

周小敏,于秋生,陈正行. 复合凝聚法制备阿维菌素微胶囊[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):104-107.

复合凝聚法制备阿维菌素微胶囊

周小敏,于秋生,陈正行

(江南大学食品学院/粮食发酵工艺及技术国家工程实验室,江苏无锡 214122)

摘要:以明胶和海藻酸钠为壁材,以阿维菌素为芯材,采用复合凝聚法制备微胶囊,并与明胶:麦芽糊精=1:1为壁材的直接喷雾干燥法、明胶-阿拉伯胶为复合壁材的复凝聚法进行比较研究。结果表明,微胶囊技术对提高阿维菌素的稳定性、延长其持效期有显著的效果,并且用明胶-海藻酸钠为复合壁材制备的微胶囊在微胶囊化产率、缓释效果、粒径分布方面均明显优于用明胶-阿拉伯胶为复合壁材和直接喷雾干燥法制备的微胶囊。

关键词:阿维菌素;微胶囊;复合凝聚;喷雾干燥

中图分类号: TQ45 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0104-03

阿维菌素(avermectin, AVM)是目前最具发展潜力的生物农药之一,是土壤微生物灰色链霉菌(*Streptomyces avermitilis*)的发酵代谢产物^[1],被广泛应用于农业和畜牧业,由于在通常使用剂量下,阿维菌素对人畜无害,因此被视为无公害农药^[2]。在目前的实际应用中,AVM的主要剂型为乳油,其稳定性较差,而且由于AVM的光解性强、残效期短,导致AVM乳油剂释药时间和持效期短,从而严重影响了AVM的杀虫效果,并且对环境造成严重污染^[3-4]。如何延长AVM的释药时间和药效持续时间成为AVM应用研究的关键问题^[5]。

微胶囊化可以改善被包埋物质的物理性质,提高其稳定性,具有保护芯材活性成分免受环境影响、控制药物释放速度等特点^[6],因此得到了广泛的应用。目前针对AVM微胶囊化的研究已有很多,但主要是界面法和原位法,这些方法所使用的壁材大多是合成的高分子材料,存在生物降解性能差、环境污染等问题。针对以上问题,本研究采用复合凝聚法制备AVM微胶囊,在众多的微胶囊制备方法中,复合凝聚法具有工艺简单、设备要求低、反应条件温和、环境污染小等优点。复合凝聚法中以明胶-阿拉伯胶(GE-GA)为复合壁材的研究报道较多,但阿拉伯胶大量依赖进口,价格较高,并且虽然明胶与阿拉伯胶形成的微胶囊包埋效果好、壁材致密、包埋率高,但是同时也带来了释放缓慢的问题,一般需要在极端条件下才能实现微胶囊中部分芯材的即时释放,使药物呈现药效,因此此方法不利于AVM的实际应用;以明胶-海藻酸钠(GE-SA)作为复合凝聚法壁材的研究尚不多见,虽然明胶与海藻酸钠结合的紧密程度相对较弱,但仍可以形成足够强度的微胶囊以防止AVM在贮藏过程中的光降解,同时可以在较温和的条件下实现微胶囊的破裂,保证实际应用过程中的即时药效。因此,本研究采用GE-SA作为复合壁材制备AVM微胶囊,对其微胶囊化产品性能和模拟田间环境释放效果进行检测,同时与喷雾干燥法及传统的复合凝聚法对比,以期开发一种适用于光敏性生物农药应用的微胶囊化新方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

阿维菌素,上海农乐生物制品股份有限公司;明胶、海藻酸钠、二甲苯、乙酸乙酯、戊二醛和甲醇,国药集团化学试剂有限公司。

电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司;UV2000紫外可见分光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司;高速分散机,浙江宁波新芝生物科技股份有限公司;TDL-5离心机,江苏省金坛市大地自动化仪器厂;电热恒温水浴锅,上海森信实验仪器有限公司;Quanta 200环境扫描电子显微镜,荷兰FEI公司;QZ-5移动式高速离心喷雾干燥机,江苏省无锡市林洲喷雾干燥设备有限公司;S3500型激光粒度分析仪,美国Microtrac公司。

