

印楝油微胶囊的制备与生物活性研究

李拥军¹, 张茂新², 谷文祥¹, 冼国良¹

(¹华南农业大学理学院, 广东广州 510642; ²华南农业大学资源环境学院, 广东广州 510642)

摘要: 以异氰酸酯、聚乙烯醇、丙三醇等为壁材, 利用聚合方法制备了印楝油微胶囊。探讨了反应条件对制备印楝油微胶囊的影响, 并利用正交试验确定了最佳试验条件。结果表明, 质量分数分别为 15% 的聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA) 溶液、20% 甲苯-2, 4-二异氰酸酯 (toluene-2, 4-diisocyanate, TDI)、65% 印楝油 (neem oil)-皂为最佳配比, 此时具有 73.29% 的包埋率。以黄曲条跳甲 *Phyllotreta striolata* 成虫作试虫的生物活性测试显示, 与直接使用印楝油相比, 在一定时间里, 微胶囊化后的印楝油更能减少黄曲条跳甲成虫的落虫量、产卵量和成虫的取食面积。其中, 对成虫落虫量和产卵量的减少可持续 4 d, 对成虫取食面积的减少可至少持续 6 d。微胶囊有效地保持了生物活性, 延长了药效作用时间, 减少了对环境的污染。

关键词: 微胶囊; 印楝油; 生物活性

中图分类号: S482.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2006)02-0053-03

Preparation of Neem Oil Microcapsule and Its Bioactivity

LI Yong-jun¹, ZHANG Mao-xin², GU Wen-xiang¹, XIAN Guo-liang¹

(¹ College of Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China; ² College of Resources and Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The polymeric neem oil microcapsule by using toluene-2,4-diisocyanate (TDI), polyvinyl alcohol (PVA), glycerol as wall material was produced. The influence factor on the microcapsule reaction was investigated by using the oahogonal experimental design. The optimal conditions of preparing stable solid microcapsule were obtained. The result indicated that the excellent factors were w = 15% of PVA, w = 20% of TDI and w = 65% of neem oil. The performance of neem oil microcapsule was analysed preliminarily. The covered effect was tested by assay. This microcapsule had high oil content of 73.29%. Compared with neem oil, the number of larvae and eggs of *Phyllotreta striolata* and the feeding area were decreased comparatively after treating with neem oil microcapsule.

Key words: microcapsule; neem oil; bioactivity

印楝油具有很强的杀虫、拒食、抑制害虫生长、延缓昆虫产卵、抑制昆虫激素分泌、降低昆虫生育能力和适合度等生理活性, 此外, 还具有广泛的药用价值, 如抗疟疾、退热、驱虫、抑制动物和人体内的真菌生长、抗生育能力等^[1-9]。但印楝油中的主要成分印楝素 (azadirachtin) 对光、热敏感, 在见光遇热时极易分解^[4], 从而使其应用受到极大的限制。如果将其包覆在微胶囊囊体内, 可以使印楝油透过半封闭的囊壁缓慢释放, 保持主要成分的稳定性, 延长其活性

作用时间, 从而达到植物保护的目的^[10]。为此笔者探讨了印楝油微胶囊的制备工艺条件及壁材配比, 并以黄曲条跳甲 *Phyllotreta striolata* 成虫为试验对象进行了生物测定。为印楝油微胶囊的制备及其在无公害防治中的应用提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA)、甲

收稿日期: 2004-11-08

作者简介: 李拥军 (1980-), 男, 硕士研究生; 通讯作者: 谷文祥 (1954-), 男, 教授, E-mail: wenxgu@scau.edu.cn

基金项目: 广东省科技计划项目 (2003C20504)

苯-2,4-二异氰酸酯 (toluene-2,4-diisocyanate, TDI) 为试验试剂, 氢氧化钠、无水乙醚、丙三醇、石油醚、聚乙二醇、海藻酸钠均为分析纯; 印楝油为泰国产 $w=1\%$ 的印楝素乳油。

