

· 研究简报 ·

# 蓖麻不同部位蓖麻碱的含量及其杀虫活性

刘进进, 袁慧慧, 王金威, 潘铁英, 蓝闽波\*

(华东理工大学 上海市功能性材料化学重点实验室/分析测试中心, 上海 200237)

**摘要:**采用高效液相色谱(HPLC)外标法测定并比较了蓖麻 *Ricinus communis* 不同部位和不同生长期蓖麻叶中蓖麻碱的含量,并研究了其对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 的毒杀效果。结果表明,蓖麻不同部位中蓖麻碱的含量差异较大,由高到低依次为叶(1.005%)>籽壳(0.568%)>饼粕(0.451%)>茎(0.429%)>籽仁(0.235%);不同生长期蓖麻叶中蓖麻碱的含量也存在很大差别,其中鲜绿叶中的含量最高。提取的蓖麻碱对甜菜夜蛾具有良好的毒杀效果,施药72 h后对2龄幼虫的 $LC_{50}$ 值为0.35 mg/mL。

**关键词:**蓖麻;蓖麻碱;高效液相色谱;甜菜夜蛾;杀虫活性

**DOI:**10.3969/j.issn.1008-7303.2013.02.19

中图分类号:O657.72;S482.39

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2013)02-0239-04

## Ricinine content in different parts of *Ricinus communis* and its insecticidal activity

LIU Jinjin, YUAN Huihui, WANG Jinwei, PAN Tiejing, LAN Minbo\*

(Shanghai Key Laboratory of Functional Materials Chemistry/Research Centre of Analysis and Test, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** Ricinine content in different parts of *Ricinus communis* and the leaves of different growth periods was determined and compared by using high performance liquid chromatography (HPLC) external standard method. The insecticidal activity of extracted ricinine towards *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) was investigated. The results showed that the content of ricinine varied in different parts of *R. communis*, and decreased in the order of leaf (1.005%) > seed shell (0.568%) > castor bean meal (0.451%) > stem (0.429%) > seed kernel (0.235%). Different contents of ricinine were also found in the leaves of various growth periods, and the highest content was detected in the fresh green leaves. The extracted ricinine exhibited insecticidal activity towards 2<sup>nd</sup> instar larvae of *S. exigua*, with  $LC_{50}$  value of 0.35 mg/mL after 72 h.

**Key words:** *Ricinus communis*; ricinine; high performance liquid chromatography; *Spodoptera exigua*; insecticidal activity

蓖麻碱(ricinine)是蓖麻 *Ricinus communis* 中的主要毒性成分之一,化学名为3-氰基-4-甲氧基-1-甲

基-2-吡啶酮( $C_8H_8N_2O_2$ )。纯净的蓖麻碱为白色针状或棒状结晶,易溶于热水和热氯仿中<sup>[1]</sup>,对天幕

收稿日期:2012-09-21;修回日期:2013-01-08.

作者简介:刘进进,女,在读硕士研究生, E-mail: ljinjin877@163.com; \* 蓝闽波,通信作者(Author for correspondence),男,博士,教授,博士生导师,主要从事天然产物活性研究, E-mail: minbolan@ecust.edu.cn

基金项目:上海市科技兴农重点攻关项目资助(沪农科攻字2010第2-1号).

毛虫、桃蚜、小菜蛾等害虫有不同的灭杀作用,可用于生物农药的开发<sup>[2-6]</sup>。蓖麻碱存在于蓖麻的茎、叶、籽以及饼粕中<sup>[1]</sup>,目前对蓖麻的研究和利用主要集中在蓖麻饼粕和蓖麻籽上<sup>[7-12]</sup>。而针对蓖麻茎、叶等部位中蓖麻碱的研究以及开发利用尚未引起足够重视。笔者利用 HPLC 外标法对蓖麻不同部位、不同生长期蓖麻叶中蓖麻碱的含量进行了测定和比较,考察了从蓖麻叶中提取的蓖麻碱对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 的毒杀效果。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试植物与试虫