1.2 明胶-麦芽糊精为壁材的直接喷雾干燥法

称取等重的明胶和麦芽糊精,并溶于去离子水中,形成壁材溶液;将AVM溶于适量的乙酸乙酯和二甲苯的复配溶剂中,形成芯材溶液,然后将其加入到壁材溶液中,在400 r/min条件下搅拌混合均匀;再将混合液置于高压均质机中,在40 MPa条件下均质2次,得到稳定的乳状液,最后对乳状液进行喷雾干燥,得到阿维菌素微囊化产品^[7]。其芯壁比为1:6,固形物含量为20%,喷雾干燥进风温度为180℃,出风温度为80℃,进料速度为40 mL/min,压缩空气压力约为1 MPa,雾化器转速2 000 r/min。

1.3 复合凝聚法

1.3.1 GE-GA制备AVM微胶囊

称取等重的明胶和阿拉伯胶并溶于一定量45℃热水中,配成1%壁材溶液;将AVM溶于适量的乙酸乙酯和二甲苯复配溶剂中,形成芯材溶液。按照芯壁比1:2的比例在恒温45℃、乳化速率15 000 r/min的条件下将定量的芯材溶液加入到壁材溶液中进行高速分散;在400 r/min搅拌速度下,用10%醋酸溶液调节体系pH值至4.0,反应15 min;然后冰浴(体系温度降至15℃以下)20 min,再用10%氢氧化钠溶液调节体系pH值至9.0,加入戊二醛(明胶添加量为0.1 g/g)进行固化。将得到的微胶囊悬浊液静置,弃去部分上层清液并调节溶液固形物含量为20%,通过喷雾干燥得到微胶囊产品^[8]。

收稿日期:2012-11-29

作者简介:周小敏(1988—),女,浙江衢州人,硕士,研究方向稻米深加工。Tel:(0510)85329064;E-mail:18952471189@126.com。

1.3.2 GE-SA 制备 AVM 微胶囊 参考“1.3.1”的制备方法,对影响微胶囊的制备条件进行单因素及正交试验,以微囊化产率为指标,得出最佳条件为:壁材总浓度 1%,明胶-海藻酸钠比例 6:1,芯壁比 1:1,体系 pH 值 4.6(用 10% 醋酸调节)。

1.4 微观结构观察

在扫描电子显微镜(SEM)样品台上贴 1 层导电胶,取少量的微胶囊粉末轻轻撒在导电胶上,并吹去多余粉末。然后在样品上喷金,用 20 kV 电子束进行观察,选择具有代表性的视野进行拍照。

1.5 AVM 微胶囊化产率的测定

微胶囊化产率是评价微胶囊产品质量的一个最为常见而又非常重要的指标,反映的是微胶囊制备过程中芯材的保留率,其计算公式为:

$$\text{微胶囊化生产率} = \frac{\text{微胶囊产品中芯材含量}}{\text{原料中芯材含量}} \times 100\%$$

1.5.1 复合凝聚微胶囊化产率的测定 参考张思宇关于光降解阿维菌素微胶囊包埋率的测定方法^[9],精确称取一定量的 AVM 微胶囊湿囊,用研钵将其研碎后溶于 30 mL 甲醇中,静置 30 min 后在 1 000 r/min 条件下离心 3 min,取 1 mL 上清液并稀释,用紫外可见分光光度计在 245 nm 处测定其吸光度。按相同方法处理空白 GE-SA 微胶囊,作为参比溶液。根据标准曲线计算出微胶囊中 AVM 的总含量,以此计算微胶囊化产率。

1.5.2 喷雾干燥微胶囊化产率的测定 精确称取一定质量的喷雾干燥微胶囊干粉,加入 60% 甲醇溶液,置于超声波振荡器中超声 1 h,取出并测定其吸光度^[10]。以相同方法处理空白明胶-海藻酸钠微胶囊,作为参比溶液。根据标准曲线得到干燥微胶囊粉末中 AVM 的含量,以此便得到微胶囊化产率。