1.1.2 供试昆虫 黄曲条跳甲成虫, 采自华南农业大学试验基地。

1.2 试验方法

1.2.1 印楝油微胶囊制备 参照文献[11], 在室温下将印楝油加入装有 TDI 的烧瓶中, 搅拌混合 20 min, 搅拌下加入 $w(\text{PVA})=15\%$ 的水溶液, 形成水包油悬浮液, 少量丙三醇被缓慢滴加至上述溶液中, 加完后继续搅拌。移烧瓶于温水浴中, 降低搅拌速度, 继续搅拌一定时间, 冷却至室温, 调节溶液至微酸性, 静置, 过滤, 干燥, 得微胶囊颗粒。

1.2.2 最佳配料比例的确定 将 1.2.1 中的主要因素——PVA 的浓度、PVA 溶液的体积、TDI 的加入量及印楝油的量设为 4 个可变的因素, 保持反应时间、反应温度及丙三醇用量在试验中不变, 按照 $L_9(3^4)$ 正交试验表^[12] 设计正交试验 (试验号 1~9), 每个配比设 3 次重复, 通过表面油含量及包埋率的测定, 对壁膜的形成情况及微胶囊的质量进行评价 (即表面油含量越低, 包埋率越高, 微胶囊的包覆效果则越好), 以获得最佳配比。

1.2.3 表面油及包埋率的测定 表面油测定: 准确称取 1.000 0 g 样品平铺于直径为 10 cm 的布氏漏斗中, 在抽滤的同时, 用 30 mL 石油醚洗涤样品, 收集洗涤液, 回收石油醚, 置于干燥器中, 至恒质量, 该洗涤油质量即为表面油质量。每个配比取 3 次试验的平均值。表面油质量分数 = (洗涤油质量/样品质量) $\times 100\%$;

微胶囊产品含油率测定: 准确称取样品 1.000 0 g, 加 20 mL 热水 (30~40 $^{\circ}\text{C}$), 充分溶解, 以 10 mL 乙醚萃取, 重复 3 次, 合并乙醚液, 无水硫酸镁干燥, 水浴蒸去乙醚, 残留物置干燥器中至恒质量, 称得总油质量。每配比取 3 次试验的平均值。包埋率 = [(总油质量 - 表面油质量分数)/总油质量] $\times 100\%$ 。

1.2.4 生物活性测定 (1) 非选择性试验: 将菜心 *Brassicae parachinensis* 苗 (具 3~4 片真叶) 栽种于塑料杯 (6 cm $\times$ 7 cm) 中, 每杯 1 株。将细沙过 40 目筛后均匀地铺在菜心苗茎基部周围, 厚度为 2~3 cm。把相当于含有 20 μL 印楝油 ($w=1\%$) 的微胶囊均匀洒在菜心苗茎基部, 将菜苗放入养虫笼 (40 cm $\times$ 40 cm $\times$ 40 cm) 中, 每笼 6 杯。另设 20 μL 的印楝油 ($w=1\%$) 为对照。将黄曲条跳甲成虫 (试验前饥饿 3 h) 接入养虫笼, 每笼 15 对, 重复 3 次。每 2 d 调查菜苗上的成虫数, 用九宫方格图版记录成虫取食面

积, 用张茂新等^[13] 设置的装置调查产卵量, 调查 3 次。(2) 选择性试验: 试验所用的菜心苗、印楝油微胶囊 (处理组) 和印楝油 (对照组) 的浓度、用量和处理方法均同非选择性试验。将处理和对照菜心苗各 3 杯放入同一养虫笼 (40 cm $\times$ 40 cm $\times$ 40 cm) 内, 处理和对照相间排布。将黄曲条跳甲成虫 (试验前饥饿 3 h) 接入养虫笼, 每笼 15 对, 重复 3 次。调查方法同非选择性试验。

以上生物活性试验温度均为 (26 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$, 试验数据均用 SAS 8.01 版统计软件进行数据处理和分析。

