

生物碱在植物源农药中的应用研究

薛广厚, 范海延, 李航, 高璐, 李伊夫

(沈阳农业大学 生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 综述了生物碱在植物源农药中杀虫抑菌作用的研究状况和生物碱提取、纯化新技术的原理、优缺点及发展前景。

关键词: 生物碱; 杀虫; 抑菌; 提取; 纯化

中图分类号: S 482.2⁺92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)06-0131-04

21 世纪, 随着人们环境保护意识的增强以及对食品安全的关注, 化学农药的负面作用日益受到人们的重视, 发展生物农药已成为保障人类健康和农业可持续发展的重要趋势。植物中含有丰富的次生代谢产物, 一些次生代谢产物因其具有一定的防治病虫害等作用, 成为近年来研究的热点。植物次生代谢物的种类有生物碱类、酚类物质、萜类、黄酮类、精油类、光活化毒素类等。其中生物碱是含量最大的一类, 它具有高效、低毒、无污染、对人畜安全、作用方式独特、选择性高、对天敌和有益生物安全及害虫不易产生抗药性等优点的天然产物, 符合人们对理想农药的要求。生物碱对昆虫的作用方

式是多种多样的, 诸如毒杀、忌避、拒食、抑制生长发育等, 同时对多种植物病菌有很强的抑菌和杀菌作用。为了使生物碱提取率和纯度不断提高, 生物碱提取与纯化技术也在不断地改进与发展。

1 生物碱在植物源农药中的研究概况

1.1 生物碱的种类

生物碱是含负氧化态氮原子的、存在于生物有机体中的环状化合物, 负氧化态包括胺(-3)、氮氧化物(-1)、酰胺(-3)和季胺(-3)化合物, 但不包括含硝基和亚硝基的化合物^[1]。生物碱是植物次生代谢产物中较大的一类, 且具有多种生物活性, 在植物体内还具有良好的分布和较强的输导能力, 目前从植物中分离出的生物碱有 5 000~6 000 种, 如: 烟草主要含烟碱、去甲烟碱和毒黎碱等; 雷公藤主要含雷公藤碱、雷公藤精碱、雷公藤次碱、雷公藤春碱和雷公藤辛碱等; 百部主要含百部碱、百部高碱、异百部高碱及原百部碱等; 苦参主要含苦参碱、氧化苦参碱、羟基苦参碱、N-甲氢野靛碱和脱氢苦参碱等; 黎芦主要含原黎芦碱 A、B、黎芦碱、介黎芦胺、伪介黎芦胺、红介黎芦胺和计未林碱等; 博落回主要含白屈菜红碱、高白屈菜碱 β 、血根碱、 α -别克托品、黄连碱、小檗

第一作者简介: 薛广厚(1980-), 男, 内蒙古商都县人, 在读硕士, 现从事植物源农药方向的研究。E-mail: xueguanghou123@126.com。

通讯作者: 范海延(1974-), 女, 博士, 副教授, 现从事植物生物技术研究工作。E-mail: hyfan74@163.com。

基金项目: 沈阳市大型科学仪器设备共享服务专项资助项目(2007GX-05); 沈阳市科学技术基金资助项目(1053125-1-51)。

收稿日期: 2009-01-27

Biological Characteristics, Nutritional Components and Medical Value of *Feijoa sellowiana* Berg.

ZHANG Meng¹, WANG Dan¹, REN Shao-xiong², LIU Ren-dao¹

(1. College of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China; 2. Applied Technology College, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China)

Abstract: *Feijoa* is a combination of edible, officinal and ornamental fruits and has promising economic value. The biological characteristics and the nutritional components, medical value and the exploitation and application of its fruit, leaf, peel and flower were reviewed in the paper. The development and application of *feijoa* in food, pharmaceutical and cosmetics industry were described.

Key words: *Feijoa* (*Feijoa sellowiana* Berg.); Biological characteristics; Nutritional components; Medical value; Exploitation and application