1.6 微胶囊缓释性能

分别将 3 份喷雾干燥 AVM 微胶囊、复合凝聚制备的经喷雾干燥的 AVM 微胶囊固体粉末(有效成分含量相等)置于垫有定量滤纸的布氏漏斗中^[11]。每隔 2 h 用 20 mL 甲醇溶液冲洗,利用高效液相色谱测定每次冲洗液中 AVM 的含量,重复试验 3 次,从而确定 AVM 微胶囊在模拟田间环境中的释放行为。

液相条件:流动相为甲醇-乙腈-水(体积比 38:38:24);柱温为室温;检测波长 245 nm;进样体积 10 μ L。

2 结果与分析

2.1 AVM 标准曲线

准确称取一定量的 AVM 原药,以甲醇作为溶剂,配制成浓度为 10~30 mg/L 的系列标准溶液。以甲醇为空白对照,在 245 nm 处测定吸光度。以吸光度(y)对质量浓度(x)回归作标准曲线,结果见图 1。

2.2 微胶囊化产率

由表 1 可以看出,GE-SA 复合凝聚法的微胶囊产率为 83.21%,高于 GE-GA 复合凝聚法微胶囊的 79.76%,这可能是因为 GE-SA 作为复合壁材时,与芯材的亲合力高于 GE-GA。喷雾干燥包埋芯材的原理可以解释为壁材易形成

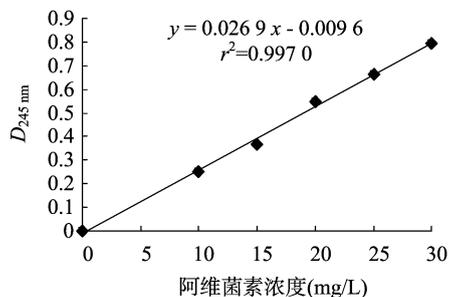


图1 阿维菌素标准曲线

壳,起筛分作用,水等小分子物质经热作用能顺利挥发到外界环境中,芯材等大分子物质则滞留于壳内,相比之下,复合凝聚法在喷雾干燥之前已形成 1 层外壁壳,降低了芯材的流失,因此直接喷雾干燥法的微胶囊化产率仅为 70.45%,低于复合凝聚法。

表 1 微胶囊化产率的比较

微胶囊化方法	产率(%)
直接喷雾干燥微胶囊	70.45
GE-GA 复合凝聚微胶囊	79.76
GE-SA 复合凝聚微胶囊	83.21

2.3 微胶囊释放效果

微胶囊产品的控制释放是芯材微胶囊化的主要目标之一,也是评价微胶囊产品实际应用可能性的重要指标。AVM 对光照、氧气非常敏感,在其施用过程中极易发生光氧化降解。因此,笔者分别测定了 GE-SA 复合凝聚法、直接喷雾干燥法、GE-GA 复合凝聚法 3 种方法制备的微胶囊模拟田间环境的释放曲线(图 2)。

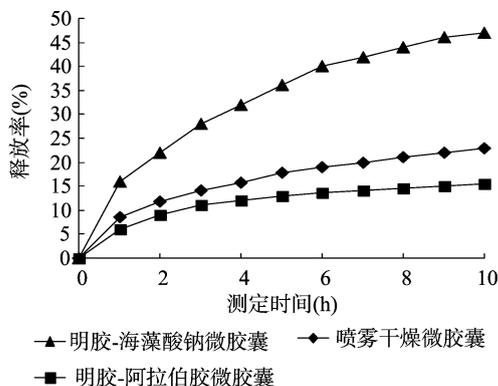


图2 复合凝聚和喷雾干燥微胶囊在模拟田间环境下的释放曲线

由图 2 可以看出,以 GE-SA 为复合壁材的微胶囊在 2 h 时释放了 22.12%,10 h 时释放了 47.18%,与 AVM 原药的半衰期相比,持效期提高了 2~3 倍,大大提高了原药的稳定性及持效期;以 GE-GA 为复合壁材的微胶囊在 2 h 时释放了 9.34%,10 h 时释放了 11.42%;直接喷雾干燥法的微胶囊在 2 h 时释放了 11.82%,10 h 时释放了 22.94%。以上结果表明,将 AVM 微胶囊化能明显提高芯材的稳定性,起到缓慢释放的效果。而以 GE-SA 为复合壁材的微胶囊的释放速率较以 GE-GA 为复合壁材的微胶囊和直接喷雾干燥法的微胶囊快,表现出速效性及缓释持效性。与传统的以 GE-GA 为

