

印楝素悬浮剂的制备及拒食活性测定

江定心, 徐汉虹, 杨晓云

(农药与化学生物学教育部重点实验室, 华南农业大学 昆虫毒理研究室, 广东 广州 510642)

摘要:研究了阴离子和非离子表面活性剂复配体系对印楝素悬浮剂悬浮率的影响, 采用水基悬浮剂悬浮率、分散性、粘度、粒度等作为控制指标, 确定了 $w = 2\%$ 印楝素悬浮剂的最佳配方: 表面活性剂 ($w = 10\%$) 为阴离子表面活性剂农乳 500、木质素磺酸钙和非离子表面活性剂农乳 600 以质量比 2:1:2 复配; 增稠剂为 $w = 1\%$ 白炭黑; 防冻剂为 $w = 3\%$ 的乙二醇; 抗泡剂为 $w = 1\%$ 的硅酸; 其余为去离子水. 测定了 $w = 2\%$ 印楝素悬浮剂和 $w = 0.3\%$ 印楝素乳油对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 的拒食活性, 结果表明, 2 种印楝素制剂对斜纹夜蛾的拒食活性相当.

关键词:印楝素悬浮剂; 配方研究; 拒食活性

中图分类号: S481.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2007)04-0047-04

Development of Azadirachtin Suspension Concentrate and its Antifeedant Effect Against *Spodoptera litura*

JIANG Ding-xin, XU Han-hong, YANG Xiao-yun

(1 Key Lab of Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education,

Lab of Insect Toxicology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The suspensibility to the azadirachtin suspension concentrate in compound system of anionic and nonionic surfactant was studied. The quality control index included suspensibility, viscosity, particle size, and dispersity to obtain the best composition. The emulsifier was the mixture of $m(500^{\#}) : m(\text{calcium lignin sulfonate}) : m(600^{\#}) = 2 : 1 : 2$, occupied 10% mass; the thickening agent was white carbon, occupied 1% mass; the anti-freezing agent was ethylene glycol, occupied 3% mass; the anti-foam agent was silicic acid, occupied 1% mass; the other component was water. Bioassays of $w = 2\%$ azadirachtin SC and $w = 0.3\%$ azadirachtin EC on the third instars larvae of *Spodoptera litura* were conducted. The results were showed that the antifeedant effect of $w = 2\%$ azadirachtin SC was equal to $w = 0.3\%$ azadirachtin EC.

Key words: azadirachtin suspension concentrate; formulation research; antifeedant activity

印楝素是具有较高拒食活性的植物源农药之一, 对 10 目 180 多种害虫有效^[1-3]. 目前, 印楝素已有多款市售产品, 在这些产品中多数是乳油, 其中的二甲苯对环境有污染风险. 根据印楝素 (包括其他植物性杀虫剂) 的特异性作用方式、药剂性质以及它们在昆虫体靶标部位的沉积要求和昆虫的行为特点, 设计适宜的剂型, 使药剂在田间有利于沉积分布

在昆虫体作用靶标部位, 可更有效地发挥这类药剂的作用^[4]. 笔者将印楝素研究开发成不用或少用有机溶剂的环保农药制剂——水基悬浮剂, 并在室内进行了 $w = 2\%$ 印楝素悬浮剂和 $w = 0.3\%$ 印楝素乳油对斜纹夜蛾的拒食活性的测定, 旨在为更有效地发挥印楝素防虫效果提供技术依据.

收稿日期: 2006-09-25

作者简介: 江定心 (1976—), 男, 博士; 通讯作者: 徐汉虹 (1961—), 男, 教授, 博士, E-mail: hxxu@scau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (20377015, 30671386); 华南农业大学资源环境学院院长基金

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

$w = 40\%$ 印楝素 (azadirachtin) 干粉, 华南农业大学昆虫毒理研究室制备^[5]; $w = 0.3\%$ 印楝素乳油, 成都绿金生物科技有限责任公司生产; 乳化剂 Tween-20、Tween-80、OP-10、Span-20、TX-10、S-960、农乳 2000 (2000[#])、农乳 100 (100[#])、农乳 600 (600[#])、C108、农乳 1212 (1212[#])、农乳 1210 (1210[#])、十二烷基苯磺酸钠 (DBS-Na)、9536、木质素磺酸钙、农乳 0206 (0206[#])、农乳 2201B (2201B[#])、农乳 2201 (2201[#])、木质素、T401、Span-80、农乳 700 (700[#])、农乳 500 (500[#]), 均为工业品; 白炭黑、乙二醇、硅酸及其他试剂均为化学纯。