碱、博落回碱等;喜树主要含喜树碱和次喜树碱等。

1.2 生物碱的杀虫性

富含生物碱的植物种类繁多,资源丰富。《杀虫植物与植物性杀虫剂》统计含生物碱的杀虫植物有 508 种,分属 108 科,并较多的分布于蝶形花科(27 属)、菊科(23 属)、茄科(14 属)、夹竹桃科(11 属)等双子叶植物中^[2]。例如,苦参碱是一种高效广谱杀虫剂,在不同地区对蔬菜、果树、茶叶、小麦水稻等作物的害虫均有良好的杀虫效果^[3]。卫矛科植物的杀虫有效成分为二氢沉香呋喃类化合物,雷公藤和苦皮藤是该科中重要的杀虫植物。烟碱是烟草中具有杀虫作用的生物碱;黄连素和血根碱具有显著的抗病原菌和抗病毒的作用,这些生物碱也是昆虫的拒食剂。用于商业杀虫剂生产的生物碱制剂已经有硫酸烟碱(中国)和黑叶 40(美国),黑叶 40 是一个水溶性的硫酸烟碱,其中烟碱含量为 4%。蔡芦在 20 世纪 40 年代早期就被发展成为一个商业杀虫剂,现在主要用于柑桔害虫防治。以里安那碱为主要成分的 Ryanex 或称 Ryanicide,因其单位面积用量少,作用机理独特(对害虫肌肉表现毒性,引起害虫取食停止和松弛麻痹),正越来越显示出广阔的发展潜力,且里安那碱的水解产物 Ryanodol 对哺乳动物毒性低,但对昆虫却是一个强有力的击倒剂。牛心朴子总碱可作为农药的原药,以中试提取浓缩液为原药,复配得到的 1.65% 氧苦。牛心朴子生物碱 AS 对菜青虫和小菜蛾的防治效果非常理想^[4]。唐淑琼等试验得出 0.5% 苦。烟水剂对柑桔蜻类、蚁类、黑刺粉虱等具有很好的防治效果,同时 0.5% 苦。烟水剂对环境无污染,是一种很好的环保型农药,在柑桔上使用不存在鲜果中农药残留问题^[5]。

1.3 生物碱抑菌性

近几年来,国内外许多学者调查和研究了一些植物生物碱的抗菌、杀菌活性。于天丛等对苦豆子 7 种生物碱中的苦豆碱对瓜类炭疽病的主要致病菌有很好的生物活性,其对该病菌的抑菌能力与常用广谱性杀菌剂多菌灵处于同一水平^[6];苦豆子总生物碱对 10 余种 206 株试验菌均有抑菌作用,在碱性环境下抑菌作用较强。牛心朴子草其提取物中生物碱部位对危害极大的烟草花叶病毒(TMV)具有很高的抑制性。黄连素和血根碱具有显著的抗病原菌和抗病毒的作用。麻黄碱存在于麻黄科植物中,是有效的药用成分,对植物病菌也有强抑菌性。野生马铃薯中糖甙茄碱是一种在自然条件下能够抗病的有效成分。

2 生物碱提取、纯化技术

2.1 提取方法

适宜的提取方法对制备生物碱农药保持有效成分的活性具有重要意义。生物碱的提取方法有浸渍法、索氏提取法、微波萃取法、超声波提取法、超临界流体萃取

法等。

2.1.1 浸渍法 浸渍法(Maceration)是根据植物中各种成分在溶剂中的溶解性质,选用对活性成分溶解度大,对不需要溶出成分溶解度小的溶剂,而将有效成分从药材组织内溶解出来的方法。常温浸渍是较为常用的生物碱提取方法,但浸出率较差,如用水为溶剂,其提取液易于发霉变质注意加入适当的防腐剂,所以选择适当的提取液对提取效果影响很大,以及原料的粉碎度、提取时间、提取温度、设备条件等因素也都能影响提取效率。陈月圆等以小聚碱为指标,对黄柏中的总生物碱提取方法进行了优化,分别用水、乙醇和酸作为溶剂,使用乙醇为溶剂的提取率为 84.4%,远高于其他 2 种溶剂^[13]。浸渍法的特点是方法简便,但浸出溶剂用量较大、操作时间长,往往浸出效率差,不易完全浸出等。

2.1.2 索氏提取法 索氏提取法(Soxhlet-extraction)是溶剂提取法的一种,也叫连续回流提取法。应用有机溶剂加热提取,需采用回流加热装置,以免溶剂挥发损失。大量生产中多采用连续提取法。龙德清等用酸性醇回流法提取魔芋中总生物碱,得到最佳的工艺条件乙醇中回流 3 h,总生物碱含量为 0.39%^[14]。此法优点是操作简便,提取率较高。缺点是回流法操作时间较长,且整个过程处于加热状态,不适用于热敏性次生代谢产物的提取。