复合壁材和喷雾干燥的微胶囊相比,以 GE-SA 为复合壁材制备的微胶囊具有更好的实际应用性。

2.4 微胶囊的产品形态

微胶囊产品外观形态特征直接影响着微胶囊的性质,比如微胶囊产品的贮存稳定性、机械强度、流动特性,芯材的释放速率等。用 Quanta 200 环境扫描电子显微镜对阿维菌素原药、以 GE-SA 为复合壁材的微胶囊产品及其在模拟田间环境释放时的微胶囊进行观察研究,结果见图 3 至图 5。

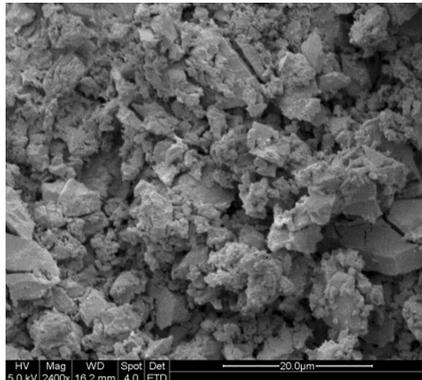


图3 AVM 原药的扫描电镜图

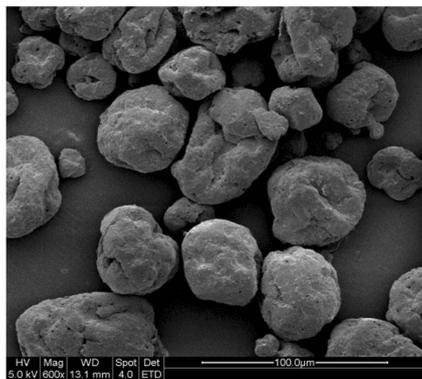


图4 以 GE-SA 为复合壁材的微胶囊扫描电镜图

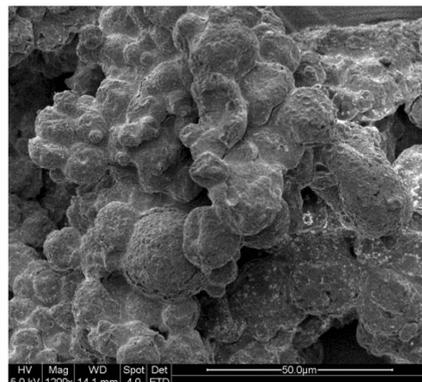


图5 以 GE-SA 为复合壁材的微胶囊在模拟田间环境下的扫描电镜图

由图 3 可以看出 AVM 原药呈现不规则性;图 4 显示的是以 GE-SA 为复合壁材的微胶囊产品,可以看出微胶囊化效果较明显,微胶囊基本呈现球形,其表面不光滑,存在些空隙,可能由于进风温度过高,水分蒸发过快,易在微胶囊壁表面形成小凹坑。在日光照射条件下测定微胶囊释放的缓释曲线,发现微胶囊颗粒间发生粘连,壁材部分降解,随后阿维菌

素芯材缓慢释放到外界环境中(图 5)。

2.5 不同方法对 AVM 微胶囊粒径分布的影响

微胶囊的粒径及其分布对微胶囊性质有很大的影响,笔者分别测定了直接喷雾干燥法、GE-GA 复合凝聚法、GE-SA 复合凝聚法 3 种方法微胶囊的粒径分布,见图 6 至图 8。可以看出,以 GE-SA 为复合壁材的微胶囊的粒径分布较直接喷雾干燥法、GE-GA 复合凝聚法的均匀,基本呈正态分布,未出现双峰分布,且平均粒径为 39.64 μm,符合后期制备微胶囊悬浮液的要求。