1.2 供试虫源

斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 属鳞翅目、夜蛾科, 由中山大学生命科学院提供。

1.3 仪器

小型砂磨机 (实验室自制): 不锈钢料筒直径 50 mm, 容积 500 mL, 不锈钢分散盘直径 40 mm, 分散盘转速 1 400 r/min; MP1100 型电子天平 (上海天平仪器厂); NDJ-4 型粘度计 (上海天平仪器厂); OLYMPUS BH-2 显微镜 (OLYMPUS 公司); 800 型离心沉淀器 (上海鑫昌医疗器械厂); LI-3000 叶面积测定仪 (美国 Lincoln 公司); WK-400B 高速粉碎机 (山东省青州市精诚机械公司)。

1.4 研究方法

1.4.1 流点的测定 先准确配制 $w = 5\%$ 的乳化剂的水溶液, 取经高速粉碎机粉碎的、过 100 目筛的 10~20 g 印楝素干粉, 用刻度移液管将配好的溶液慢慢滴加到细粉末上, 同时不断用钢铲搅拌, 使其形成糊状。当糊状物刚形成液滴滴下时, 记下所用溶液的体积, 计算出单位质量所需溶液的体积, 即为糊状物的流点。每处理设 3 个重复。

1.4.2 试样配制 按照配方设计方案进行称量, 加入砂磨机中研磨, 研磨介质玻璃砂直径 0.8~1.0 mm, 物料质量比为 100:160, 通过镜检, 当粒径全部在 4 μm 以下时即成。

1.4.3 粘度的测定 用 NDJ-4 型粘度计, 按照使用说明, 分别测定各试样悬浮液的粘度。

1.4.4 粒度的测定 取 1 mL 印楝素悬浮液于烧杯中, 用去离子水稀释 250 倍, 搅拌后取一滴均匀稀释液滴在载玻片上, 加上盖玻片在显微镜下观察 (15 \times 50), 每旋转 120 $^\circ$ 角作为一个视野, 共计数 3 个视野, 然后计算所有观察到的粒子粒径的算术平均值。

1.4.5 悬浮率测定方法 按联合国粮食与农业组织 (FAO) 的 MT 160 水悬浮剂的悬浮率测定方法^[6] 测定。按下式计算悬浮率:

$$\text{悬浮率} = \frac{10}{9} \times \frac{100(C-Q)}{C} = \frac{111(C-Q)}{C}$$

式中: C 为配制悬浮液所取样品中有效成分质量, g; $C = ab/100$, a 为经过适当加速贮存之前或之后测定的样品有效成分质量分数, %; b 为取样的质量, g; Q 为留在量筒的 25 mL 悬浮液中有效成分的质量, g。

1.4.6 拒食活性的测定 将新鲜甘蓝叶片用打孔器打成直径为 2 cm 的叶碟。取适量待测样品用水配成所需浓度的药液, 浸渍叶碟 3 s, 室温晾干后放入垫有滤纸 (加水保湿) 的 9 cm 培养皿中, 每个培养皿放入 2 片处理叶碟, 接入 2 头已饥饿 6 h 的斜纹夜蛾 3 龄幼虫, 每浓度设 5 次重复, 用自来水作空白对照, $w = 0.3\%$ 印楝素乳油作药剂对照。分别在 24、48 和 72 h 用叶面积测定仪测定剩余叶面积, 据此计算取食叶面积和拒食率。拒食率 = (对照组取食叶面积 - 处理组取食叶面积) / 对照组取食叶面积 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 流点测定结果

为了给体系选择一个合适的乳化分散剂, 测定了 23 种乳化剂对该悬浮体系的流点, 以去离子水作为对照, 结果见表 1。

表 1 表面活性剂流点测定结果

Tab. 1 Flow point of surfactant

乳化剂 surfactant	流点 ¹⁾ flow point/(mL \cdot g ⁻¹)
Tween-20	0.534 4 \pm 0.009 9 m
Tween-80	0.591 6 \pm 0.009 8 jk
OP-10	0.551 2 \pm 0.004 7 l
Span-20	0.637 2 \pm 0.018 1 i
TX-10	0.584 2 \pm 0.012 5 k
S-960	0.716 0 \pm 0.001 0 g
2000 [#]	0.588 6 \pm 0.007 9 jk
100 [#]	0.644 6 \pm 0.009 9 i
600 [#]	0.592 4 \pm 0.004 0 jk
C108	0.719 2 \pm 0.005 1 g
1212 [#]	0.853 6 \pm 0.009 5 c
DBS-Na	0.588 4 \pm 0.009 2 jk
1210 [#]	0.758 4 \pm 0.010 4 f
9536	1.012 6 \pm 0.029 9 b
木质素磺酸钙 calcium lignin sulfonate	0.783 2 \pm 0.006 9 c
0206 [#]	0.818 0 \pm 0.005 3 d
2201B [#]	0.813 0 \pm 0.007 2 d
2201 [#]	0.844 6 \pm 0.005 9 c