蓖麻籽、叶、茎、饼粕均购于福建莆田。蓖麻碱(Ricinine)对照品为自制(用质谱、核磁共振谱和氢谱确定其结构<sup>[13]</sup>,HPLC 归一化法测定其纯度大于 99.6%)。甜菜夜蛾 *S. exigua* 为上海市农业科学院生态环境保护研究所害虫防治研究室继代饲养的 2 龄幼虫。

### 1.2 仪器与试剂

Agilent-1260 高效液相色谱仪(配有 G1329B 自动进样器和 G1314F 紫外检测器);Evolution-220 紫外-可见分光光度计(Thermo Scientific);MP200A 电子天平(上海良平仪器仪表有限公司);USC-302 超声波清洗仪(上海波龙电子设备有限公司);ZRX-300D 型智能人工气候培养箱(杭州钱江仪器设备有限公司)。超纯水(18.2 M $\Omega$  cm,通过实验室水纯化系统制备);甲醇为色谱纯,上海星可生化有限公司,其余试剂均为分析纯。

### 1.3 色谱条件

Agilent Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm,5  $\mu$ m);流动相:V(甲醇):V(水)=20:80,流速 1.0 mL/min;自动进样;进样量 10  $\mu$ L;等度洗脱 15 min;柱温 25  $^{\circ}$ C;检测波长 308 nm。

### 1.4 蓖麻碱对照品的配制

准确称取 0.02 g(精确至 0.000 2 g)自制的蓖麻碱对照品,用超纯水配制成质量浓度分别为 1 600、800、400、200、100、50、10、5  $\mu$ g/mL 的对照品溶液,备用。

### 1.5 蓖麻碱的提取及供试品的制备

蓖麻籽、叶、茎、饼粕均于 40  $^{\circ}$ C 鼓风干燥箱中烘至恒重。将籽壳与籽仁分开,经机械粉碎机分别研磨成粉;蓖麻叶、茎、饼粕也研磨成粉。分别称取一定量的籽仁、籽壳、叶、茎和饼粕粉末,加入适量的石油醚,混匀后超声脱脂 2 次,过滤留渣,待石油醚挥

发干至恒重后备用。

分别称取脱脂后的蓖麻叶、茎、籽壳、籽仁、饼粕各 3 份,每份 30.0 g,按料液质量比为 1:15 加入超纯水,浸泡 0.5 h,加热回流 2 h,趁热过滤;将滤渣重复上述步骤 3 次。将各样品的 3 次提取液合并,旋转蒸发浓缩至 250 mL,密封贮存于 4  $^{\circ}$ C 的冰箱内,待用。

### 1.6 方法学考察

1.6.1 线性关系 将对照品溶液按照 1.3 节省谱条件进样分析。以峰面积  $A_s$ (mAU  $\cdot$  s)为纵坐标,质量浓度  $\rho$ ( $\mu$ g/mL)为横坐标,进行线性拟合,得到回归方程。

1.6.2 精密度 取蓖麻碱对照品溶液,重复进样 6 次,计算峰面积的相对标准偏差(RSD)。

1.6.3 重复性 取同一样品 5 份,制备 5 份供试品溶液,进样测定峰面积,计算蓖麻碱含量的 RSD。

1.6.4 稳定性 取同一供试品溶液,分别于 0、1、2、4、8、12、24 h 进样,计算蓖麻碱含量的 RSD。

1.6.5 回收率 准确称取已知蓖麻碱含量的样品 3 份,分别按蓖麻碱含量的 80%、100% 和 120% 的量加入对照品溶液,按选定条件进行色谱分析,计算蓖麻碱的平均回收率和 RSD。

### 1.7 蓖麻碱的含量测定

1.7.1 蓖麻不同部位中蓖麻碱的含量 分别取蓖麻各部位供试品溶液进样分析,平行测定 3 次。

1.7.2 不同生长期蓖麻叶中蓖麻碱的含量 分别取蓖麻幼嫩叶、鲜绿叶和老黄叶,按 1.5 节方法制备供试样品溶液并进行色谱分析,平行测定 3 次。

### 1.8 统计学分析

各供试品溶液的 HPLC 测试结果均采用 SPSS 数据处理系统进行统计分析, $t$  检验比较组间的差异,以  $P < 0.05$  为显著性差异,以  $P < 0.01$  为极显著性差异。

