

刘南南,王桂清. 新型植物源农药细辛精油乳油的研制[J]. 江苏农业科学,2019,47(13):114-118.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.13.028

# 新型植物源农药细辛精油乳油的研制

刘南南,王桂清

(聊城大学农学院,山东聊城 252059)

**摘要:**为明确细辛精油乳油制剂中有机溶剂、乳化剂的理想种类和乳油的最佳配方及配制技术,以细辛精油为原料,通过溶解度试验、亲水亲油值(HLB)测定、稳定性试验和生物活性测定法,证明 *N*-甲基吡咯烷酮和植物油乳化剂是细辛精油的理想有机溶剂和乳化剂,细辛精油乳油的配方为以 1 000 mL 计,其中,细辛精油 250 mL,*N*-甲基吡咯烷酮 675 mL,植物油乳化剂 75 mL,制备特征是先将植物油乳化剂与 *N*-甲基吡咯烷酮按比例混合均匀,再加入细辛精油。该细辛精油乳油的研制成功,填补了国内尚无植物精油乳油制剂的空白,将满足人们对绿色蔬菜和有机蔬菜的需求。

**关键词:**细辛精油;*N*-甲基吡咯烷酮;植物油乳化剂;乳油;植物源农药

**中图分类号:**S482.3<sup>+</sup>9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)13-0114-05

生物防治技术与产品已成为全球新型产业之一,具有广阔前景。截至 2016 年底,我国生物农药有效成分登记超过 90 种,登记产品约 3 000 个,生物防治技术及产品在农业有害生物防控中份额已超过 15%。辽细辛[北细辛, *Asarum heterotropoides* F. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim) Kitag.] 为马兜铃科(Aristolochiaceae)细辛属(*Asarum* Linn.)植物,是

我国重要的中草药,精油是其主要的活性成分。细辛精油具有很高的生物活性,杀虫抑菌谱广泛,作用方式多样,靶标位点丰富,具备研制开发成新型植物源农药的潜质<sup>[1-9]</sup>。本研究以细辛精油为材料,探讨其乳油制剂的配制方法,优化其配方,为将其推广应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种与试剂

1.1.1 菌种与培养 黄瓜灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)由聊城大学农学院植物病理实验室提供,该真菌经马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)平板培养基、(25±1)℃恒温培养箱中培养 5 d,备用。

1.1.2 试剂及配制 原药:辽细辛精油,超临界 CO<sub>2</sub> 法提取。

收稿日期:2018-03-20

基金项目:山东省自然科学基金(编号:Y2008D57、ZR2012CL17);聊城大学重点建设项目(编号:13KZ0801)。

作者简介:刘南南(1991—),女,山东聊城人,硕士研究生,研究方向为园林植物栽培与保护。E-mail:1150122446@qq.com。

通信作者:王桂清,博士,教授,主要从事植物保护的教学与科研工作。E-mail:wangguiqing@lcu.edu.cn。

[8]王戈,杨焕文,赵正雄,等. 不同抗性烤烟品种根际微生物数量及多样性差异研究[J]. 植物营养与肥料学报,2012,18(2):451-458.

[9]蔡秋华,左进香,李忠环,等. 抗性烤烟品种根际微生物数量及功能多样性差异[J]. 应用生态学报,2015,26(12):3766-3772.

[10]张曼. 抗香蕉枯萎病品种的抗性机理及对土壤微生物群落的影响[D]. 海口:海南大学,2016:41.

[11]韩宝坤,杜艳华. 非无菌操作下分离尖孢镰刀菌的培养基[J]. 植物病理学报,2001,31(4):373.

[12]Garbeva P, van Veen J A, van Elsas J D. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness[J]. Annual Review of Phytopathology, 2004, 42: 243-270.

[13]刘俊杰,王光华,金剑,等. 磷浓度处理对大豆根际土壤微生物群落结构的影响[J]. 大豆科学,2008,27(5):801-805.

[14]Perez C A, Dill-Macky R, Kinkel L. Management of soil microbial communities to enhance populations of *Fusarium graminearum* - antagonism in soil[J]. Plant and Soil, 2008, 302(1/2): 53-69.

[15]Janvier C, Villeneuve F, Alabouvette C, et al. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(1): 1-

23.

[16]董道峰,王秀徽,曹志平. 番茄抗性砧木的运用对土壤微生物群落的影响[J]. 农业环境科学学报,2007,26(3):1121-1125.