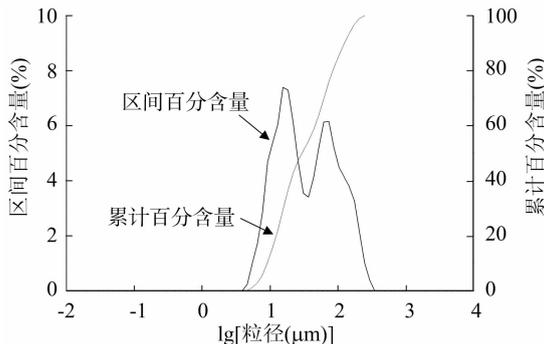


图6 直接喷雾干燥法微胶囊的粒径分布

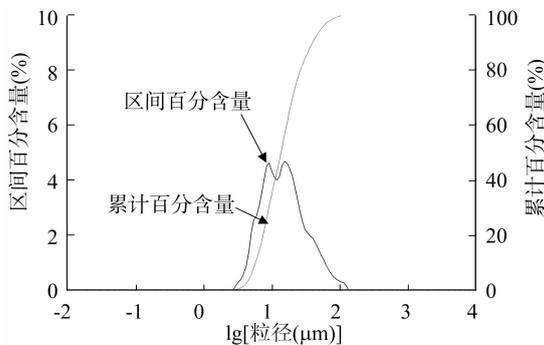


图7 以GE-GA为复合壁材的微胶囊的粒径分布

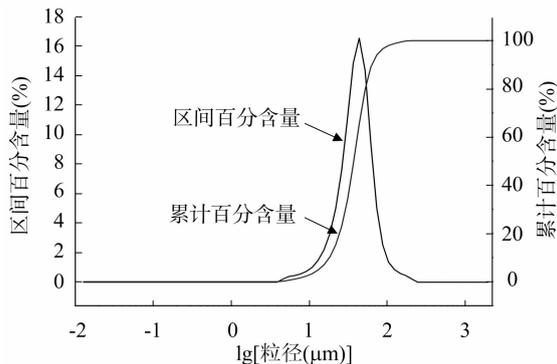


图8 以GE-SA为复合壁材的微胶囊的粒径分布

3 结论

以 GE-SA 为复合壁材制备阿维菌素微胶囊,其微胶囊化产率为 83.21%,高于以 GE-GA 为复合壁材的 79.76%和直接喷雾干燥法的 70.45%。模拟田间释放环境试验和微胶囊颗粒粒径分布结果表明,相对于其他 2 种方法,以 GE-SA 为复合壁材的微胶囊具备更佳的释放速率,且粒径分布均匀,

克热曼·赛米,岳朝阳,努尔古丽,等. 枣瘿蚊在的风险分析[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):107-109.

枣瘿蚊在的风险分析

克热曼·赛米,岳朝阳,努尔古丽,张新平,张静文,刘爱华,阿衣夏木,阿里木

(新疆林科院森林生态研究所,新疆乌鲁木齐 830000)

摘要:枣瘿蚊是我国枣树的严重病害之一,通过定性因素和定量指标体系相结合的方法对枣瘿蚊进行风险评估,得出传入新疆的风险等级,并提出相应的管理对策。应用综合分析法对其扩散蔓延的风险评估结果表明,枣瘿蚊是新疆重要的危险性有害生物,其风险值 R 为 1.76,属中度危险性有害生物。

关键词:枣瘿蚊;风险分析;红枣;新疆

中图分类号: S436.65 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0107-03

红枣为新疆特有地理产物,新疆的气候条件,尤其是东疆、南疆的气候条件完全适合红枣栽培^[1]。由于光质优越,新疆红枣相比内地红枣着色浓、颜色鲜艳、含糖量高、品质好。新疆红枣别称“黄金寿枣”,补气养血,营养丰富,有较高的医疗药用价值。除鲜食外,新疆红枣可制成多种加工品,是新疆出口商品,在国际市场上享有一定的声誉。近些年,红枣价格年年攀升,红枣产业在新疆一些地区有了较快的发展,对带动地区经济增长、尤其在带动农民增收上起到了重要作用。新疆红枣产业发展前景广阔,正面临前所未有的机遇^[2]。

