

doi:10.11937/bfyy.20170280

5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂的配方研制

郑宜红, 陈 新

(武汉轻工大学 生物与制药工程学院, 湖北 武汉 430023)

摘 要:以蛇床子素原药为试材,以外观、热贮冷贮稳定性、粒径、pH、分散性为评价指标,考察水乳剂配方中的乳化剂、增稠剂、防冻剂的最佳用量及最佳制备工艺,研制新型环境友好型农药制剂5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂。结果表明:5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂的较优处方为蛇床子素 4.93%、多杀菌素 0.07%、丙酮 5%、Tween-20 1.5%、Span-20 3.5%、黄原胶 0.15%、乙二醇 4%、有机硅油 0.2%,超纯水补至100%;该处方制备所得水乳剂热贮冷贮稳定,各项指标均符合要求,模拟室内粮仓试验结果表明对谷蠹、玉米象、赤拟谷盗的防治效果显著;用该处方工艺制备所得5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂的各项指标均符合质量标准,且具有一定的应用价值和经济效益。

关键词:蛇床子素;多杀菌素;水乳剂;处方

中图分类号:S 482. +99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)18-0049-06

我国是人口大国,粮食储备工作一直是我国粮食工作的重点。储粮虫害问题是世界粮食储藏中的一个重要问题^[1]。目前,国内外市场对我国粮食卫生的要求也越来越高,这就要求寻找出一种更加科学的方法来达到治理虫害的目的^[2]。

水乳剂是由不溶于水的液体原药或固体原药溶于有机溶剂混合制得的液体,再与乳化剂混合所形成的微小液滴分散于水中形成粒径为数微米的乳状液体制剂^[3]。与传统乳油相比,水乳剂用水代替了有机溶剂,制剂的成本降低,而且无火灾危险,对人、畜和植物低毒,对环境安全,随着配方技术的发展,经济上的竞争力日益增强,商品水乳剂品种日益增多^[4]。同时,开发一个性能较优且环保安全的农药新品种,需要大量的时间、人力和

物力的投入。农药复配的优势就很明显,复配农药可以扩大防治谱、降低用药量和生产成本,减缓有害生物对其抗药性。

蛇床子为伞形科植物蛇床的果实,在我国各地均有分布,主要有效成分为香豆素和挥发油类,蛇床子素又名甲氧基欧芹酚、欧芹酚甲醚,属于香豆素类化合物^[5]。蛇床子素是从天然植物蛇床子的干燥成熟果实中提取的具有杀虫和杀菌活性成分的新型农药,目前应用于虫害防治方面效果较为显著,是目前农作物病虫害防治理想的无公害农药新品种^[6]。多杀菌素是放线菌刺糖多胞菌有氧发酵的胞内次级代谢产物。其杀虫作用模式独特,对害虫存在快速触杀作用,能刺激害虫的神经系统,导致其非功能性的肌肉收缩、衰竭,并伴随颤抖和麻痹;多杀菌素为生物源农药,保证安全的同时也具有化学制剂的速效性^[7]。由于蛇床子素和多杀菌素可适用于同一作物而防治对象不同,将其混用可以成为一种理想的复配剂^[8]。该试验对5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂配方以及加工工艺进行了研究,对水乳剂的制备、生产具有一定的指导意义。

第一作者简介:郑宜红(1992-),女,硕士研究生,研究方向为储粮新制剂。E-mail:493725059@qq.com.

责任作者:陈新(1978-),男,博士,教授,现主要从事天然产物资源的开发和利用等研究工作。E-mail:chenxin_001@126.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31370369);湖北省教育厅科学研究计划资助项目(B2016077)。

收稿日期:2017-05-23

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试原药

蛇床子素原药(英文通用名:Osthole,陕西昂盛生物医药科技有限公司);多杀菌素(英文通用名:Spinosad,武汉轻工大学生化楼 713)。

1.1.2 供试辅料

Tween-80(化学纯,天津市百世化工有限公司);聚山梨酯-20(Tween-20 化学纯,天津市天力化学试剂有限公司);司班-20(Span-20 化学纯,上海山浦化工有限公司);丙酮(分析纯,天津市天力化学试剂有限公司);黄原胶;羧甲基纤维素钠(天津市恒兴化学试剂制造有限公司);丙三醇(分析纯,天津市天力化学试剂有限公司);乙二醇(分析纯,天津市天力化学试剂有限公司);甲基硅油(分析纯,Xiya Regent);超纯水(Molecular)。