[17]Harper J L. Studies in the resistance of certain varieties of banana to Panama disease[J]. Plant and Soil, 1950, 2(4): 383-394.

[18]李洪连,王守正,张明智. 棉花抗、感枯萎病品种根际微生物数量研究[J]. 河南农业大学学报,1990,24(1):49-56.

[19]周宝利,陈志霞,杜亮,等. 不同抗病性茄子根系分泌物对黄萎菌的化感作用[J]. 生态学报,2011,31(14):3964-3972.

[20]冯洁,陈其焱,石磊岩. 棉花幼苗根系分泌物与枯萎病关系的研究[J]. 棉花学报,1991,3(1):89-96.

[21]董艳,董坤,郑毅,等. 不同抗性蚕豆品种根系分泌物对枯萎病菌的化感作用及根系分泌物组分分析[J]. 中国生态农业学报,2014,22(3):292-299.

[22]邱文龙. 不同品种烟草根系分泌物的组分分析与抗黑胫病的关系[D]. 泰安:山东农业大学,2014:48.

[23]任志刚,盖琼辉. 抗感棉花品种根系分泌物及其对枯萎菌的影响[J]. 西北农业学报,2016,25(5):702-706.

[24]田丹丹,周维,黄素梅,等. 不同香蕉品种根系分泌物对香蕉枯萎病致病菌的影响及组成分析[J]. 热带作物学报,2017,38(5):910-914.

有机溶剂:二甲基亚砷,天津汇英化学试剂有限公司生产,含量 $\geq 99.00\%$ ;乙酸乙酯,莱阳经济技术开发区精细化工厂生产,含量 $\geq 99.50\%$ ;无水乙醇,天津市登科化学试剂有限公司生产,含量 $\geq 99.70\%$ ;石油醚,天津市登科化学试剂有限公司生产,含量 $\geq 94.78\%$ ;N-甲基吡咯烷酮,天津市大茂化学试剂厂生产,含量 $\geq 99.00\%$ ;以上溶剂均为分析纯。

乳化剂:植物油乳化剂(EL),聊城大学实验室生产;乳化剂 601,宜兴市双利化工有限公司生产;乳化剂 602,杭州市电化集团助剂化工有限公司生产;吐温-80,郑州化工试剂厂生产,含量 $\geq 97.00\%$ ;By-140,南京太化化工有限公司生产。

以上试剂无菌水配制终浓度为 62.5、125.0、250.0、500.0、1 000.0 mg/L。

## 1.2 试验方法

1.2.1 抑菌试验 采用生长速率法<sup>[10]</sup>测定乳化剂、有机溶剂、混剂、乳油等对黄瓜灰霉病菌的抑制作用。制含药培养基,菌饼直径 0.5 cm,每皿 1 块,3 次重复,(25 $\pm$ 1)℃光照培养。待对照菌落直径达 3 cm 以上时,用十字交叉法测量菌落直径,计算抑制生长率。

菌丝生长抑制率=(对照菌落生长直径-处理菌落生长直径)/对照菌落生长直径 $\times 100\%$ 。

1.2.2 溶解度测定 根据 2010 版药典<sup>[11]</sup>测定细辛精油在 5 种有机溶剂中的溶解度。若 10 mL 溶剂不能使 1 mL 细辛精油完全溶解,则该溶剂不适合配制乳油制剂,弃去。如果在某一溶剂中完全溶解时,则将其混合液放入 0℃冰箱观察分层和沉淀产生情况。根据下式计算溶解度,根据溶解度大小,筛选出合适的单一溶剂。

溶解度=精油的体积(mL)/所用溶剂的体积(mL) $\times 100\%$ 。

1.2.3 分散性测定 参考吴学民等的方法<sup>[12]</sup>测定“1.1.2”节 5 种单一乳化剂的分散性,以及 N-甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂按不同比例(79:1,39:1,19:1,9:1,4:1,1:1)进行复配后混合物的分散性。

1.2.4 乳油配方筛选 根据有机溶剂和乳化剂的合适配比,将其与细辛精油按比例配制成乳油配方,进行抑菌试验,选出增效最强的配制比例。

1.2.5 稳定性测定 标准稳定性测定:参照 GB/T 1603—2001《农药乳液稳定性测定方法》,将配好的 0.5 mL 乳油逐滴加入盛有 100 mL 342 g/L 标准硬水的具塞量筒中,上下颠倒 30 次后将量筒放到(30 $\pm$ 2)℃的水浴锅中,静止 1 h 后无

