使得农药的释放速率加快。通过乙草胺原药在不同 pH 条件下的稳定性实验可知,随着 pH 升高,原药的稳定性逐渐下

降。大约 20 d 时,微球制剂中乙草胺的累积释放浓度逐渐超过了磷酸缓冲液中乙草胺原药的浓度。不同温度对缓释动力学的影响见图 4B。第 10 天时,25、35、45 °C 条件下乙草胺的累积释放率分别为大于 40%、小于 50% 和大于 50%,第 25 天时,分别为大于 80%、大于 90% 和接近 100%,即微球中乙草胺的释放速率随着温度的升高而加快。已有研究认为,常温、中性条件下碳酸钙微球的缓释期一般在 14 d 左右,而本研究中乙草胺碳酸钙微球的缓释期可有效延长至 30 d 左右,且突释率较低。大约 15~25 d 时,微球制剂中乙草胺的累积释放浓度逐渐超过了磷酸缓冲液中乙草胺原药的累积浓度。研究表明,通过碳酸钙载体负载后,乙草胺的稳定性有所提高,释放期显著延长。

2.4 乙草胺碳酸钙微球对杂草的防除效果

结果见表 2。开始阶段,乙草胺乳油对杂草的防除效果好于乙草胺碳酸钙微球缓释剂;而到 45 d 时,微球缓释剂的除草效果明显超过了乳油;表明碳酸钙微球能够很好地延缓环境条件对乙草胺有效成分的影响,从而显著延长其持效期。

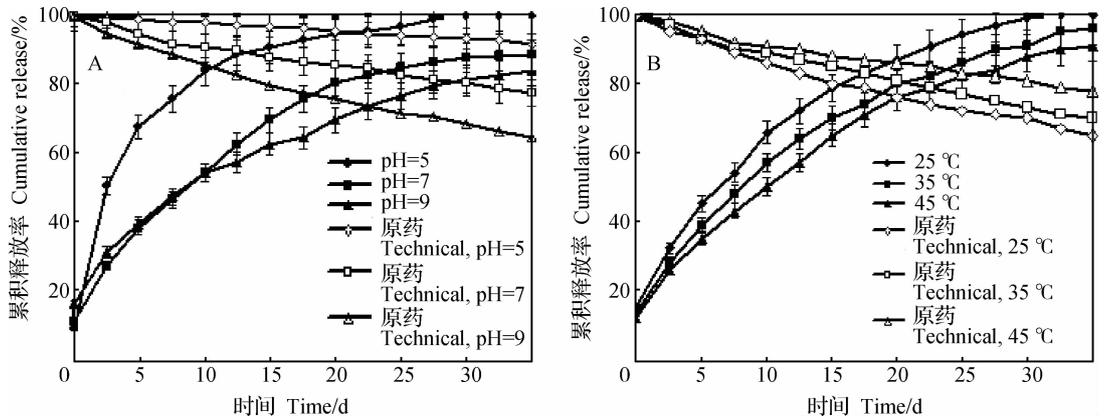


图 4 不同 pH 值(A)及温度(B)对乙草胺碳酸钙微球释放动力学及原药稳定性的影响

Fig. 4 The effects of different pH value (A) and temperature (B) on release performance of acetochlor microsphere formulation and stability of its technical concentrate

表 2 乙草胺碳酸钙微球对杂草的防除效果

Table 2 Control efficacy of acetochlor calcium carbonate microspheres on weed

药剂处理 Treatment	有效剂量 Dose, a. i./ (g/hm ²)	株防效 Weed control efficacy/%			鲜重防效 Fresh weight control efficacy/%
		15 d	30 d	45 d	
20% 乙草胺微球 acetochlor microspheres (200 g/kg)	525	66.20	70.11	77.73	79.73
	600	72.55	79.74	81.44	83.44
	750	79.62	82.04	84.71	88.30
	1 080	82.13	84.31	86.18	92.32

续表(Continued)

药剂处理 Treatment	有效剂量 Dose a. i/(g/hm ²)	株防效 Weed control efficacy/%			鲜重防效 Fresh weight control efficacy/%
		15 d	30 d	45 d	
90% 乙草胺乳油 acetochlor 900 g/L EC	525	73.10	62.12	56.31	58.13
	600	83.66	70.29	62.97	65.27
	750	88.32	80.13	73.23	75.56
	1 080	93.11	84.51	76.43	78.95
CK(清水 water)	—	—	—	—	—