### 1.9 蓖麻碱的生物活性测定

采用喷雾和浸叶相结合的方法测定。将蓖麻碱药液用 95% 乙醇配制成 5 个浓度梯度(分别为 4.0、2.0、1.0、0.5、0.25 mg/mL),置于小型液体喷雾器中,定量地喷洒至目标虫体上,待药液晾干后将试虫接入干净的、垫有滤纸的培养皿中(培养皿里放有浸过药液的菜叶),用干净的布及封口膜封好,置于 27  $^{\circ}$ C、相对湿度 70% ~ 80%、光照 L:D 为 12:12 的智能人工气候培养箱中饲养。设乙醇和清水两组对照,每份处理 30 头虫(2 龄幼虫),独立平行重复 3 次。分别于处理后 24、48 和 72 h 观察记录试虫的死亡情况,按(1)式计算校正死亡率。利用 DPS 数据处

理系统处理,建立毒力回归方程,计算出蓖麻碱对甜菜夜蛾的毒力(LC<sub>50</sub>)。

$$\text{校正死亡率}/\% = \frac{\text{对照组存活率} - \text{处理组存活率}}{\text{对照组存活率}} \times 100 \quad (1)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 检测条件的选择

紫外-可见分光检测结果表明,蓖麻碱对照品在波长为 308 nm 处出现最大吸收峰,故选择 308 nm 作为 HPLC 系统紫外检测器的检测波长。在王宗义等<sup>[10]</sup>的基础上,改进并优化了流动相,以 V(甲醇):V(水) = 20:80 为流动相,可在较短时间内使样品中的蓖麻碱与其他成分得到良好的分离,色谱图见图 1。在所选的色谱条件下,提取液和对照品中蓖麻碱均呈现良好的峰形,保留时间均为 6.31 min。

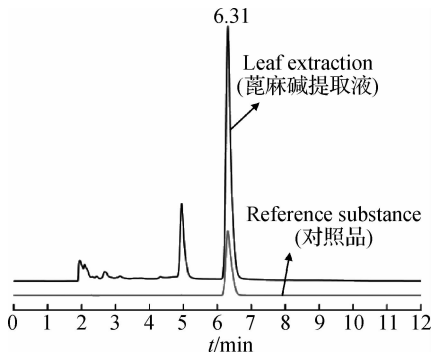


图 1 蓖麻碱对照品和蓖麻叶提取液的 HPLC 图谱  
Fig. 1 HPLC spectrograms of ricinine reference substance and leaf extraction

### 2.2 检测方法的评价

按照 1.6 节分析方法进行色谱分析,发现蓖麻碱的峰面积与其质量浓度在 5 ~ 1 600 μg/mL 范围内呈现良好的线性关系,回归方程为  $A_s = 26.919\rho - 39.023$ ,  $r = 0.9999$ 。精密度:6 次平行检测蓖麻碱含量的 RSD 为 0.08%。重复性:计算得到蓖麻碱含量的 RSD 为 0.81%。稳定性:计算蓖麻碱含量的 RSD 为 1.88%,表明样品在至少 24 h 内稳定。添加回收率:蓖麻碱的平均回收率为 100.5%,RSD 为 0.85%,表明该 HPLC 外标法准确度高,可用于蓖麻碱的含量测定。

### 2.3 蓖麻不同部位中蓖麻碱的含量

结果表明,蓖麻不同部位中蓖麻碱的含量存在显著性差异( $P = 0.05$ ),其中蓖麻叶中的含量最高,质量分数达 1.005%,籽壳中的含量次之(0.568%),茎和饼粕中的含量相差不大,分别为 0.429% 和 0.451%,籽仁中的最低,只有 0.235%。

### 2.4 不同生长期蓖麻叶中蓖麻碱的含量

结果表明,不同生长期的蓖麻叶中蓖麻碱的含量存在极显著差异( $P < 0.01$ ),其中,鲜绿叶中的含量最高(1.005%),幼嫩叶次之(0.575%),老黄叶中的最低,只有 0.054%。

### 2.5 蓖麻碱对甜菜夜蛾的毒杀作用

蓖麻碱药液对甜菜夜蛾具有优良的毒杀效果。校正死亡率与施药处理时间呈正相关。在蓖麻碱药液质量浓度为 2 mg/mL 处理时,24 h 后甜菜夜蛾的校正死亡率为 16.7%,48 h 后达 76.7%,72 h 后达 95.3%。毒力测定结果(表 1)显示:相比处理 24 h