浮油、浮膏和沉淀为合格。

低温稳定性测定:参照 GB/T 19137—2003《农药低温稳定性测定方法》,取 80 mL 配好的乳油置于 100 mL 烧杯中,0℃保持 1 h,观察有无固体或油状物析出变化。继续在(0 $\pm$ 2)℃的冰水浴中放置 7 d,800 r/min 离心 15 min,计算沉淀物体积。

热贮稳定性测定:参照 GB/T 19136—2003《农药热贮稳定性测定方法》,将配好的乳油 10 g 密封于具塞试管中,3 次重复,冷却至室温称质量。将封好的样品放到(54 $\pm$ 2)℃恒温箱中放置 14 d。取出,将外面擦净后称质量,质量未发生变化的试样,于 24 h 内测定含量。以热贮前测定的含量作为对照计算分解率,热贮分解率 $\leq 5\%$ 为合格。

热贮分解率=[(热贮前含量-热贮后含量)/热贮前含量] $\times 100\%$ 。

1.2.6 药效对比试验 供试试剂:细辛精油 EC(乳油),4 种农药(2.0 $\times 10^9$  亿孢子/g 蜡质芽孢杆菌 WP(可湿性粉剂)、0.3% 苦参碱水剂、50% 福美双 WP、10.3% 霜霉立克 EC(10% 的霜氰唑和 0.3% 的丁子香酚)等。

供试靶标:黄瓜灰霉病菌。

试验方法:生长速率法,同“1.2.1”节。

## 1.3 数据处理

试验数据线性回归由 SPSS 13.0 完成;差异显著性分析依据 Duncan's 新复极差法,由 DPSv13.0 专业版完成。并利用 Wadley 法<sup>[13]</sup>计算复配组合增效系数(SR),评价试剂复配增效影响因子。

## 2 结果与分析

### 2.1 有机溶剂的筛选

2.1.1 有机溶剂的溶解度测定 在实验室测定了二甲基亚砷、石油醚、乙酸乙酯、无水乙醇、N-甲基吡咯烷酮等有机溶剂对细辛精油的溶解度,结果表明,二甲基亚砷和无水乙醇与细辛精油任意比互溶,且放置后无分层;乙酸乙酯和 N-甲基吡咯烷酮与细辛精油 1:1 溶解,溶解度为 100%;而细辛精油在石油醚中难溶,摇动试管也不能完全溶解,放置一段时间后,出现明显分层。

2.1.2 有机溶剂对黄瓜灰霉病菌的抑菌作用 在实验室内,采用生长速率法测定了 5 种有机溶剂对黄瓜灰霉病菌的抑制作用,结果见表 1。

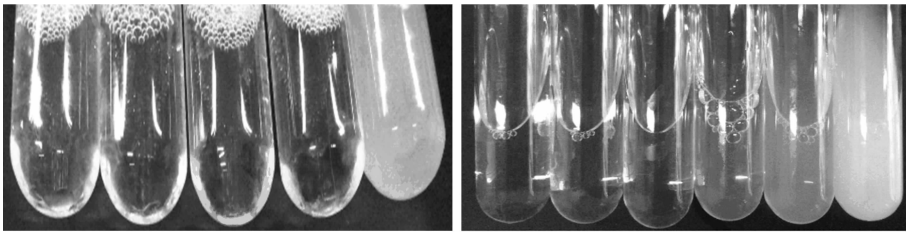
表 1 有机溶剂对黄瓜灰霉病菌的毒力效果

有机溶剂种类	回归方程	相关系数 (r)	EC <sub>50</sub> (mg/L)	EC <sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (mg/L)
二甲基亚砷	$y = 0.9149 + 1.1059x$	0.970 0	4 942.03	2 029.12 ~ 12 036.54
石油醚	$y = 0.6713 + 1.1465x$	0.981 8	5 963.11	2 882.08 ~ 12 337.81
乙酸乙酯	$y = 3.1177 + 0.4364x$	0.985 2	20 556.69	8 454.07 ~ 49 985.06
无水乙醇	$y = 0.8590 + 1.5098x$	0.980 7	553.04	416.04 ~ 735.14
N-甲基吡咯烷酮	$y = 3.2279 + 0.7188x$	0.996 9	292.09	267.08 ~ 318.97