1.1.3 主要仪器

79-1 磁力加热搅拌器(上海君竺仪器制造有限公司);D2010W 电动搅拌器(上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司);DF-101B 集热式磁力加热搅拌器(金坛市医疗仪器厂);pH 计(Mettler Toledo);粒度仪(马尔文);恒温培养箱;超声波清洗机(SB25-12DT,宁波新芝生物科技股份有限公司);电子天平(AL204, Mettler Toledo);电热鼓风干燥机(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂的制备方法

试验采用相转移法进行水乳剂的加工。称取处方量的蛇床子素和多杀菌素溶于有机溶剂中,再与乳化剂等混合并于磁力搅拌器上搅拌,形成均匀的油相;增稠剂加入超纯水充分溶胀后加入防冻剂、消泡剂即成水相;将上述水相缓慢加入正在搅拌的油相中再继续搅拌 1 h 即得外观均一、流动性良好的 5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂^[9]。

1.2.2 5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂的处方筛选

将配好的蛇床子素-多杀菌素水乳剂采用粒度仪测定粒径,每个处方测定 3 次并取其平均值,按照《农药理化性质试验导则》测定其 pH、分散

性、倾倒性等;按照 HG/T2467, 5-2003 和 HG/T2467, 2-2003 分别进行冷贮和热贮试验,根据以上测定数据对蛇床子素-多杀菌素水乳剂的各组分用量进行筛选^[10]。

1.3 项目测定

1.3.1 外观

考察水乳剂的流动性以及均匀性;水乳剂外观为乳白色均匀流动液体。若不是均一体系,出现析水析油等均为不合格。

1.3.2 粒径的测定

采用马尔文激光粒度仪进行测定,平均粒径应小于 1.5 μm 。

1.3.3 热贮稳定性

取制备好的样品 5 mL 密封于安瓿瓶中,在 $(54\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 中贮存 14 d,取出后分别检测外观、流动性、粒径、析水等各项指标是否发生变化^[11]。若贮存前后产品的各项指标相同或者变化在允许范围内,则认为热贮合格。

1.3.4 冷贮稳定性

取制备好的样品 5 mL 密封于安瓿瓶中,在 $(0\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 中贮存 1 h,外观若无变化,继续保持 14 d,取出后分别检测各项指标是否发生变化,观察该产品有无分层现象,若无则认为冷贮合格^[12]。

1.3.5 pH

称取 0.5 g 制备好的水乳剂样品于烧杯中,用超纯水稀释至 50 mL,混合均匀后使用 pH 计进行测定。

1.3.6 分散性测定

分散性指水乳剂加入水中自动分散乳化形成乳状液的能力。取 250 mL 量筒装入 249 mL 水,使用注射器吸取 1 mL 水乳剂样品,从量筒上方距离水面 5 cm 缓慢滴入,观察产品在水中的分散情况^[13]。可分为 4 个等级。优:滴入水中后呈云雾状分散,形成乳状液,分散过程中无可见颗粒;良:自动分散,有颗粒下沉,但底部前能基本分散,或沉至底部后,能较快上扩分散;中:部分自动分散,有颗粒下沉,需摇晃或倒置后才能分散;差:不能自动分散,呈颗粒状或絮状下沉,经强烈摇动后才能分散。

1.3.7 主要活性成分测定

蛇床子素色谱条件为流动相:乙腈:水=65:

35(v/v);需进行滤膜脱气处理并超声 1 h;流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温: $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$;检测波长: 322 nm ;进样量: $20 \text{ }\mu\text{L}$;C18 色谱柱,反相。

多杀菌素色谱条件为流动相:甲醇:乙腈:水=45:45:10(v/v),需进行滤膜脱气处理并超声 1 h;流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温: $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$;检测波长: 254 nm ;进样量: $20 \text{ }\mu\text{L}$;C18 色谱柱,反相^[14]。