表 1 蓖麻碱对甜菜夜蛾的毒杀效果

Table 1 Insecticidal activity of ricinine towards *Spodoptera exigua*

处理时间 Treatment time/h	毒力回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient( $r$ )	LC <sub>50</sub> / (mg/mL)	95% 置信限 95% FL/(mg/mL)
24	$y = 0.874x + 3.770$	0.9953	25.56	12.32 ~ 36.94
48	$y = 1.146x + 5.357$	0.9991	0.49	0.21 ~ 0.71
72	$y = 1.871x + 5.862$	0.9985	0.35	0.19 ~ 0.49

后的 LC<sub>50</sub> 值,48 h 后的 LC<sub>50</sub> 值急剧降低,72 h 的 LC<sub>50</sub> 值最低,为 0.35 mg/mL。

## 3 结论与讨论

本研究结果表明,采用 HPLC 外标法测定蓖麻提取液中蓖麻碱的含量,准确度高,精密度好,快速简便。蓖麻不同部位中蓖麻碱的含量差异较大,由

高到低依次为:叶 > 籽壳 > 饼粕 > 茎 > 籽仁。此外,不同生长期的蓖麻叶中蓖麻碱的含量也存在较大差异,其中鲜绿叶中最高,幼嫩叶次之,老黄叶中最低,这可能是因为随着蓖麻的生长,蓖麻碱随着新陈代谢发生转移,最终从叶中逐渐转移到了蓖麻籽中<sup>[14]</sup>。因此,适时采摘蓖麻叶,可有效利用蓖麻叶资源用于蓖麻碱的提取。生物测定结果表明,蓖麻

碱对甜菜夜蛾具有良好的毒杀效果,处理 72 h 后的  $LC_{50}$  值为 0.35 mg/mL,该结果与文献报道的蓖麻籽和饼粕提取液及蓖麻碱对南方根结线虫、蚜虫、小菜蛾、菜青虫等的毒杀效果<sup>[15-17]</sup>相当,甚至更强。毒杀效果的强弱可能跟蓖麻碱的杀虫作用方式有关,其表现为触杀和胃毒的综合作用,并具有一定的拒食作用<sup>[18]</sup>。有关蓖麻碱对甜菜夜蛾的杀虫作用机理还有待进一步研究。

