

朱龙宝,沈殿晶,赵明,等. 水热合成法制备鱼藤酮纳米颗粒的方法研究[J]. 江苏农业科学,2021,49(4):74-78.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.04.014

# 水热合成法制备鱼藤酮纳米颗粒的方法研究

朱龙宝<sup>1</sup>, 沈殿晶<sup>2</sup>, 赵明<sup>2</sup>, 陈小军<sup>2</sup>

(1. 江苏省扬州市江都区农业技术推广中心, 江苏扬州 225200; 2. 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009)

**摘要:** 纳米材料作为农药载体是增强农药稳定性和减缓农药释放速率, 从而提高农药有效利用率的重要手段; 其中介孔二氧化硅(MSN)是一种高比表面积、粒径与孔径可调节和生物相容性良好的纳米载体。鱼藤酮(Rot)作为一种优异的生物农药, 在环境中易降解, 在植物中无不内吸传导特性。通过水热合成法制备出纳米载体 MSN, 再通过溶剂挥发法将 Rot 负载到 MSN 上制备得到纳米颗粒 Rot@MSN, 其载药率为 33.2%, 且具有控制缓释特性。研究表明, 所制备的 Rot 纳米颗粒具有良好的缓释效果, 持效期延长。此研究对减少农药的使用量、降低环境污染和保障食品安全具有重要意义。

**关键词:** 水热合成法; 介孔二氧化硅; 鱼藤酮; 纳米颗粒; 制备方法; 表征

**中图分类号:** S482.3<sup>+</sup>9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2021)04-0074-04

化学防治是植物防虫治病的重要措施。对生物农药而言, 必须解决其在田间施用时的光稳定性和控制其释放特性, 提高其有效利用率。鱼藤酮(Rot)对害虫具有良好的杀虫活性, 但是 Rot 在环境中易发生光降解, 持效期短<sup>[1-6]</sup>。纳米技术是当前研究的热点之一<sup>[7]</sup>, 其中介孔二氧化硅纳米粒子(MSN)是一种具有良好形貌和孔隙率的化学和热稳定性纳米载体。MSN 具有较大的孔隙空间和比表面积, 能够在孔隙结构中负载农药分子<sup>[8-12]</sup>, 同时 MSN 的表面富含硅醇基, 可改善所负载的疏水性农药的溶解性, 此外 MSN 被植物吸收后不具有毒性<sup>[13-14]</sup>。目前在国内登记的关于 Rot 的制剂产品有 22 个, 登记的剂型分别为乳油(15 个)、微乳剂(5 个)、悬浮剂(1 个)、可溶液剂(1 个)<sup>[15]</sup>。传统的乳油制剂、微乳剂制剂分别存在过多使用有机溶剂和助剂易造成环境污染等问题。为了开发 Rot 的新型控释型的环保产品, 可以将疏水性的农药与纳米制剂技术有机结合起来, 制备 Rot 的纳米制剂, 并通过纳米制剂提高其控释特性和光稳定性。本研究通

过水热合成法成功制备出一种比表面积大、孔径可调节、孔道均匀和生物相容性良好的纳米载体 MSN, 再采用溶剂挥发法制备出具有高载药率、良好缓释性能和热稳定的纳米颗粒, 从而提高 Rot 的有效利用率, 减少农药的使用量, 降低环境污染, 此研究对于生物农药新制剂的研制、保障农产品安全具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

Rot 标准品(质量含量 98.0%), 美国 Sigma-Aldrich 公司; Rot 原药(质量含量 95.0%), 丰顺汤西嘉兴福利化工厂生产; 十六烷基三甲基氯化铵、正硅酸四乙酯, 国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 纳米载体 MSN 的制备方法** 根据 Zhao 等的研究<sup>[16]</sup>, 以十六烷基三甲基氯化铵为模板剂, 以正硅酸四乙酯为硅源制备 MSN。将 1.0 g 十六烷基三甲基氯化铵完全溶解在 0.48 L 去离子水中。在磁力搅拌下, 滴加 3.5 mL 的 2 mol/L NaOH 并水浴将反应物加热至 70 ℃。逐滴加入 5.0 mL 的正硅酸四乙酯, 随后, 将反应混合物加热至 80 ℃并剧烈搅拌 6 h, 在此期间 MSN 形成白色沉淀。冷却至室温后, 将混合物用去离子水和乙醇分别洗涤 3 次, 然后将样品放入马弗炉中在 550 ℃下煅烧 6 h。将得到的纳米载体 MSN 在室温下保存备用。