从表 1 可以看出,N-甲基吡咯烷酮的抑制中浓度 EC<sub>50</sub> 较低,为 292.09 mg/L,而其他 4 种有机溶剂的 EC<sub>50</sub> 均超过了 550 mg/L,说明 N-甲基吡咯烷酮的抑制效果较好,即 N-甲基吡咯烷酮是较理想的有机溶剂。

### 2.2 乳化剂的筛选

2.2.1 乳化剂分散性的测定 植物油乳化剂、吐温-80、乳化剂 601、乳化剂 602、By-140 等 5 种乳化剂以及 N-甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂混合试剂的分散性,结果见图 1。



左图为乳化剂单剂分散性，从左向右分别为乳化剂 601、乳化剂 602、吐温-80、By 140、植物油乳化剂。右图为 *N*-甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂混合试剂分散性，从左向右比例依次为 79 : 1、39 : 1、19 : 1、9 : 1、4 : 1、1 : 1

图1 乳化剂的分散性

从试验观察过程和图 1 可以得出,单一乳化剂的分散性不同,5 种供试乳化剂的分散性依次为植物油乳化剂 > 乳化剂 601 = 乳化剂 602 > 吐温 - 80 = By - 140。植物油乳化剂逐滴加入即可分散溶解,乳化成乳白色液体,继续观察,溶液呈淡蓝色荧光,分散性最好;乳化剂 601 和乳化剂 602 逐滴加入自动分散溶解,轻轻摇晃可呈雾状散开,挂壁均匀,溶液透明,分散性较好;吐温 - 80 和 By - 140 逐滴加入不会立刻分散溶解,轻轻摇动一段时间后分散溶解,溶液透明。分散性与乳化剂的亲水亲油 (HLB) 值有关,植物油乳化剂的 HLB 值为 7 ~ 8,吐温 - 80 的为 15,By - 140 为 10 ~ 16,乳化剂 601 和乳化剂 602 为 12 ~ 16。相比较而言,植物油乳化剂的 HLB 值最小,说明植物油乳化剂的亲油性较强,形成稳定的乳状分散,所以分散性最好,而另外 4 种乳化剂的 HLB 值较大,亲水性

较好,形成透明溶液,所以分散性没有那么好。  
*N* - 甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂按不同比例混合,逐滴加入水中,呈丝状分散开,轻轻摇动,溶解分散。且随着植物油乳化剂所占比例的增加,荧光蓝加强,乳化效果加强,分散性增强。

2.2.2 乳化剂对黄瓜灰霉病菌的抑菌作用 在实验室内,采用生长速率法测定了 5 种乳化剂对黄瓜灰霉病菌的抑制作用,在供试浓度下,植物油乳化剂、乳化剂 601 和乳化剂 602 等对黄瓜灰霉病菌表现出明显的抑制作用,毒力效果见表 2;而吐温 - 80 表现为促进作用,By - 140 表现为高浓度 (≥500 mg/L) 促进、低浓度 (≤250 mg/L) 抑制。因此吐温 - 80 和 By - 140 对黄瓜灰霉病菌的毒力效果没有计算。

表 2 乳化剂对黄瓜灰霉病菌的毒力效果

乳化剂种类	回归方程	相关系数 ( <i>r</i> )	EC <sub>50</sub> (mg/L)	EC <sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (mg/L)
乳化剂 601	$y = 1.810\ 2 + 0.943\ 6x$	0.993 0	2 401.19	1 724.53 ~ 3 343.34
乳化剂 602	$y = 1.856\ 5 + 1.012\ 0x$	0.996 2	1 276.87	1 056.74 ~ 1 542.85
植物油乳化剂	$y = 2.714\ 9 + 0.988\ 4x$	0.957 1	205.09	145.59 ~ 288.89

从表 2 可以看出,植物油乳化剂的 EC<sub>50</sub> 数值较小,为 205.09 mg/L;乳化剂 601 是前者的 11.71 倍,为 2 401.19 mg/L;乳化剂 602 是前者的 6.23 倍,为 1 276.87 mg/L。

综合分散性试验和抑菌作用,植物油乳化剂为理想乳

化剂。  
2.3 有机溶剂和乳化剂的配比试验  
*N* - 甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂混合对黄瓜灰霉病菌的抑制作用,结果见表 3。

