

除虫菊酯的定量分析

聂孝珍* 聂瑞麟* 李忠荣 邱明华

(中国科学院昆明植物研究所植物化学开放研究实验室, 昆明 650204)

Q949.783.5

THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF PYRETHROIDS

NIE Xiao-Zhen, NIE Rui-Lin, LI Zhong-Rong, QIU Ming-Hua

(Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

关键词 除虫菊; 除虫菊酯; 定量分析

分析; 菊科

Key words *Pyrethrum cinerariaefolium*; Pyrethroids; Quantitative analysis

除虫菊酯是指菊科菊属植物除虫菊(*Pyrethrum cinerariaefolium* Trev.)花中所含有效杀虫成分的总称,它主要由6个结构极相似的化合物组成。这是迄今发现的不污染环境,对人畜等哺乳动物安全无毒,对害虫蚊蝇等迅速击倒而不易产生抗药性的高效天然杀虫剂。人们使用除虫菊具有悠久的历史,它原产于中东地区,1828年传入欧洲,1876年进入美国,其后日本、非洲、南美广为栽培,形成产业,到1966—1967年世界除虫菊酯产量达2万多吨,其中肯尼亚占1万吨,日本1000吨.....⁽¹⁾。本世纪40年代中期滇中高原及贵州绥阳县等地虽有少量引种⁽²⁾,但在我国终未得到较大发展。1987—1988年,我所植物园陈宗莲副教授,从云南省外贸局得到日本广岛产除虫菊种子,闯过引种技术难关,栽培小试取得成功。陈先生认为该项工作在云南完全有可能发展成较大产业,因此,1989—1992年,与日本高砂香料工业株式会社合作,选育良种,在昆明附近大理等地中试扩种,4年来取得可喜成绩。为得到不同种源、不同栽培条件、不同生长年限、不同产地、不同花的加工方式以及良种选育比较等花质量的可靠评价依据,必须进行除虫菊酯的定量分析,为此我们采用植物化学常规分离纯化方法得到除虫菊酯,测定紫外光谱,进一步用高压液相色谱制备分离定量以及在有标准样品后直接提取花中除虫菊酯进行气相色谱定量分析,现将结果简要报告如下。

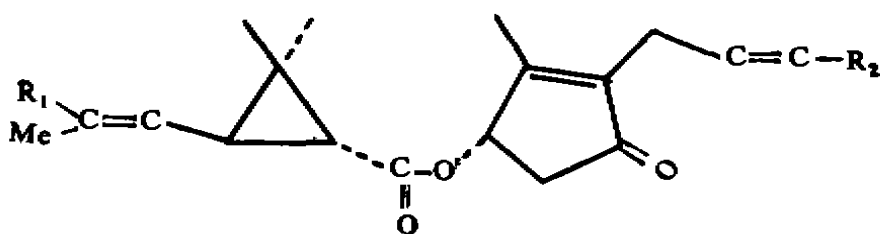
1. 提取分离定量分析

除虫菊花成分较为复杂,除含除虫菊酯外,还含多个倍半萜内酯及黄酮类化合物⁽³⁾,而且除虫菊酯是由除虫菊酯I和II(pyrethrin I and II),瓜菊酯I,II(cinerin I and II)和瓦斯莫林I,II(jasmolin I and II)6个化合物组成,而一般量最多是除虫菊酯I和瓜菊酯I(见结构图)。它们在UV下观察硅胶柱薄层板上以Rf值约0.45和0.25呈现两个荧光斑点,前者极性小的一组称为Py I组,含Py I、Ci I、Ja I,后者极性稍大的一组即Py II组,含Py II、Ci II、Ja II(展开剂:石油醚:乙酸乙酯=9:1)。

取除虫菊干燥磨碎盘状花150g用bp. 30—60℃石油醚于水浴50℃提取3次,滤液合并,在40℃水浴减压回收溶剂,得浓缩物4.2g(该深褐色物在TLC上呈现较多斑点),精确称取1.9967g,加少量氯仿使其全部溶解,用适量硅胶吸附,装于40g硅胶柱顶部,用石油醚,含乙酸乙酯石油醚洗脱,各部分洗脱液在TLC