2.1.3 微波萃取法 微波萃取(microwave-assisted extraction, MAE)又称微波辅助提取,利用介电损耗和离子传导的原理,根据不同结构物质吸收微波能力的差异,对某些组分选择性加热,可使被萃取物质从体系中分离进入萃取剂。郭锦棠等对微波与索氏回流方法提取生物碱进行了研究,发现联合微波与索氏提取法对黄连中盐酸小檗碱的提取效果优于单独索氏提取^[15]。高姗利用微波萃取,采用正交试验优化了十大功劳叶中小檗碱的提取条件^[16],相对于传统方法,微波萃取质量稳定、产量大,选择性高、节省时间且溶剂用量少、能耗较低优点。但微波萃取受萃取溶剂、萃取时间、萃取温度和压力的影响,选择不同的参数条件往往得到不同的提取效果。

2.1.4 超声波提取法 超声波辅助提取(ultrasound-assisted extraction, UAE)的理论依据是超声波热学机理、超声波机械机制和空化作用。郭孝武等对比研究了超声、回流和浸泡 3 种方式提取益母草中总生物碱的产率,超声波可以使益母草茎组织形态结构发生变化,造成茎内组织细胞损伤,促使益母草总生物碱快速提取,缩短了提取时间。超声提取 40 min 比回流提取 2 h 产率高 42.86%,而所得总生物碱无化学结构改变^[17]。国外对于超声提取生物碱也有研究 A. Djilani 等利用超声技术在不同溶剂系统中提取阿托品(atropine),得到最有

效的提取溶剂系统, 提取率为 1.01%^[18]。陈志慧等用 3 种方法浸提法, 索氏回流法居中, 超声波法提取断肠草总生物碱, 提取率以超声波法最高。利用超声技术可以缩短提取时间、提高提取率, 并且无需加热, 提高了热敏性生物碱的提取率且对其生理活性基本没有影响, 溶剂使用量相对较少, 可以降低成本。

2.1.5 超临界流体萃取法 超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)是以超临界流体作为流动相的新型的分离技术, 例如, 由于 CO₂ 具有较低的临界温度和压力、价格便宜、无毒且具有较低的活性, 因此常用来萃取非极性和略有极性的物质。用 CO₂ 作为超临界流体萃取生物碱的溶剂, 具有无毒、无味、不燃、无残留、价廉、易精制等特点, 可以克服传统提取方法的不足。超临界流体萃取原理是根据相似相溶原理, 在高于临界温度和临界压力的条件下, 利用超临界流体的特性, 从样品中萃取目标物, 当恢复到常压和常温时, 溶解在流体中的成分立即以溶于吸收液的液体状态与气态分开, 从而达到萃取目的。张立伟等用氨水做碱化剂, 无水甲醇为夹带剂, 利用 SFE-CO₂ 法萃取了中药苦参中的苦参总碱, 其提取率约为常规法的 2.14 倍, 而耗时约为常规法的 1/3^[19]。李平华等对乳香的传统提取方法如水蒸气蒸馏法等均需要高温, 提取后结块严重, 有效成分提取不完全, 得率很低; SFE-CO₂ 萃取技术以 CO₂ 为溶剂, 可克服以上缺点, 尤其适用于乳香等含脂溶性成分较多的物质的提取, 同时又避免了有机溶剂的残留, 对环境也没有污染^[20]。超临界流体萃取可在接近室温的环境下进行萃取, 不会破坏生物活性物质, 并能有效地防止热敏性物质的氧化, 特别适合于分离、提取低挥发性和热敏性有效成分, 具有选择性好、分离能力高、萃取工艺简单、操作方便、萃取速度快、萃取产品收率高、能耗低、无污染、无溶剂残留等优点, 尤其适合于非极性或非弱极性成分的提取。

2.2 分离纯化技术

常规分离方法有两相溶剂萃取法、铅盐沉淀法、试剂沉淀法、盐析法、结晶、重结晶和分步结晶法等。但随着科技的发展, 生物碱提取和纯化方面出了许多新技术, 如大孔吸附树脂技术、膜分离技术、高速逆流色谱等这些方法使植物中有效成分提取率和纯度与常规提取方法相比均有所提高。

2.2.1 大孔吸附树脂技术 大孔吸附树脂(Macroporous adsorptive resin, MAR)技术原理主要是利用特殊的吸附剂大孔吸附树脂的吸附性和分子筛选相结合的原理, 从植物药液中有选择的吸附住其中有效成分, 去除杂质。特别是非极性吸附树脂在吸附药液中的有效成分时, 主要是物理结构(如比表面积、孔径等)在起吸附的作用。通过对 11 种国产大孔树脂对长春碱、文多灵和长春质