表 3 *N* - 甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂混合对黄瓜灰霉病菌的毒力效果

混合比例	回归方程	相关系数 ( <i>r</i> )	EC <sub>50</sub> (mg/L)	EC <sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (mg/L)	增效系数
1 : 1	$y = 4.192\ 8 + 0.526\ 6x$	0.971 6	34.11	18.50 ~ 62.91	7.218 5
4 : 1	$y = 3.911\ 3 + 0.593\ 0x$	0.982 8	68.54	48.53 ~ 96.80	4.084 4
9 : 1	$y = 3.038\ 6 + 0.878\ 2x$	0.974 5	171.22	130.23 ~ 225.10	1.713 2
19 : 1	$y = 0.352\ 1 + 1.613\ 4x$	0.997 1	760.05	668.65 ~ 863.95	0.395 4
39 : 1	$y = 2.675\ 8 + 0.745\ 4x$	0.977 2	1 312.10	816.89 ~ 2 107.51	0.231 9
79 : 1	$y = 2.365\ 5 + 0.870\ 7x$	0.972 5	1 060.75	660.76 ~ 1 702.89	0.288 6

从表 3 可以看出,*N* - 甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂比例为 1 : 1、4 : 1、9 : 1 时,EC<sub>50</sub> 较低,分别为 34.11、68.54、171.22 mg/L,且增效系数分别为 7.218 5、4.084 4 和 1.713 2,表现为增效作用;但乳油制剂要求,乳化剂的占比为 8% ~ 10%,所以 1 : 1、4 : 1 这 2 个配比不适合用于乳油制剂。当比例为 19 : 1、39 : 1、79 : 1 时,EC<sub>50</sub> > 760 mg/L,增效系数 < 0.4,表现出拮抗作用。说明 *N* - 甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂比例为 9 : 1 时最为合适。

2.4 细辛精油乳油的配方筛选  
在实验室内,以 *N* - 甲基吡咯烷酮为有机溶剂、以植物油乳化剂为乳化剂配制细辛精油乳油,采用生长速率法测定细辛精油含量分别为 25.0% 和 12.5% 的乳油对黄瓜灰霉病菌的抑制作用,结果见表 4。  
由表 4 可见,当细辛精油含量为 25.0% 时的乳油对黄瓜灰霉病菌的抑制效果比较好,EC<sub>50</sub> 均低于 750 mg/L,而含 12.5% 细辛精油乳油对黄瓜灰霉病菌的抑制效果不理想,

表 4 细辛精油乳油对黄瓜灰霉病菌的毒力效果

比例	回归方程	相关系数 ( <i>r</i> )	EC <sub>50</sub> (mg/L)	EC <sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (mg/L)	增效系数
25.0% 细辛精油 (4 : 1)	$y = 1.689\ 8 + 1.426\ 7x$	0.996\ 2	209.00	189.47 ~ 230.55	0.382\ 3
25.0% 细辛精油 (9 : 1)	$y = 2.362\ 1 + 1.109\ 3x$	0.961\ 0	238.82	173.47 ~ 328.80	0.703\ 2
25.0% 细辛精油 (19 : 1)	$y = 0.743\ 4 + 1.485\ 4x$	0.991\ 5	734.00	591.38 ~ 911.01	0.532\ 0
25.0% 细辛精油 (39 : 1)	$y = 0.100\ 2 + 1.798\ 3x$	0.995\ 0	530.22	461.12 ~ 609.67	0.878\ 9
12.5% 细辛精油 (9 : 1)	$y = 0.517\ 9 + 1.268\ 8x$	0.963\ 7	3 409.66	1 421.78 ~ 8 176.89	
细辛精油	$y = -0.312\ 2 + 2.413\ 7x$	0.993\ 7	158.79	138.30 ~ 182.32	

EC<sub>50</sub> 高达 3 409.66 mg/L,说明细辛精油含量为 25.0% 的乳油比较理想。比较细辛系数,当 *N*-甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂比例为 9 : 1 时,表现为相加作用,说明含 25.0% 细辛精油的 *N*-甲基吡咯烷酮与植物油乳化剂比例为 9 : 1 的乳油配比为最优。

2.5 乳油稳定性测定

2.5.1 标准稳定性测定 在实验室用恒温水浴锅在 30 ℃ 下在硬水 (CaCl、MgCl) 中对所选理想乳油进行 1 h 的标准稳定性测定,观察结果为无浮油、浮膏和沉淀,乳油合格。说明 CaCl 与 MgCl 在水中的各种离子键 (Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Cl<sup>-1</sup>) 对乳化的各种分子键没有破坏作用。