标准曲线:分别精确称取 0.1000 g (精确至 0.0002 g)多杀菌素标准品和蛇床子素标准品用流动相进行溶解,定溶于 100 mL 容量瓶中,配制成 $1000 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准母液。吸取一定量的标准母液,用流动相定容,依次配制浓度为 100 、 200 、 400 、 600 、 $800 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标液。

取 0.1 mL 蛇床子素-多杀菌素水乳剂样品 2 份,分别用上述相应流动相定溶于 100 mL 容量瓶中,摇匀,待仪器稳定后,连续注入数针标品试液,直至连续 2 针标品峰面积相对变化小于 1.5% 后,再进行试样溶液的测定。

2 结果与分析

2.1 处方筛选

2.1.1 乳化剂最佳 HLB 值的确定及用量筛选

农药水乳剂的核心问题是乳液的稳定性问题,而乳液的稳定性的关键就在于乳化剂的筛选。在水乳剂中,乳化剂的作用是降低表面界面的张力,从而将油相分散并乳化成微小油珠以悬浮在水相中,形成乳状液体^[15]。乳化剂中都含有亲水基和亲油基,其亲水亲油的程度用亲水亲油值(HLB)表示。HLB 值为 $8 \sim 18$ 的乳化剂适合制备 O/W 乳液,一般认为 HLB 值小的乳化剂和 HLB 值大的组合物较单体乳化剂效果好。表示为了确定 5% 蛇床子素-多杀菌素水乳剂体系的稳定 HLB 值,选定一对 HLB 值相差较大的乳化剂 Span-20 (HLB = 8.6) 和 Tween-20 (HLB = 16.7) 按不同比例混合,由于 HLB 值具有加合性^[16]。可以根据不同配比从而得到不同 HLB 值的系列混合物为乳化剂来制备 5% 蛇床子素-多杀菌素乳化剂,测得水乳剂的稳定性(表 1)。

由表 1 可以看出,随着 HLB 值的增大,水乳剂出现分层现象;HLB 值逐渐减小也会出现析水析油等不稳定现象。表明蛇床子素-多杀菌素乳

化剂的最佳 HLB 值为 11.03 ,即 Tween-20:Span-20=3:7,在该比例下,水乳剂在热贮冷贮下比较稳定,不会出现析水、析油、分层等现象,综合表现合格;对上述复配乳化剂用量在 $4\% \sim 6\%$ 进行筛选(表 2)。

表 1 水乳剂的 HLB 值的筛选结果

Table 1 Screening result of HLB

HLB 值 HLB value	热贮稳定性 Stability of hot storage	HLB 值 HLB value	稳定性 Stability
9.41	析油(12%)	12.65	分层
10.22	析水(10%)	13.46	分层
11.03	稳定	14.27	分层
11.84	析水(5%)	15.00	分层

表 2 乳化剂用量筛选

Table 2 Screening result of emulsifier

乳化剂用量 Emulsifier dosage/%	外观 Performance index	热贮稳定性 Stability of hot storage	粒径 Size
4	均相液体,流动性良好	分层,不合格	22.90
5	均相液体,流动性良好	合格	1.26
6	均相液体,流动性良好	合格	8.34

根据表 2 结果可知,乳化剂用量为 4% 时,乳化剂为均一液体但出现分层现象;用量为 $5\% \sim 6\%$ 时都可以配制出均一、流动性好的体系,但用量为 6% 时所得水乳剂的粒径偏大,故综合选取乳化剂的用量以 5% 为宜。

2.1.2 增稠剂

农药水乳剂中,油相和水相的密度越接近,就越不容易分层,加入增稠剂可以增强水乳剂体系的稳定性^[17]。选择增稠剂既要保证乳液的稳定性又要保持良好的使用性能,故一般选择用量少、增稠作用强又不影响制剂稀释稳定性的材料。一般的增稠剂有羧甲基纤维素钠、黄原胶,通过热贮结果进行选择^[18]。

由表 3 可知,选取羧甲基纤维素钠为增稠剂所得水乳剂均不合格;在以黄原胶作为增稠剂时,用量 $0.15\% \sim 0.50\%$ 均可制得外观均一的水乳剂,但随着其用量的增大,水乳剂过于黏稠,出现流动性差的现象,综合考虑,选取 0.15% 黄原胶为增稠剂。