碱的静态吸附容量、解吸率和动态吸附容量等指标的考察, 筛选出 AB-8 大孔吸附树脂作为分离长春花生物碱的载体, 其对文多灵、长春质碱和长春碱吸附量分别为 365.8、254.2、24.8 mg/mL, 吸附在 50 min 内可达平衡, 解吸率均接近 100%, 明显强于传统的硅胶和氧化铝载体^[21]。大孔吸附树脂植物次生代谢产物中应用已取得一定的进展, 但许多应用规律尚未完全清楚, 需要在工作中根据实际情况不断探索、不断积累。生物农药生产上既可除去大量杂质, 又可使有效成分富集, 同时完成除杂和浓缩两道工序, 所以能缩小剂量, 提高植物药剂的内在质量, 应用大孔吸附树脂技术还可以减少产品的吸潮性, 缩短生产周期, 去除重金属污染等。基于上述优点, 大孔吸附树脂技术作为一项新工艺必将在中药生产中应用得越来越广泛。

2.2.2 膜分离技术 膜分离(Membrane isolation)技术应用原理近似机械筛, 是以压力为推动力, 实现溶质与溶剂的分离, 当溶液体系进入滤器时, 在滤器的表面发生分离, 溶剂和其他小分子质量溶质透过具有不对称微孔结构的虑膜, 大分子溶质和微粒被虑膜阻留, 从而达到分离、提纯和浓缩产品的目的。马朝阳等用中空纤维膜进行了从苦豆子盐酸提取物中纯化生物碱的超滤实验, 试验结果表明, 苦豆子盐酸提取物的超滤和稀释过滤能有效除去蛋白质和其他不纯物, 透过液中总生物碱的回收率高^[22]。膜分离在常温下操作, 无相变, 能耗低。膜分离技术在植物源农药上应用具有对提取物选择范围广, 适用性强, 富集产物效率高, 常温操作, 不破坏活性成分, 可分离不同分子质量范围的溶质, 除菌除热源效果好, 最主要能简化工艺, 缩短生产周期, 节约能源, 从而降低成本, 提高经济效益。膜分离技术的发展方向将是新兴的膜分离技术与传统的工艺技术有机的结合起来, 不断将膜技术的研究成果从实验室推向产业化应用, 不断研究新的膜材料, 开发研究新的聚合膜材料, 加强膜技术的研究、开发、生产与应用的力度。

2.2.3 高速逆流色谱 高速逆流色谱(High-speed Counter-current Chromatography, HSCCC)高速逆流色谱技术是一种较新型的液-液分配技术, 其原理是基于组分在旋转螺旋管内的相对移动而互不溶解的 2 相溶剂间分布不同而获得分离。袁黎明等利用高速逆流色谱溶剂分离系统对中药黄柏中的生物碱类活性成分进行了制备分离, 在不到 2 h 的时间内, 通过一次分离得到 6 种单一的生物碱、一种含有 2 个成分的生物碱, 并证实其中 1 种单一生物碱为小檗碱^[23]。高速逆流色谱有两大突出优点: 一是由于固定相是液体, 无需固体支持作载体, 避免了液-固色谱中由于使用载体而带来的吸附现象, 特别适用于分离极性大的组分以及一些生物大分子; 二是进样量较多, 适用于制备性的分离纯化, 利用高

速逆流色谱仪可以一次分离纯化近 10 g 的样品。除此之外, HSCCC 不需升温加热, 也不需要精密的恒流泵, 操作十分方便。

3 展望

开发植物生物碱的种类, 研究和生产高效、低毒生物碱农药, 研究其有效成分可以追踪活性进一步进行构效关系研究和模拟合成, 这是开发新农药的一条有效途径。尽管生物碱植物源在农药中所占份额还比较小, 但生物碱在农药的发展中已成为一种趋势和方向。因此, 充分利用丰富的植物资源, 研究开发高效、低毒、低残留的生物碱农药, 生产无公害农药, 保护生态环境具有重要的意义。

植物成分复杂, 不同的提取方法提取的生物碱的种类和含量不同, 在植物提取液的精制过程中的使用不应盲目, 不同的纯化方法对不同药物有效成分的影响也不同, 其用法用量、纯化工艺条件对成品质量的影响也很大, 所以应根据实际的需要, 生物碱的性质, 选择具体的提取、分离和纯化方法, 灵活运用各种提取、分离和纯化的原理, 不断探索新的提取、纯化的技术和最佳条件, 生物碱的提取分离技术将会得到更加深入的研究和发展。