* 现址:昆明师范专科学校. ** 通讯联系人

1992-11-05 收稿



pyrethrin	I	R ₁ : Me R ₂ : C = CH ₂
cinerin	I	R ₁ : Me R ₂ : Me
jasmolin	I	R ₁ : Me R ₂ : CH ₂ -CH ₃
pyrethrin	II	R ₁ : COOCH ₃ R ₂ : C = CH ₂
cinerin	II	R ₁ : COOCH ₃ R ₂ : Me
jasmolin	II	R ₁ : COOCH ₃ R ₂ : CH ₂ -CH ₃

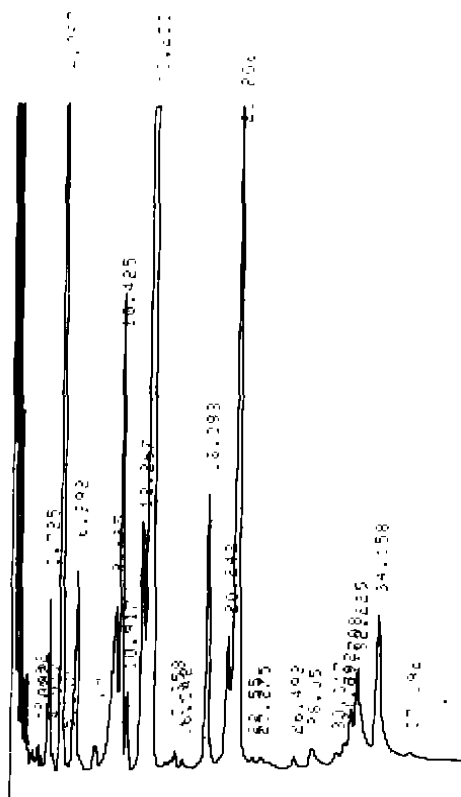


图1 Py I 和 Py II 的气相色谱图
Fig. 1 GC fig. of Py I and Py II

上与标准样品比较。石油醚：乙酸乙酯=9：1 冲出部分合并浓缩得浅黄色油状物 0.9848g(Py I 组), 石油醚：乙酸乙酯=8：2 冲下, 得黄色油状物 0.2427g(Py II 组)。两组分别用日本岛津 UV-210 紫外光谱仪定量测定除虫菊酯 I 和 II 的含量: Py I: $\lambda_{280nm}^{n-hexane}$ (ε10833), 文献值 pyrethrin I: $\lambda_{280nm}^{n-hexane}$ (ε38800) ⁽¹⁾, 计算含 pyrethrin I: 39.9%。Py II: $\lambda_{280nm}^{n-hexane}$ (ε30991) 文献值 pyrethrin II: $\lambda_{280nm}^{n-hexane}$ (ε47500) ⁽¹⁾, 计算含 pyrethrin II: 94.4%。将其结果按花提取物总重量换算成干花中除虫菊酯百分含量即为: Py I 1.38%, Py II: 0.34%。总共含除虫菊酯 1.7%(省略了两组中少量成分的计算)。

有人曾用高压液相色谱法(HPLC)对组织培养的除虫菊酯进行定量⁽⁴⁾, 但我们参照实施, 结果并不理想, 提取物对柱子污染严重, 因此我们定量称取经硅胶柱分离纯化的 Py I 及 II 溶于 100mL bp. 30—60℃ 石油醚中, 用 BECKMAN-LC-4A 高压液相色谱仪, 柱子 ULTRASPHERE-Si 10mm / 25cm, UV 检测收集, 进样量 2mL / 次, 流速 20 滴 / 分, 流动相(石油

醚 bp.30—60℃ : 乙酸乙酯=9 : 1), 分别得到除虫菊酯 I (8mg), II (21mg) 瓜菊酯 I (1mg), II (微量); 瓦斯

莫林 I (2mg), II (3mg)。由此可知 Py I 组及 II 中各化合物间的相对数量。

2. 气相色谱定量分析

日本岛津 GC-4A 色谱仪, FID 检测, 柱: DB-1 (polymethyl siloxane) fused silica capillary column 6.7 m \times 0.25 mm。