3 结论与讨论

目前针对碳酸钙微球的研究大多集中在其合成方面,仅有少量关于将其用作为缓释载体的研究报道。针对已有研究中碳酸钙微球载药率低、释放期短、成本高等问题^[6-8],本研究探讨了乙草胺碳酸钙微球的制备方法及其最佳条件,通过十二烷基硫酸钠与氯化钙结合将乙草胺包裹后,再与碳酸钠溶液反应制得缓释微球,具有制备方法简单、载药率高(20%)、损耗少(0.2%)、释放期长(30 d)等优点,实验中的最优制备条件为: $n(\text{CaCl}_2):n(\text{Na}_2\text{CO}_3):n(\text{SDS})=1:2:2$,搅拌速率为 500 r/min,搅拌时间为 10 min。碳酸钙微球的包覆可延缓有效成分的过快分解,使有效成分缓慢释放,延长持效期,减少施药次数,从而降低反复施药对环境造成的污染。同时,由于碳酸钙本身在环境中分布广泛,环境相容性好,因而也大大降低了以往有机高分子类载体对环境的污染。大田药效试验表明,施药 30 d 后,乙草胺碳酸钙微球缓释剂也表现出了优于乳油的除草效果。有望通过进一步的优化和研究使其能够尽快应用于农业生产中。

本研究中乙草胺碳酸钙微球制备工艺的优化及缓释性能研究结果对今后田间定时、定量的释药研究及应用具有一定的指导意义。

参考文献(Reference):

- [1] 冷阳. 我国农药制剂的动态及发展趋势[J]. 世界农药, 2010, 32(1): 13-19.
LENG Yang. Trends and development current of Chinese pesticide formulation[J]. *World Pesticide*, 2010, 32(1): 13-19. (in Chinese)
- [2] 谢平. 农药缓释、控释制剂的研究进展[J]. 世界农药, 2010, 32(5): 52-56.

- XIE Ping. The development of the pesticide microcapsule[J]. *World Pesticide*, 2010, 32(5): 52-56. (in Chinese)
- [3] 华乃震. 农药微胶囊剂的加工和进展[J]. 现代农药, 2010, 9(4): 6-11.
HUA Naizhen. Development and recent progress of pesticide microencapsulates[J]. *Modern Agrochemicals*, 2010, 9(4): 6-11. (in Chinese)
- [4] 刘建. 50% 乙草胺水乳剂的研制和开发[J]. 农药, 2006, 45(12): 823-824.
LIU Jian. Preparation of 50% acetochlor emulsion in water[J]. *Agrochemicals*, 2006, 45(12): 823-824. (in Chinese)
- [5] 刘大勇, 赵永和, 赵丽娜, 等. 绿色农药乙草胺微乳剂组成的研究[J]. 江西师范大学学报, 2008, 32(1): 116-119.
LIU Dayong, ZHAO Yonghe, ZHAO Lina, et al. Study on composition of a green pesticide about microemulsion acetochlor [J]. *J Jiangxi Norm Univ*, 2008, 32(1): 116-119. (in Chinese)
- [6] UENO Y, FUTAGAWA H, TAKAGI Y, et al. Drug-incorporating calcium carbonate nanoparticles for a new delivery system[J]. *J Control Release*, 2005, 103(1): 93-98.
- [7] LIU T Y, CHEN S Y, LIU D M, et al. On the study of BSA-loaded calcium-deficient hydroxyapatite nano-carriers for controlled drug delivery[J]. *J Control Release*, 2005, 107(1): 112-121.
- [8] WANG C Y, HE C Y, TONG Z, et al. Combination of adsorption by porous CaCO₃ microparticles and encapsulation by polyelectrolyte multilayer films for sustained drug delivery[J]. *Int J Pharm*, 2006, 308(1-2): 160-167.
- [9] QIAN K, SHI T Y, TANG T, et al. Preparation and characterization of nano-sized calcium carbonate as controlled release pesticide carrier for validamycin against *Rhizoctonia solani*[J]. *Microchim Acta*, 2011, 173(1): 51-57.
- [10] 李颖, 王英姿. 10% 咪唑乙烟酸水剂防除大豆田杂草药效试验[J]. 农药研究与应用, 2008, 12(4): 35-37.
LI Ying, WANG Yingzi. Efficacy of 10% imazethapyr AS against weeds in soybean field[J]. *Agrochem Res Appl*, 2008, 12(4): 35-37. (in Chinese)

(责任编辑: 唐 静)