参考文献

- [1] 薛苦芳, 高艳梅, 王景宽. 长期施肥与地膜覆盖时土壤微生物黄碳氮的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2007(2): 57.
- [2] 徐汉虹. 杀虫植物与植物性杀虫剂[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [3] 王宝律. 苦参桂木农药开发与利用[J]. 农村实用工程技术, 1999(10): 14.
- [4] 米海莉, 张曦燕, 李越. 1. 65% 氧苦·牛心朴子生物碱 AS 对菜青虫和小菜蛾的防治效果[J]. 农药, 2007, 46(6): 411-412.
- [5] 唐淑琼, 肖宝刚, 黎霞, 等. 苦·烟水剂对柑桔害虫的防治效果试验[J]. 中国南方果树, 2007, 36(3): 19-20.
- [6] 周琳. 植物生物碱的杀虫作用及应用[J]. 河南林业科技, 2007, 27

(1): 32-36.

- [7] 李明, 曾任森, 骆世明. 次生代谢产物在植物抵抗病虫害为害中的作用[J]. 中国生物防治, 2007, 23(3): 269-273.
- [8] 赵博光, 蒋继红. 草中抑制杉炭疽分生孢子萌发的物质[J]. 林业科学, 1999, 35(5): 62-67.
- [9] 于天丛, 闰磊, 丁君. 苦豆子 7 种生物碱对瓜类炭疽病菌的室内毒力测定[J]. 农药科学与管理, 2006, 25(7): 23-34.
- [10] 黄治强, 刘玉秀, 范志金. 牛心朴子草中生物碱的抑制植物病毒性研究[J]. 精细化工中间体, 2007, 37(3): 20-24.
- [11] 陈志慧, 周家容. 不同提取方法对断肠草总生物碱提取率的影响[J]. 农药, 2007, 46(3): 176-181.
- [12] 温衍生, 赵冬香. 杀虫生物碱的研究进展[J]. 广西热带农业, 2007, 113(6): 45-48.
- [13] 陈月圆, 李典鹏, 高江林. 黄柏中总生物碱的提取及测定方法研究[J]. 广西植物, 2003, 23(6): 565-567.
- [14] 龙德涛, 杨峰, 陈胜胜. 魔芋生物碱的初步分离及结构特征[J]. 应用化工, 2005, 34(12): 774-775.
- [15] 郭锦棠, 李雄勇, 杨俊红, 等. 微波-索氏联合工艺提取盐酸小檗碱[J]. 化工进展, 2003, 22(2): 1338-1341.
- [16] 高娜. 微波辅助萃取十大功劳叶中的小檗碱[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2002, 32(4): 377-380.
- [17] 郭孝武. 超声对益母草茎内组织损伤与总碱产率的关系研究[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2004, 32(4): 56-58.
- [18] Djilani A, Legsair B. Extraction of atropine by ultrasounds in different solvent systems[J]. Fitoterapiam, 2005, 76(2): 148-152.
- [19] 张立伟, 毛建明. 超临界二氧化碳流体萃取中药苦参的生物总碱[J]. 化学研究与应用, 2003, 15(1): 129-130.
- [20] 李平华, 赵汉臣, 闫荟. CO₂ 超临界流体萃取法萃取乳香的工艺研究[J]. 中国药房, 2007, 18(33): 2584-2585.
- [21] 张琳, 杨磊, 牛卉颖. 大孔树脂吸附分离长春花中的文多灵、长春质碱和长春碱[J]. 化工学报, 2008, 59(3): 607-614.
- [22] 马朝阳, 王洪新. 超滤法纯化苦豆子酸提取物中的生物碱[J]. 郑州工程学院学报, 2003, 24(4): 56-63.
- [23] 王传金, 魏运洋. 制备型高效液相色谱法分离冬凌草中冬凌草甲素[J]. 精细化工, 2007, 24(7): 662-666.

Advances in Application Research on Alkaloids in the Botanical Pesticides

XUE Guang-hou, FAN Hai-yan, LI Hang, GAO Lu, LI Yi-fu

(College of Biotechnology, Shenyang Agricultural University, Shenyang Liaoning 110161, China)

Abstract: This paper reviewed the effects of alkaloids killing insect and inhibiting bacteria as botanical pesticides, the principles of new technologies of alkaloid extraction and purification, alkaloids advantages and disadvantages and their application prospects.

Key words: Alkaloids; Desinsection; Bacteriostasis; Extract; Purification