2.5.2 低温稳定性测定 在实验室 0 ℃ 下对所选理想乳油进行低温稳定性测定,结果观察没有任何析出物或沉淀,没有颜色和状态的变化,低温稳定性较好。本来各种单一乳化剂

和有机溶剂以及细辛精油在低温为合适的储存方式,所以乳油在 0 ℃ 低温下,稳定性也会比较好。

2.5.3 高温稳定性测定 在实验室用恒温箱 54 ℃ 进行 14 d 的高温稳定性测定,热贮前含量为 6.336 1 g,热贮后含量为 6.024 8 g,热贮分解率为 4.913 1%,但能观察到少许黑色沉淀物,说明经过高温稳定性测定,乳油发生变化,但质量变化不大,热贮分解率≤5%,即高温稳定性较好。

2.5.4 稳定性测定后的抑制作用 在实验室内,采用生长速率法测定稳定性处理后乳油对黄瓜灰霉病菌的抑制作用,结果见表 5。0 ℃ 贮藏后,EC<sub>50</sub> 为 298.89 mg/L,是处理前乳油 EC<sub>50</sub> 为 238.82 mg/L 的 1.25 倍,即低温贮藏后,细辛精油乳油的药效略有下降;54 ℃ 贮藏,EC<sub>50</sub> 仅为 4.58 mg/L,约为处理前的 1/50,表明所配制的乳油高温贮藏后药效提高。

表 5 稳定性处理后乳油对黄瓜灰霉病菌的毒力效果

样品 (℃)	回归方程	相关系数 ( <i>r</i> )	EC <sub>50</sub> (mg/L)	EC <sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (mg/L)
0	$Y = 2.418\ 2 + 1.042\ 9x$	0.983\ 4	298.89	242.80 ~ 363.93
54	$Y = 4.841\ 5 + 0.239\ 8x$	0.962\ 5	4.58	1.23 ~ 17.04

2.6 药效对比试验

在实验室采用生长速率法比较筛选出的理想细辛精油乳油与较广泛使用的杀菌剂 (苦参碱、蜡质芽孢杆菌、霜霉立克和福美双) 对黄瓜灰霉病菌的抑制作用,结果见表 6。4 种已

经推广使用杀菌剂的 EC<sub>50</sub> 均低于 220 mg/L,即对黄瓜灰霉病菌的抑制效果都比较理想。所配制的细辛精油乳油的 EC<sub>50</sub> 为 238.82 mg/L 与福美双 EC<sub>50</sub> 为 219.72 mg/L 的抑制效果相当,说明细辛精油乳油可以推广应用于农业生产。

表 6 农药对黄瓜灰霉病菌的毒力效果

样品	回归方程	相关系数 ( <i>r</i> )	EC <sub>50</sub> (mg/L)	EC <sub>50</sub> 的 95% 置信区间 (mg/L)
苦参碱	$Y = 3.900\ 2 + 1.506\ 0x$	0.986\ 1	5.37	4.06 ~ 7.11
蜡质芽孢杆菌	$Y = 3.354\ 3 + 1.214\ 9x$	0.972\ 4	22.63	13.25 ~ 38.64
霜霉立克	$Y = 1.962\ 9 + 1.564\ 4x$	0.973\ 4	87.38	67.23 ~ 113.57
福美双	$Y = 2.142\ 0 + 1.220\ 4x$	0.987\ 8	219.72	184.17 ~ 262.14
细辛精油乳油	$Y = 2.362\ 1 + 1.109\ 3x$	0.961\ 0	238.82	173.47 ~ 328.80

3 结论与讨论

植物源农药来源于自然,杀菌谱广,毒性小,不易产生药害,对人畜健康危害小,并且有助于提高农产品质量。细辛精油抑菌谱较广,具有开发成植物源农药的价值。本研究以细辛精油为原料,通过溶解度、分散性、配比和稳定性试验等优化了其乳油配方:*N*-甲基吡咯烷酮、植物油乳化剂为最佳的有机溶剂和乳化剂,二者的最佳混合比为 9 : 1;最佳的细辛精油乳油配方为细辛精油 : 有机溶剂 : 乳化剂 = 10 (25.0%) : 27 (67.5%) : 3 (7.5%)。所配细辛精油乳油的稳定性较好,其对黄瓜灰霉病菌的抑制作用与 50% 的福美双