**1.2.2 纳米载体 MSN 的表征方法** (1) MSN 的形

收稿日期: 2020-12-15

基金项目: 江苏省重点研发计划(编号: BE2019340); 江苏省扬州市科技计划(编号: YZ2019139); 江苏省扬州市市校产学研合作专项(编号: YZ2020178)。

作者简介: 朱龙宝(1964—), 男, 江苏扬州人, 高级农艺师, 主要从事农作物病虫害防治与推广。E-mail: 153207386@qq.com。

通信作者: 陈小军, 博士, 副教授, 主要从事植物保护学和农药残留分析研究。E-mail: cxj@yzu.edu.cn。

貌。先将 MSN 镀金,再置于扫描电镜(S-4800 II 场发射扫描电镜,日本日立公司)下观察所制备的 MSN 的形貌。为进一步探究 MSN 的形貌,将 MSN 放入乙醇中超声至完全分散,取少量 MSN 滴于有碳膜的铜网上,置于红外线灯下干燥,随后将附有 MSN 的铜网至于透射电镜(Tecnai 12 透射电镜,荷兰 Philips 公司)下观察 MSN 的形貌。(2)MSN 粒径大小。使用激光光散射仪分析 MSN 粒径大小,将 MSN 分散于去离子水中,超声使其分散均匀,取 4 mL 溶液于比色皿中,放入仪器中对 MSN 的粒径进行分析。(3)MSN 介孔结构特性。使用比表面测定仪进行物理吸附分析,称取 MSN 0.1 g,在脱气温度 120 ℃、脱气时间 120 min、环境温度 30 ℃、饱和蒸气压 1.014 9 bar 和恒温浴温度 77.3 K 的条件下测定 MSN 的比表面积、孔道直径、孔容量等。根据吸附和脱附等温线分支数据,使用 Brunauer - Emmett - Teller(BET)气体吸附法和 Barrett - Joyner - Halenda(BJH)分析模型评估介孔结构特性。

1.2.3 载鱼藤酮纳米颗粒(Rot@MSN)的制备与表征 准确称量 100 mg Rot 于圆底烧瓶中,加入适量的乙腈,超声至 Rot 完全溶解于溶剂中,使其浓度为 5 mg/mL,于 60 ℃水浴加热使 Rot 溶解,再加入 100 mg MSN,同样超声使其完全分散在乙腈中,随后在密封条件下搅拌 4 h,然后在敞口条件下继续搅拌,使乙腈慢慢挥发至 MSN 呈湿润状态,再用 5 mL 热乙醇洗涤残留 Rot,真空冷冻干燥后,即为纳米颗

粒 Rot@MSN,待分析表征用。(1)采用傅里叶红外光谱仪(Tensor27,布鲁克光谱仪器公司)分析 Rot@MSN 的骨架结构和特征官能团,将干燥的 Rot@MSN 与 KBr 混合均匀并且充分研磨,采用压片法按 1:10 的比例制样,进行傅里叶红外光谱仪分析。(2)采用热重分析仪(Pyris 1 TGA,美国 Perkin Elmer 公司)对 Rot@MSN 进行热重分析法,称取 1.585 mg Rot@MSN,在 N<sub>2</sub> 氛围下,以 10.00 ℃/min 的升温速率,从室温升至 800 ℃,进行热重分析。(3)Rot@MSN 的载药率的测定:纳米颗粒 Rot@MSN 的载药率测定方法参考文献[17];在检测分析时,采用高效液相色谱法检测分析乙醇中 Rot 的含量<sup>[4]</sup>。(4)Rot@MSN 的缓释特性试验方法:方法参考沈殿晶等的试验方法<sup>[17]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 纳米载体 MSN 的合成和表征结果

如图 1 所示,采用水热合成法合成的 MSN 表面光滑,形状偏椭圆形,部分为球形。通过透射电镜能够清楚地看清 MSN 的颗粒大小、形状结构和介孔结构(图 2),水热合成法所制备的 MSN 为二维结构,也就是最为常见的 MCM-41 型介孔二氧化硅<sup>[18-19]</sup>,其形状为球形或者椭圆形,介孔结构清晰,为高度有序的六边形结构,粒径大小在 100 nm 左右,且具有较好的分散性。