表 3 增稠剂对乳液析水率的影响

Table 3 Relation between ration of bleeding and emulsion with different concentration adding thick matter

试验编号 Test number	黄原胶 Xanthan gum/%	羧甲基纤维素钠 Sodium carboxymethylcellulose/%	热贮稳定性 Stability of hot storage	结论 Conclusion
1	0.15	—	合格,流动性良好	合格
2	0.30	—	不合格,流动性较差	不合格
3	0.50	—	合格,过于黏稠	不合格
4	—	0.15	不合格,分层,析水	不合格
5	—	0.30	不合格,分层,析水	不合格
6	—	0.50	不合格,分层,析水	不合格

2.1.3 防冻剂

水乳剂中含有大量的水,在低温环境下贮存过程中很容易形成结晶和聚集,影响产品的性能。为了提高在低温条件下水乳剂的稳定性,可向体系中加入一定量的防冻剂。其中二元醇类的可以在水乳剂作为抗冻剂和共乳化剂。所选用的防冻剂一般要求其防冻性能好、挥发性低、不影响有效成分。常用的有乙二醇、丙三醇等。根据冷贮结果对防冻剂进行选择,通过对丙三醇和乙二醇的用量进行筛选试验(表 4)。

表 4 显示,随着防冻剂用量的减少,冷贮稳定性有所改变,当用量降到 3%时,水乳液出现析水、分层现象,4%和 5%的防冻剂用量均可满足制备要求。丙三醇和乙二醇都是常用的防冻剂,都有很好的分散性和防冻效果,从成本考虑选取 4%乙二醇为防冻剂。

表 4 防冻剂的筛选

Table 4 Screening result of antifreeze

编号 Test number	丙三醇用量 Glycerol/%	乙二醇用量 Glycol/%	冷贮稳定性 Stability of cold storage
1	3	—	乳白色,少量析水
2	4	—	良好
3	5	—	良好
4	—	3	分层,析水,较差
5	—	4	良好
6	—	5	良好

2.2 粒径测定结果

由图 1 可知,其粒径区间为 0.505~2.381 μm ,平均粒径为 1.140 μm 。水乳剂的粒径一般要求在 0.100~10.000 μm ,根据优化后处方所得蛇床子素-多杀菌素水乳剂的粒径所在范围窄、平均粒径比较小,整个水乳剂体系稳定。

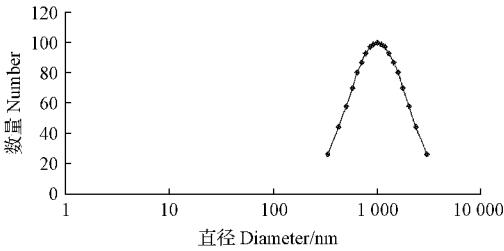


图 1 5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂粒径分布

Fig. 1 Particle size distribution of 5% osthole-spinosad EW

2.3 蛇床子素-多杀菌素水乳剂有效成分

蛇床子素标准曲线如图 2 所示,进样量 10 μL ,根据峰面积与相应的质量浓度进行线性回归,绘制标准曲线,线性方程为 $y=3.328x+0.58$,相关系数 $R^2=0.999$ 。

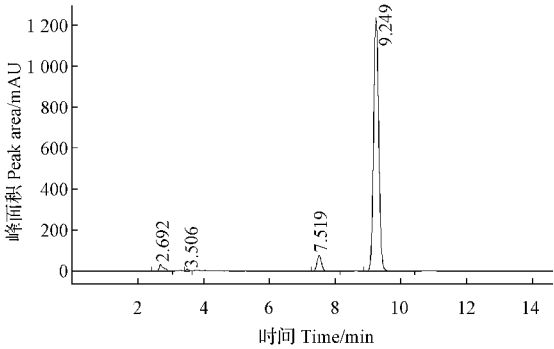


图 2 蛇床子素样品色谱图

Fig. 2 Chromatography for osthole in HPLC

多杀菌素标准曲线如图 3 所示,进样量 10 μL ,根据峰面积与相应的质量浓度进行线性回归,绘制标准曲线,线性方程为 $y=14.025x$,相关系数 $R^2=0.999$ 。