(1) 内标准溶液的制备 准确称量 1g 邻苯二甲酸二丁酯 (Dibutyl phthalate-DBP) 用 AR 丙酮溶于 100mL 量瓶中。

(2) 分析溶液样的制备 准确称取除虫菊磨碎干燥花 10g 置于索氏提取器中, 用 AR 正己烷 75mL 在水浴上回流提取 4 小时, 将提取液定量移入 100mL 量瓶中, 加入 2mL 内标溶液, 再用正己烷稀释至刻度。

(3) 已知标准溶液的制备 精确称取含 Py I 组 27.96% 和 Py II 组 20.77% 的除虫菊酯样品 0.1g 左右, 用正己烷溶于 100mL 量瓶中, 加入 2mL 内标溶液, 用正己烷稀释至刻度。

(4) 分析 柱子升温 120—220°C / 3, 进样温度 200°C, 进样量 2 μ L, 检测温度 230°C, 根据保留时间(分), 除虫菊酯各化合物信号被测定的顺序为: 内标 DBP (4.967), Ci II (10.425), Ja. I (12.267), Py I (13.258), Ci II (18.383), Ja. II (20.242), Py II (21.208)。(图 1)。

(5) 花的除虫菊酯百分含量计算公式:

A I: 求 Py I 组面积比 = Py I 组信号总面积 / 内标 DBP 信号面积

A II: 求 Py II 组面积比 = Py II 组信号总面积 / 内标 DBP 信号面积

F I: 求 Py I 标准因数 = 标准样重(g) \times 标准样 Py I 百分率 / A I

F II: 求 Py II 标准因数 = 标准样重(g) \times 标准样 Py II 百分率 / A II

花的 Py I % = A I \times F I / 花样重(g)

花的 Py II % = A II \times F II / 花样重(g)

Py I % + Py II % = 花除虫菊酯总百分含量

3. 结语

分离纯化定量法, 较经典直观可靠, 但花用量较多, 操作程序繁杂, 实验周期长, 一个样品的测定, 约需一月以上, 但如需制备标准样品, 则非此无选择。气相色谱法虽快速, 花用量较少, 但除虫菊酯各信号的确认, 每次需与已知物核对, 并且其准确性除操作因素外, 还取决于制备已知样品中除虫菊酯百分含量的可靠性, 此法与分离纯化法比较, 误差 $\pm 0.10\%$ 。5 年来我们共测定陈先生引种肯尼亚、日本等种源以及昆明、大理、富民、贵州等不同产地的样品近百余个, 其含除虫菊酯总量从 0.6—1.7%。若从工业生产除虫菊酯考虑, 含量达 1% 以上即可, 该分析资料将由陈宗莲先生专题报告(除虫菊优良品种选育, 引种栽培成果已由云南省科委、中国科学院昆明分院 1991 年组织鉴定会鉴定。)在国内未见除虫菊酯定量分析研究报道时, 此文对有关分析人员会有一定参考价值。

致谢 承蒙日本高砂香料株式会社赠送含 Py I 组 27.96%, Py II 20.77% 的气相分析已知样品和气相色谱柱。我室喻学俭、阮德春两位高级工程师在 GC 和 HPLC 测定中给予热情帮助, 聂晶磊同志参加许多实验室工作。

参 考 文 献

- [1] Martin Jacobson, Crosby D G. Naturally occurring insecticides New York: Marcel Dekker, INC., 1971: 3—64
- [2] 王用平. 除虫菊——优良的杀虫植物. 中草药 1986; 17(12): 24
- [3] Yutaka Sashida, Hiroyuki Nakata, Hiroko Shimoura et al. Sesquiterpene lactones from Pyrethrum flowers. *Phytochemistry* 1983; 22(5): 1219—1222
- [4] 谢启昆. 药用植物组织培养. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 82