续表 1

乳化剂 surfactant	流点 ¹⁾ flow point/(mL · g ⁻¹)
木质素 lignin	0.767 8 ± 0.006 8 ef
T401	0.680 2 ± 0.007 2 h
Span-80	0.674 8 ± 0.005 8 h
700 [#]	0.605 8 ± 0.006 5 j
500 [#]	0.430 2 ± 0.005 3 n
去离子水 water	1.252 2 ± 0.038 5 a

1) 本列数据后具相同字母者表示在 5% 水平上差异不显著 (DMRT 法)

确定阴离子乳化剂农乳 500、木质素磺酸钙和非离子表面活性剂农乳 600 为该悬浮体系的乳化分散剂。

2.2 配方筛选结果

在研制农药悬浮剂时,通常用阴离子表面活性

剂和非离子表面活性剂协同作用来达到良好的乳化分散效果。因此,对 500[#]、木质素磺酸钙和 600[#]用量以及其他必须的助剂用量进行正交试验设计,因素水平见表 2,试验结果见表 3。

表 2 因素水平表(I)

Tab. 2 Factors and levels of components in suspension(I)

因素水平 level	w/%				
	A 500 [#]	B 600 [#]	C 黄原胶 xanthic gum	D 木质素磺酸钙 calcium lignin sulfonate	E 乙二醇 ethylene glycol
1	6	2	1	0	5
2	8	4	0	2	3
3	10				
4	12				

表 3 正交试验优化设计结果(I)

Tab. 3 Orthogonal design(I)

试验号 number	A	B	C	D	E	性能指标 index of capability			
						粘度 viscosity / (mPa · s)	粒径 particle size/μm	悬浮率 suspensibility/%	分散性 dispersity
T-1	1	1	1	1	1	351.0	3.15	81.26	优
T-2	1	2	2	2	2	675.5	2.37	91.00	良
T-3	2	1	2	1	2	516.0	2.27	83.24	优
T-4	2	2	1	2	1	600.5	3.39	73.51	良
T-5	3	1	2	2	1	513.0	4.15	77.29	优
T-6	3	2	1	1	2	658.0	4.35	72.49	良
T-7	4	1	1	2	2	964.5	3.84	70.57	良
T-8	4	2	2	1	1	897.0	4.50	67.61	良
\bar{y}_{j1}	86.13	78.09	74.46	76.15	74.92				
\bar{y}_{j2}	78.38	76.15	79.79	78.09	79.33				
\bar{y}_{j3}	74.89								
\bar{y}_{j4}	69.09								
极差 range	17.04	1.94	5.33	1.94	4.41				
折算极差 correction range	7.67	1.38	3.78	1.38	3.13				

由表 3 可知,几种助剂对印楝素悬浮剂悬浮率的影响次序为 A > C > E > B = D,其最佳配方为 A₁B₁C₂D₂E₂。乳化剂的用量增加,悬浮剂的悬浮率反而降低,且黄原胶对体系分散性和流动性影响较大,所以对 500[#]和 600[#]的用量进行调整,且增稠剂用白炭黑代替黄原胶,在木质素磺酸钙和乙二醇不变的情况下,进行第 2 次正交试验设计,因素水平见表 4,试验结果见表 5。由表 5 可知,最佳配方组合为 A₁B₂C₂。

2.3 最终配方

根据上面的试验,选定最终配方为:w(印楝素干粉) = 5%;w(500[#]) = 4%;w(600[#]) = 4%;w(木质

表 4 因素水平表(II)

Tab. 4 Factors and levels of components in suspension(II)

因素水平 level	w/%		
	A 500 [#]	B 600 [#]	C 白炭黑 white carbon
1	4	2	0
2	6	4	1

表5 正交试验设计结果(II)

Tab.5 orthogonal design(II)