2 结果与分析

2.1 最佳条件的获得

正交试验 (表 1) 结果显示: 不同配比试验 (即不同试验号) 对印楝油的包覆效果有很大的影响, 其中, 与 TDI 和印楝油的质量比例有直接的关系。当按试验号 7 的比例进行时, 得到的微胶囊质量最大, 表面油含量最低, 产品包埋率达到最高, 为 73.29%, 且形成的微胶囊外形好。此时为制备印楝油微胶囊的最佳条件, 即 15% (w) 的 PVA 溶液、65% (w) 的印楝油和 20% (w) 的 TDI 在室温下搅拌反应。取试验号 7 所得的微胶囊进行生物活性测定。

表 1 不同配比的壁材制备印楝油微胶囊正交试验结果
Tab. 1 Results of orthogonal matrix experiment with different proportional wall material for preparation of neem oil microcapsulation

试验号 number	m (微胶囊 microcapsulation)/ g	w (表面油 oil)/ %	包埋率 embed rate/ %	微胶囊状态 state of microcapsulation
1	0.90	11.88	63.00	成球
2	1.32	11.68	64.23	成球
3	1.50	17.17	52.64	成球
4	1.83	20.66	53.88	不成球
5	1.39	10.54	68.02	成球
6	1.65	20.48	54.69	不成球
7	2.05	6.49	73.29	成球
8	2.01	25.94	43.60	不成球
9	1.70	10.10	54.70	成球

2.2 印楝油微胶囊对黄曲条跳甲成虫落虫量的影响

洒有相当于含有 $w=1\%$ 印楝油的微胶囊的菜心苗上的黄曲条跳甲成虫数量明显比洒有 $w=1\%$ 印楝油的菜苗上的少 (表 2)。在非选择性试验中, 处理 2 d 后, 处理组成虫数量与对照组差异显著; 在选择性试验中, 处理 4 d 后, 成虫数量仍与对照组差异显著。说明印楝油微胶囊对黄曲条跳甲成虫落虫量的影响要大于相同含量的印楝油。

表2 印楝油微胶囊对黄曲条跳甲成虫落虫量的影响

Tab.2 Influence of neem oil microcapsulation on the number of *P. striolata* adult 头·株⁻¹

t/d	非选择性试验 no-choice experiment		选择性试验 choice experiment	
	处理	对照	处理	对照
	treatment	control	treatment	control
2	3.00 ± 0.00 *	7.67 ± 1.33	3.00 ± 0.58 *	6.67 ± 1.45
4	6.00 ± 2.52	9.00 ± 2.52	6.33 ± 2.19 *	14.00 ± 1.00
6	11.37 ± 2.67	13.67 ± 2.73	11.67 ± 2.37	22.33 ± 3.33

2.3 印楝油微胶囊对黄曲条跳甲产卵量的影响

黄曲条跳甲在洒有相当于含有 $w = 1\%$ 印楝油的微胶囊培养杯中产卵量少于洒有 $w = 1\%$ 的印楝油培养杯(表3)。在非选择性试验和选择性试验中,处理4 d后,处理组成虫产卵量仍比对照组少,说明印楝油微胶囊对黄曲条跳甲产卵量的影响要大于相同含量的印楝油。

表3 印楝油微胶囊对黄曲条跳甲产卵量的影响

Tab.3 Influence of neem oil microcapsulation on the number of egg of *P. striolata* 粒·株⁻¹

t/d	非选择性试验 no-choice experiment		选择性试验 choice experiment	
	处理	对照	处理	对照
	treatment	control	treatment	control
2	0.88 ± 0.30 *	2.11 ± 0.56	0.33 ± 0.17 *	1.67 ± 0.44
4	2.11 ± 0.65 *	5.00 ± 0.62	1.44 ± 0.47 *	3.89 ± 0.65
6	7.22 ± 1.39	9.89 ± 1.03	7.11 ± 0.86	11.56 ± 1.02

2.4 印楝油微胶囊对黄曲条跳甲成虫取食量的影响

与 $w = 1\%$ 的印楝油相比,经微胶囊处理后黄曲条跳甲成虫取食量明显减少(表4)。在非选择性试验和选择性试验中,处理6 d后,处理组成虫的取食量均与对照组差异显著。