WP 的抑制效果相当。其制备方法特征是,先将植物油乳化剂与 *N*-甲基吡咯烷酮按比例混合均匀,再加入细辛精油。该乳油的研制成功,填补了国内尚无植物精油乳油制剂的空白,将满足人们对绿色蔬菜和有机蔬菜的需求,推广使用必将带来巨大的生态、经济和社会效益。

乳油是农药传统的、常见的基本剂型之一,相较其他农药剂型而言,乳油具有诸多优势,工艺简单,药效高,施用方便,性质较稳定,便于长期储存,防治效果较为理想。因而使农药乳油制剂产品在农作物的防虫和除草方面发挥出了良好的应用价值,至今仍旧是我国及大多数发展中国家所使用的主要农药剂型之一,占制剂产量的 50%<sup>[14]</sup>。

乳油由原药、有机溶剂、乳化剂和其他成分组成,使用时直接加水稀释。溶剂对原药起溶解和稀释作用,要求对原药溶解度大,与原药相容性好等。国际上有在农药制剂中禁用甲苯、二甲苯等有机溶剂的规定;我国台湾地区农业委员会对二甲苯、苯胺、苯、四氯化碳、三氯乙烯等农药产品中使用的38种有机溶剂进行了限量管理;2006年以来,工业和信息化部、国家发展改革委员会等陆续出台政策,在适当的时候除一些只适合制备乳油的农药产品外,停止以苯、甲苯、二甲苯等芳烃类为溶剂的乳油产品生产。本研究选用非限制性的 $N$ -甲基吡咯烷酮为配制细辛精油乳油的较理想有机溶剂,该溶剂沸点高、极性高、黏度低、溶解能力强、无腐蚀、毒性小、生物降解能力强、挥发度低、化学稳定性优良、热稳定性优良,广泛应用于石油化工、药品、农药等许多方面<sup>[15]</sup>。乳化剂是乳油配方筛选的关键,使得原本互不相容的油水充分混合乳化并长期稳定存在,乳化后的乳液具有极高的稳定性<sup>[14]</sup>。乳油制剂的禁限还与其中必不可少的乳化剂有一定的关系。烷基酚聚氧乙烯醚类乳化剂由于其生物降解性差,并随着降解过程,毒性增大,对鱼类、无脊椎动物、海藻和微生物具有很高毒性<sup>[16]</sup>。本研究中作为最佳乳化剂(植物油乳化剂)和有机溶剂( $N$ -甲基吡咯烷酮)避免了这些问题,研制的理想乳油也克服了传统乳油存在的问题。

我国是一个农业大国,农药在农业生产中发挥着十分重要的作用。为了降低农药残留量,努力开发新型农药已经成为当务之急。生物农药又称天然农药,在有机农业使用的整合害虫管理系统(IPM)中扮演重要的角色。植物源农药作为绿色农药之一,在未来的植物保护中肩负着巨大的历史使命<sup>[17-18]</sup>。湖北省农业科学院喻大昭研究员团队从植物代谢产物中发现和创制了用于防治植物病害的天然萜烯类农用系列杀菌剂,荣获第十七届中国专利金奖<sup>[19]</sup>,自2006年获得发明专利授权后,产品累计应用面积达141.07万 $\text{hm}^2$ ,创造经济效益43亿元。0.5%丁子香酚可溶液剂250倍液+1.3%苦参碱水剂500倍液果穗套袋前混用浸果对葡萄灰霉病防效达85%以上<sup>[20]</sup>;LS-1是东北农业大学植物保护系研制的植物源杀菌剂,对番茄叶霉病、番茄早疫病和黄瓜霜霉病均有良好的防治效果,与甲基托布津和诺毒霉等防效相当<sup>[21]</sup>;20%银泰EC在0~200  $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内,对早疫病菌的抑菌活性和对照药剂扑海因基本相当,对灰霉病菌的抑菌活性强于扑海因<sup>[22]</sup>。本研究表明,25.0%的细辛精油乳油对黄瓜灰霉病菌的 $\text{EC}_{50}$ 为238.82  $\text{mg/L}$ 与福美双 $\text{EC}_{50}$ 为219.72  $\text{mg/L}$ 的抑制效果相当,说明细辛精油乳油可以推广应用于农业生产。