试验号 number	A	B	C	性能指标 index of capability			
				粘度 viscosity/ (mPa·s)	粒径 particle size/ μm	悬浮率 suspensibility/%	分散性 dispersity
T-1	1	1	1	426.5	3.26	81.24	优
T-2	1	2	2	317.0	2.17	89.31	优
T-3	2	1	2	439.5	2.04	85.67	优
T-4	2	2	1	348.5	3.59	80.26	优
\bar{y}_{j1}	85.28	83.46	80.75				
\bar{y}_{j2}	82.97	84.79	87.49				
极差 range	2.31	1.33	6.74				

素磺酸钙) = 2% ; w (白炭黑) = 1% ; w (乙二醇) = 3% ; w (硅酸) = 1% , 去离子水补至 100% . 其性能指标为: 粘度 301.5 mPa·s ; 粒度 2.29 μm ; 悬浮率 91.28% ; pH4.7 ; 在水中自由分散, 立即形成细的、不透明悬浮液. 印楝素悬浮剂粒径放大 600 (15 × 40) 倍显微镜照片见图 1.

2.4 对斜纹夜蛾的拒食活性

$w = 2\%$ 印楝素悬浮剂对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的拒食作用结果见表 6. 由表 6 可以看出, $w = 2\%$ 印楝素悬浮剂对斜纹夜蛾幼虫有较强的拒食活性, 其效果与 $w = 0.3\%$ 印楝素乳油相当.

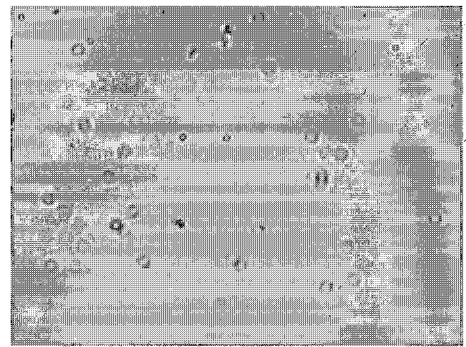


图1 印楝素悬浮剂显微照片(600×)

Fig.1 Microphotogram of particle size distribution(600 ×)

表6 印楝素悬浮剂对斜纹夜蛾拒食活性测定结果

Tab.6 Antifeedant effect of azadirachtin SC against *Spodoptera litura*

处理 treatment	t/h	回归方程 inear regress equation	相关系数 correlation coefficient(r)	AFC ₅₀ / (g·mL ⁻¹)	AFC ₅₀ 95% 置信区间 95% confidence interval of AFC ₅₀
$w = 2\%$ 印楝素悬浮剂	24	$y = 5.7685 + 1.1268x$	0.9826	0.21	0.13 ~ 0.33
$w = 2\%$ azadirachtin SC	48	$y = 5.4504 + 1.1848x$	0.9915	0.42	0.31 ~ 0.56
	72	$y = 5.7088 + 1.1442x$	0.9850	0.24	0.16 ~ 0.36
$w = 0.3\%$ 印楝素乳油	24	$y = 5.7285 + 1.4012x$	0.9821	0.30	0.22 ~ 0.41
$w = 0.3\%$ azadirachtin EC	48	$y = 5.4620 + 1.0516x$	0.9980	0.36	0.26 ~ 0.51
	72	$y = 5.5941 + 1.0429x$	0.9883	0.27	0.18 ~ 0.41

3 讨论

悬浮剂是以水为分散介质, 将原药、助剂(润湿分散剂、增稠剂、稳定剂、pH 调节剂和消泡剂等)经超微粉碎而制得的农药剂型^[7]. 目前, 农药剂型已经朝着水性化、粒状化、缓释、多功能、省力化和环保型的方向发展, 因此水悬浮剂等新剂型将越来越受到人们的重视. 本研究将植物源农药印楝素加工成以水为基质的悬浮剂, 使之真正成为无公害生物农药.

本研究表明, 增稠剂对印楝素悬浮剂的悬浮率

影响不明显, 但对粘度和分散性能的影响较大, 这在研究原药含量不高农药的悬浮剂时都会遇到同样的问题, 因此在研究原药含量不高的农药悬浮剂时, 增稠剂的正确选择也是悬浮剂能否研究成功的关键. 研究表明, 选择良好的阴离子表面活性剂, 再配合使用适当的非离子表面活性剂, 对克服悬浮体系粒子的絮凝聚集、沉降分层、奥氏(Ostwald)熟化有良好的效果^[8]. 本研究也表明, 乳化分散剂的选择过程中, 只用单一的表面活性剂, 印楝素悬浮剂的悬浮率难提高, 采用阴离子和非离子表面活性剂的复配是印

(下转第 55 页)