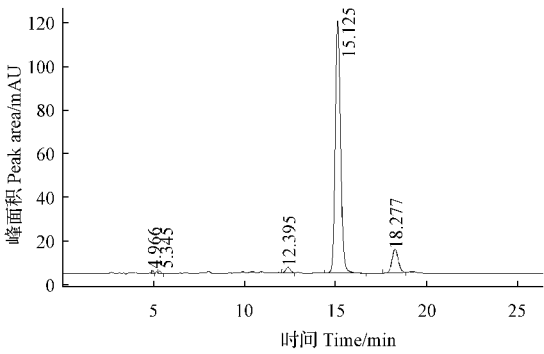


图 3 多杀菌素样品色谱图
Fig. 3 Chromatography for spinosad in HPLC

2.4 配方确定

通过系列试验,最终确定了 5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂的配方为,蛇床子素 4.93%、多杀菌素 0.07%、Tween-80 20%、黄原胶 0.15%、丙三醇 4%、甲基硅油 0.2%,用水补至 100%。用该制备工艺及配方所得 20%多杀菌素水乳剂的各项指标均符合水乳剂质量标准(表 4)。按照该配方制得的水乳剂,经过 (54±2)℃热贮 14 d 及常温贮存试验,样品分析结果水乳剂的各项指标均符合水乳剂质量标准(表 5)。

表 5 5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂的质量指标

Table 5 Quality standard of 5% osthole-spinosad EW

项目	结果
Index	Result
外观	均相乳白色液体
粒度	1.28 μm
热贮稳定性	析水率 1/13、流动性良好
冷贮稳定性	无分层、无析水、流动性良好
pH	7.63
分散性	良好
倾倒性	良好

2.5 蛇床子素-多杀菌素水乳剂对 3 种储粮害虫的防效性

5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂对谷蠹、玉米象、赤拟谷盗的防治效果见表 6,为了研究蛇床子素-多杀菌素水乳剂的防虫效果,采用目前我国粮食仓储经常使用的防虫磷作为对照^[19](防虫磷的施药浓度以其产品说明书为准)。室内毒力测定结果表明,蛇床子素-多杀菌素水乳剂的防虫效果略优于防虫磷,且在处理粮食 15 d 后对于谷蠹、玉米象、赤拟谷盗 3 种储量虫害的校正死亡率均达到了 100.00%,达到了储粮害虫防治要求。

表 6 5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂防治储粮害虫的药效试验

Table 6 Efficacy test of 5% osthole-spinosad EW against three stored-grain pests

药品	有效成分	害虫及校正死亡率 Pest and corrected death rate/%		
		3 d	7 d	15 d
5%蛇床子素-多杀菌素水乳剂	0.5	谷蠹 73.33	谷蠹 97.78	谷蠹 100.00
		玉米象 53.69	玉米象 93.70	玉米象 100.00
		赤拟谷盗 50.00	赤拟谷盗 86.70	赤拟谷盗 100.00
防虫磷	10.0	谷蠹 89.00	谷蠹 98.89	谷蠹 100.00
		玉米象 100.00	玉米象 100.00	玉米象 100.00
		赤拟谷盗 50.00	赤拟谷盗 44.44	赤拟谷盗 81.80

3 结论

以外观、热贮冷贮稳定性、粒径、pH、分散性等项目为评价指标,对原药和辅料进行组方,最终确定了蛇床子素-多杀菌素水乳剂的最佳处方为蛇床子素 4.93%、多杀菌素 0.07%、丙酮 5%、聚山梨酯 201.5%、司班 203.5%、黄原胶 0.15%、乙二醇 4%、有机硅油 0.2%,水补至 100%。

将以上处方制得的水乳剂通过热贮冷贮稳定性和常温放置后,水乳剂的粒径、pH、分散性、主要活性成分的含量等指标均合格,结果表明水乳剂的质量优良。

药效试验表明,蛇床子素-多杀菌素水乳剂对谷蠹、玉米象、赤拟谷盗的防治效果显著,且与其它杀虫剂相比,水乳剂降低了有机溶剂的使用,具有环保无公害性,有很好的经济效益和环境效益。