## 参考文献 (Reference):

- [1] 陈海霞,陈祥胜. 氯仿萃取法制备蓖麻碱 [J]. 湖北中医药大学学报,2011,13(5):37-38.  
CHEN Haixia, CHEN Xiangsheng. A new way of extracting ricinine with chloroform [J]. *J TCM Univ Hubei*, 2011, 13(5): 37-38. (in Chinese)
- [2] BIGI M F M A, TORKOMIAN V L V, DE GROOTE S, et al. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* [J]. *Pest Manage Sci*, 2004, 60(9):933-938.
- [3] SHYAMAPADA M. Exploration of larvicidal and adult emergence inhibition activities of ricinus communis seed extract against three potential mosquito vectors in Kolkata, India [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2010, 3(8):605-609.
- [4] COOPMAN V, DE LEEUW M, CORDONNIER J, et al. Suicidal death after injection of a castor bean extract (*Ricinus communis* L.) [J]. *Forensic Sci Int*, 2009, 189(1-3):e13-e20.
- [5] FERRAZ A C, ANGELUCCI M E M, DA COSTA M, et al. Pharmacological evaluation of ricinine, a central nervous system stimulant isolated from *Ricinus communis* [J]. *Pharmacol Biochem Be*, 1999, 63(3):367-375.
- [6] 刘骁,李端. 蓖麻碱的生物活性研究与应用开发前景 [J]. 中国药理学与毒理学杂志,2006,20(1):76-78.  
LIU Xiao, LI Duan. Biological activity of ricinine and outlook of its applied development [J]. *China J Pharmacol Toxicol*, 2006, 20(1):76-78. (in Chinese)
- [7] 陈亚房,石波,程永强,等. 高速逆流色谱法分离制备蓖麻籽中的蓖麻碱 [J]. 食品科学,2009,30(14):149-152.  
CHEN Yafang, SHI Bo, CHENG Yongqiang, et al. Preparative high-speed counter-current chromatography for preparation of ricinine from seeds of *Ricinus communis* L. (Caster Bean) [J]. *Food Sci*, 2009, 30(14):149-152. (in Chinese)
- [8] 冀照君,杨文军,黄凤兰,等. 蓖麻饼粕成分分析及研究进展 [J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版),2011,26(5):545-548.  
JI Zhaojun, YANG Wenjun, HUANG Fenglan, et al. Research progress and ingredients analysis of castor bean meal [J]. *J Inner Mongolia Univ Nat (Nat Sci Ed)*, 2011, 26(5):545-548. (in Chinese)
- [9] 徐文清,陈艾,庄湘莲,等. 紫外分光光度法测定蓖麻籽饼中蓖麻碱的含量 [J]. 中国油脂,2001,26(2):45-46.  
XU Wenqing, CHEN Ai, ZHUANG Xianglian, et al. Quantity determination of ricinine in castor pomace by ultraviolet spectrometry method [J]. *China Oils Fats*, 2001, 26(2):45-46. (in Chinese)
- [10] 王宗义,张丽英,杨文军,等. 高效液相色谱法检测蓖麻粕中的蓖麻碱 [J]. 中国饲料,2006(8):32-36.  
WANG Zongyi, ZHANG Liying, YANG Wenjun, et al. Determination of ricinine in castor pomace by high performance liquid chromatography method [J]. *China Feed*, 2006(8):32-36. (in Chinese)
- [11] 郑成,许丽珠,高晓明,等. 蓖麻碱的提取、纯化、改性及其杀虫活性研究 [J]. 天然产物研究与开发,2007,19(5):785-790.  
ZHENG Cheng, XU Lizhu, GAO Xiaoming, et al. Study on the extraction, purification, and recombination of the ricinine and its insecticidal effects [J]. *Nat Prod Res Devel*, 2007, 19(5):785-790. (in Chinese)
- [12] 王春龙. 蓖麻碱的化学提取及其在黑大豆上的应用 [D]. 吉林:吉林大学,2008.  
WANG Chunlong. Chemical extraction of the ricinine and the ricinine applied on the black soybean [D]. Jilin: Jilin University, 2008. (in Chinese)
- [13] DE MELO C C, BATALHÃO J R, DE CÁSSIA DOMINGUES V, et al. High-speed counter-current chromatographic isolation of ricinine, an insecticide from *ricinus communis* [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(9):4290-4294.
- [14] WALLER G R, TANG M S, SCOTT M, et al. Metabolism of ricinine in the castor plant [J]. *Plant Physiol*, 1965, 40(5):803-807.
- [15] 雷德柱,郑成,雷雨,等. 蓖麻提取物对蔬菜害虫的生物活性 [J]. 广东化工,2004,31(2):1-2.  
LEI Duzhu, ZHENG Cheng, LEI Yu, et al. Bioactivities of extractives from castor seeds on vegetable pests [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2004, 31(2):1-2. (in Chinese)
- [16] 徐齐云,钟国华,胡美英,等. 蓖麻提取物对蔬菜害虫的杀虫活性研究 [J]. 长江蔬菜,2006(11):35-36.  
XU Qiyun, ZHONG Guohua, HU Meiyang, et al. Study on insecticidal activity of extract of *Ricinus communis* L. to vegetable pests [J]. *J Changjiang Veget*, 2006(11):35-36. (in Chinese)
- [17] VAXUDEVAN P, SHAMLA S. Larvicidal property of castor [J]. *Pesticides*, 1989, 23(1):36-39.
- [18] 张智勇,陈水胜,倪娜,等. 蓖麻产品在农药中的应用及研究进展 [J]. 内蒙古农业科技,2011(6):74-76.  
ZHANG Zhiyong, CHEN Shuisheng, NI Na, et al. The progress of research and application of the castor product in pesticides [J]. *Inner Mongolia Agric Sci Tech*, 2011(6):74-76. (in Chinese)

(责任编辑:金淑惠)