近年来,随着国内农资市场向外开放,一些欧美企业将新型的植物源农药带进我国市场,体现了强大的生命力。Michael等以壳聚糖和植物农药为原料,研制了壳聚糖纳米农药制剂CSNS-TPP-PONNEM,该制剂对棉铃虫的拒食活性为88.5%,杀虫活性为90.2%<sup>[23]</sup>。今后需进一步加大细辛提取物及其他植物源农药新剂型的研究。

#### 参考文献:

[1]王桂清. 细辛精油对七种玉米病害的离体抑菌效果[J]. 沈阳农业大学学报,2007,38(6):807-810.

- [2]王桂清. 辽细辛提取物对灰葡萄孢菌的抑制效果[J]. 植物保护,2008,34(2):53-57.
- [3]王桂清,姬兰柱,张弘. 辽细辛精油对淡色库蚊的杀伤作用[J]. 中国生物防治,2008,24(2):112-115.
- [4]王桂清,张敏,张军华. 细辛精油和4种化学药剂对黄瓜灰霉病菌的抑制作用[J]. 华中农业大学学报,2008,27(5):597-600.
- [5]王桂清,孙华. 活体条件下辽细辛精油对灰葡萄孢菌细胞壁降解酶活性的影响[J]. 沈阳农业大学学报,2009,40(4):426-430.
- [6]王桂清,张涛. 辽细辛精油对黄瓜灰霉病菌菌丝体细胞膜通透性的影响[J]. 华北农学报,2011,26(5):5-8.
- [7]姬兰柱,王桂清,刘艳,等. 细辛精油对2种农业害虫保护酶和解毒酶活性的影响[J]. 河南农业科学,2013,42(12):79-85.
- [8]李凡海,张秀省,王桂清,等. 不同方法提取的北细辛精油指纹图谱分析及杀虫活性比较[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):124-126.
- [9]王桂清,李凡海,姬兰柱. 辽细辛精油不同馏分杀虫活性比较[J]. 湖北农业科学,2015,54(2):355-358.
- [10]王桂清,姬兰柱,张弘,等. 公、母丁香乙醇提取物离体抑菌活性比较[J]. 农药,2006,45(12):852-855.
- [11]国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2009.
- [12]吴学民,冯建国,马超. 农药制剂加工实验[M]. 北京:化学工业出版社,2009.
- [13]农业部农药检定所. 农药室内生物测定试验准则杀菌剂第6部分混配的联合作用测定:NY/T 1156.6—2006[S]. 北京:中国农业出版社,2006.
- [14]吴宇明. 关于农药乳油制剂的质量问题与措施探究[J]. 科技致富向导,2014(21):281.
- [15]徐兆瑜. 聚乙烯吡咯烷酮和 $N$ -甲基吡咯烷酮的应用进展[J]. 化工技术与开发,2004,33(3):19-23,33.
- [16]王慧君. 5%米尔贝乳油配方研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2010.
- [17]金孝琴. 银杏酚酸与印楝素及其复合混配剂对小菜蛾的毒效研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(4):76-77.
- [18]杨小辉,彭玉萌,霍光华,等. 无患子、木荷、广玉兰提取物组方复配及其抗稻瘟病体内、体外活性研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(19):179-183.
- [19]郑庆伟. “新型天然萜烯化合物农用杀菌剂的创制及其应用”成果喜获第十七届中国专利金奖[J]. 农药市场信息,2016(2):51.
- [20]杨勇,王建华,吉沐祥,等. 植物源农药丁子香酚与苦参碱及其混配剂对葡萄灰霉病的毒力测定及田间防效[J]. 江苏农业科学,2016,44(12):160-163.
- [21]祖英治,文景芝,李路明,等. 植物源杀菌剂LS-1防治3种蔬菜病害的田间药效试验[J]. 东北农业大学学报,2005,36(2):174-177.
- [22]孟昭礼,罗兰,袁忠林,等. 人工模拟的植物源杀菌剂银泰防治番茄3种病害效果研究[J]. 中国农业科学,2002,35(7):863-866.
- [23]Michael G P, Savarimuthu I, Munusamy R G, et al. Comparative studies of tripolyphosphate and glutaraldehyde-cross-linked chitosan - botanical pesticide nanoparticles and their agricultural applications[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017,104:1813-1819.