参考文献

- [1] 李佳. 我国家庭农场储粮现状及对策建议[J]. 农业科技与装备, 2016(1): 71-72.
- [2] 胡寰翀, 游海洋, 王耀武, 等. 储粮熏蒸过程中磷化氢扩散及分布特性研究[J]. 粮食储藏, 2016, 45(3): 16-20.
- [3] 华乃震. 影响农药水乳剂稳定性因素与控制(上)[J]. 世界农药, 2010, 32(4): 1-4.
- [4] 史雅丽, 郁倩瑶, 孙陈铖, 等. 农药水乳剂物理稳定性的研究进展[J]. 日用化学工业, 2016, 46(3): 173-177.
- [5] 姬志强, 张建民, 夏俊梅, 等. GC-MS 法分析蛇床子的脂溶性成分[J]. 中国药师, 2015(11): 1892-1894.
- [6] 侯奕充, 王超, 王国夫, 等. 蛇床子提取液的杀虫活性研究[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(8): 1589-1590.
- [7] 向双云, 周珍辉, 马建民, 等. 新型生物农药-多杀菌素[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(9): 1750-1752.
- [8] 田亚, 赵恒科, 严伟, 等. 伊维菌素和阿维菌素复配及其水乳剂的研制[J]. 中国科技论文, 2016(6): 679-683.
- [9] 兀新养, 杨旭彬, 谭涓, 等. 4.5%高效氯氟菊酯水乳剂的研制[J]. 应用化工, 2007, 36(3): 302-304.
- [10] 冯建国, 张小军, 范腾飞, 等. 体系 pH 值、乳化温度和电解质离子对异丙甲草胺水乳剂稳定性的影响[J]. 高等学校化学学报, 2012, 33(11): 2521-2525.
- [11] BINKS B P. Nanoparticle silica-stabilised oil-in-water emulsions; Improving emulsion stability[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng, 2005, 253: 105-115.
- [12] 张晓光, 刘洁翔, 王海英, 等. 阿维菌素水乳剂的稳定性[J]. 物理化学学报, 2010, 26(3): 617-625.
- [13] 冯建国. 高效氯氟菊酯水乳剂的流变特性研究[J]. 现代农药, 2015, 14(6): 13-17.
- [14] 周雅文, 贾美娟, 刘金凤, 等. 表面活性剂的性能与应用(X): 表面活性剂在农药中的应用[J]. 日用化学工业, 2015(11): 606-610.
- [15] 冯建国, 项盛, 钱坤, 等. 乳状液稳定性表征方法及其在农药水乳剂研发中的应用[J]. 农药学报, 2015, 17(1): 15-26.
- [16] 吴东根, 全利娟, 姚季, 等. 乳化剂和分散相含量对乳液黏度的影响[J]. 西安交通大学学报, 2010, 44(11): 6-11.
- [17] 卢锦丽, 傅玉颖, 武肖, 等. 添加黄原胶的纯胶乳液稳定性及流变特性研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(6): 93-98, 103.
- [18] 许迪, 潘竟林, 刘万强, 等. 多杀菌素、阿维菌素乳油和高效氯氟菊酯 3 种农药对环境生物的安全性评价[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(6): 897-902.
- [19] 蒋社才, 李志权, 张峰, 等. 新型高效谷物保护剂“储粮安”的应用研究[J]. 粮食储藏, 2008, 37(6): 17-21.

Formulation Preparation of 5% Osthole-Spinosad Emulsion in Water

ZHENG Yihong, CHEN Xin

(School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, Hubei 430023)

Abstract: The purpose of this study was to develop a kind of environment friendly pesticide formulation-5% osthole-spinosad emulsion in water. According to the performance index, stability of the formulation under hot and cold storage, particle size, pH, dispersibility. This study investigated the effect of different substances on the 5% osthole-spinosad EW systematic stability from the macroscopical angel. The results showed that, the experiment finally confirmed the excellent prescription of 5% osthole-spinosad EW. The main conclusion obtained were listed as follows, osthole (4.93%), spinosad (0.07%), acetone (5%), tween-20 (1.5%), span-20 (3.5%), xantham gum (0.15%), ethylene glycol (4%), defoamer (0.2%), water (80.65%). This formulation obtained in this study, the indexes of the 5% osthole-spinosad EW were all up to the standards and the emulsion in water should be further studied.

Keywords: osthole; spinosad; emulsion in water; formulation