枣瘿蚊(*Contarinia* sp.)别称枣芽蛆、枣叶瘿蚊,俗称卷叶蛆、枣叶蛆、枣蛆等,属双翅目瘿蚊科。该虫分布范围较广,在全国各枣区均有分布,主要危害红枣、酸枣树^[3]。枣树叶片受害后变为筒状弯曲,紫红色,质硬而脆,不久就变黑枯萎。花蕾被害后,花萼膨大,花蕾不能开放,枯黄脱落。危害幼果时,幼虫在果实内蛀食,使幼果不能正常发育,不久即变黄脱落。

收稿日期:2012-11-20

基金项目:国家农业科技成果转化资金(编号:2011GB2G400004);新疆维吾尔自治区科技重大专项。

作者简介:克热曼·赛米(1967—),女,新疆托克逊人,副研究员,主要从事森林病虫害研究。

通信作者:张新平,研究员,从事林业有害生物防治研究。E-mail:zxp74@163.com。

范围较窄。

参考文献:

- [1] Burg R W, Miller B M, Baker E E, et al. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1979, 15(3): 361-367.
- [2] Bloom R A, Matheson J C. Environmental assessment of avermectins by the US food and drug administration[J]. *Veterinary Parasitology*, 1993, 48(1/2/3/4): 281-294.
- [3] 赵世华, 刘晓松, 朱宪光, 等. 阿维菌素缓释明胶微囊制备工艺及其体外释药特性[J]. *畜牧与饲料科学*, 2004, 25(2): 37-40.
- [4] Feely W F, Crouch L S, Arison B H, et al. Photodegradation of 4'-(epimethylamino)-4'-deoxyavermectin B1a thin films on glass[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40(4): 691-696.

自2006年首先在新疆阿克苏发现枣瘿蚊之后,其他地区的枣园里也陆续出现疫情;为确定枣瘿蚊在的风险性,本研究参照有害生物危险性分析方法,通过定性和定量分析,对枣瘿蚊在的风险性进行了综合评价。

1 定性分析

1.1 枣瘿蚊分布情况(P_1)

枣瘿蚊国内主要分布在河北、河南、山东、山西、新疆等地,在等各枣区危害较为严重,已成为该地区危害枣树的主要害虫种类。由于枣瘿蚊的危害,造成严重的早落叶,影响叶片正常的光合作用,造成树木营养不良,不能适龄结果。

1.2 潜在的经济危害性(P_2)

枣瘿蚊是枣生产中重要的病害之一,主要分布于河北、河南、山东、山西、新疆(和田地区、喀什地区、哈密地区、阿克苏市扎木台实验林场及库尔勒市及且末县)等地。枣瘿蚊对花、果的直接危害造成坐果率降低,影响果实的正常发育,致使结果不良,不能适龄结果。此外,枣瘿蚊发生早、代数多、危害期长,稍有不慎,即会大量发生,严重者失去经济价值。枣瘿蚊危害一般年份产量损失20%~30%。

枣瘿蚊以其幼虫危害叶片,主要危害嫩叶、花蕾和幼果。枣树萌芽而叶片尚未展叶时,第1代幼虫就开始危害嫩芽和幼叶。嫩叶受害后,萌发速度减缓;幼叶受害后,不能正常展

- [5] Brown E N, Kessler M R, Sottos N R, et al. *In situ* poly(urea-formaldehyde) microencapsulation of dicyclopentadiene[J]. *Journal of Microencapsulation*, 2003, 20(6): 719-730.
- [6] 许时婴, 张晓鸣, 夏书芹, 等. 微胶囊技术: 原理与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [7] 孙传庆, 胡小明, 朱金玲, 等. 番茄红素的微胶囊化研究和稳定性实验[J]. *食品科技*, 2007(2): 166-170.
- [8] 齐金峰, 熊华, 陈振林, 等. 不同微胶囊化方法对叶黄素微胶囊性能的影响[J]. *食品工业科技*, 2009, 30(1): 65-67, 71
- [9] 张思宇. 光降解阿维菌素微胶囊的制备与表征[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2009.
- [10] 姜官鑫. 阿维菌素缓释载药体系的制备及其性能研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2012.
- [11] 袁青梅, 杨红卫, 周菁, 等. 生物农药微胶囊壁材料研究[J]. *功能高分子学报*, 2004, 17(4): 599-602.