表4 印楝油微胶囊对黄曲条跳甲成虫的取食面积的影响

Tab.4 Influence of neem oil microcapsulation on the feeding area of *P. striolata* adult mm²

t/d	非选择性试验 no-choice experiment		选择性试验 choice experiment	
	处理	对照	处理	对照
	treatment	control	treatment	control
2	4.44 ± 9.12 *	157.56 ± 5.34	79.89 ± 7.34 *	138.67 ± 11.21
4	115.89 ± 4.73 *	162.11 ± 8.88	88.67 ± 7.29 *	147.22 ± 7.30
6	177.67 ± 11.77 *	229.22 ± 13.65	147.89 ± 12.25 *	231.89 ± 16.38

3 讨论与结论

已有研究表明印楝素乳油对黄曲条跳甲成虫有忌避作用,并能抑制其自然种群的发展^[14]。但由于印楝油中的有效成分容易挥发,在大田环境中容易分解,致使其有效作用时间较短,需在短期内多次施药,经济成本高而不易推广使用。将其做成微胶囊,使得有效成分缓慢释放,不仅可以延长其有效作用

时间,而且对环境保护也具有重要意义。

采用TDI等为壁材原料,通过正交设计,找出最佳条件和配比,在温和易控的反应条件下,经聚合制得外观为球形的印楝油微胶囊。印楝油的包埋率达到73.29%。微胶囊的最佳制备条件为:质量分数分别为15%的PVA溶液,65%的印楝油和20%的TDI在室温下搅拌反应。生物活性研究表明,使用印楝油微胶囊比单独使用印楝油更能减少黄曲条跳甲成虫的落虫量、产卵量和成虫的取食面积,其中,对成虫落虫量和产卵量的减少可持续4 d,对成虫取食面积的减少可至少持续6 d。微胶囊有效地保持了印楝油的生物活性,延长了药效作用时间。

参考文献:

- [1] BUTTERWORTH J H, MORGAN E D. Investigation of the locust feeding inhibitory of the seed of the neem tree *Azadirachta indica* [J]. *Insect Physiol*, 1991, 17: 969-977.
- [2] 荣晓东, 徐汉虹, 赵善欢. 植物性杀虫剂印楝的研究进展[J]. *农药学报*, 2000, 2(2): 9-14.
- [3] 李晓东, 赵善欢. 印楝素对昆虫的毒理作用机制[J]. *华南农业大学学报*, 1995, 17(1): 118-122.
- [4] 李永红, 杨光伟. 印楝素定量技术研究进展[J]. *农药*, 2003, 42(12): 15-17.
- [5] 卢川川, 谢荣坚, 钟浩泉, 等. 印楝素对家白蚁趋向和取食的影响[J]. *白蚁科技*, 1998, 15(1): 18-21.
- [6] MORDUE A J, BLACKWELL A. Azadirachtin: an update [J]. *Insect Physiol*, 1993, 39(11): 903-924.
- [7] SCHMUTTERER H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica* [J]. *Annu Rev Entomol*, 1990, 35: 271-297.
- [8] SUBRAHMANYAM B. Azadirachtin—a naturally occurring insect growth regulator [J]. *Proc Indian Acad Sci*, 1990, 99: 277-288.
- [9] KOUL O. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica* [J]. *Bot*, 1990, 68: 1-11.
- [10] 宋健, 陈磊, 李效军. 微胶囊化技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 8-11.
- [11] 朱正昌, 刘国华, 孙苗喜. 杀螟硫磷微胶囊制剂制造方法: 中国, CN1063017[P], 1992-07-29.
- [12] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 382.
- [13] 张茂新, 梁广文. 黄曲条跳甲卵分离器的设计 and 应用[J]. *昆虫知识*, 2000, 37(3): 173-174.
- [14] 侯有明, 庞雄飞, 梁广文, 等. 印楝素乳油对黄曲条跳甲种群控制作用评价[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(6): 959-962.

【责任编辑 李晓卉】