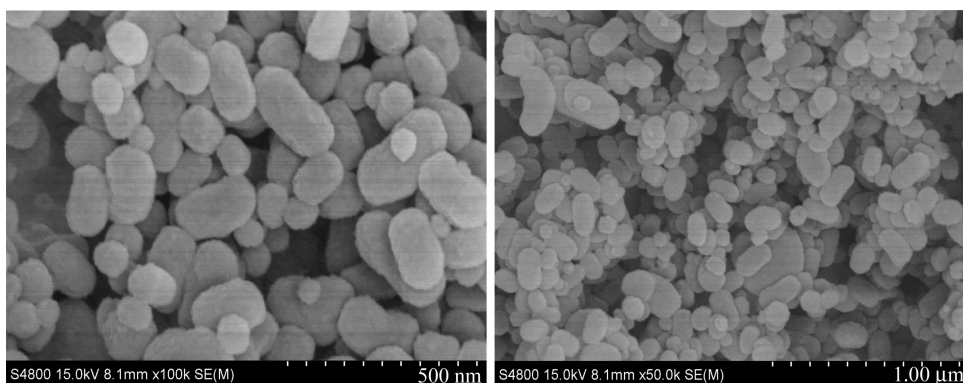


图1 纳米载体 MSN 的扫描电镜图

图 3 为 MSN 的动态光散射分析所得到的粒径分布图,结果显示 MSN 的平均粒径在 220 nm 左右,分散系数(PdI)为 0.214,说明 MSN 在水中具有良好的分散性。与透射电镜所观察到的粒径相比,动态光散射分析得到的粒径偏大,这是因为动态光散射所测粒径为 MSN 的水合粒径,比实际粒径要偏大

一些,而透射电镜所观察到的为实际粒径。

从图 4 可以看到,MSN 的等温线为典型的 IV 型等温曲线, $P/P_0$  在 0~0.3 之间曲线急速上升,说明氮气分子在这一阶段发生了单层吸附,从 A 点处开始,气体发生多分子层的吸附,当孔全部被气体分子填满以后,在 B 点吸附达到饱和,气体液化,吸附

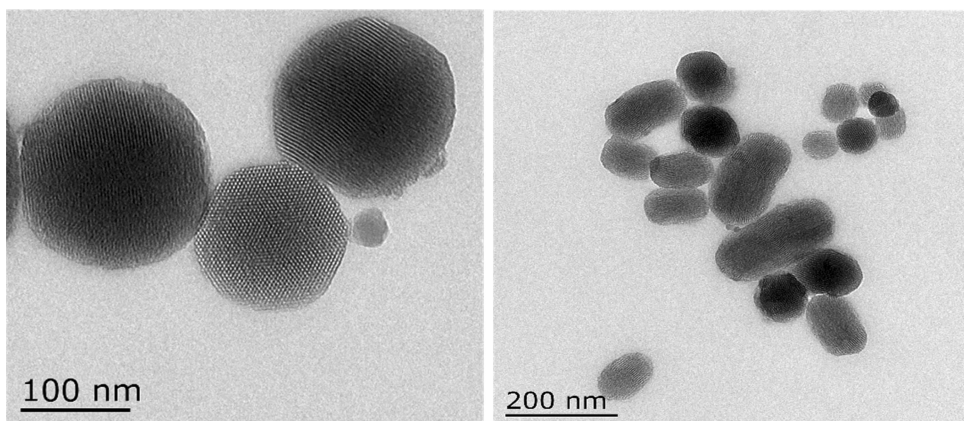


图2 纳米载体 MSN 的透射电镜图

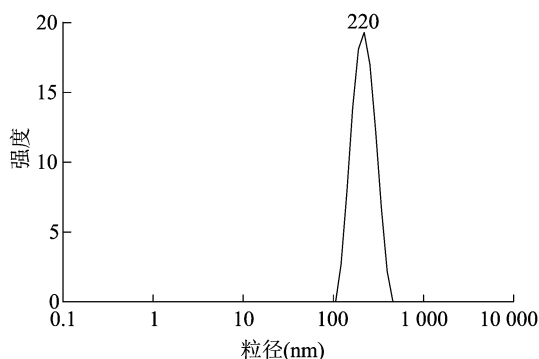


图3 纳米载体 MSN 的水合粒径分布

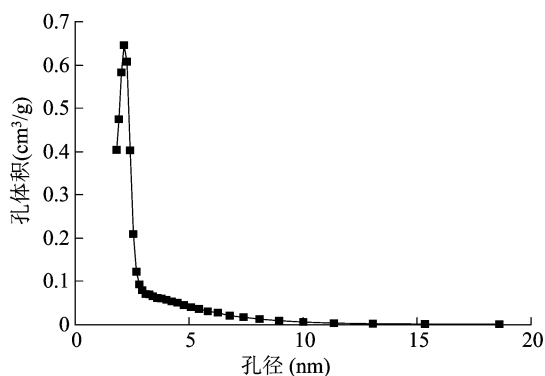


图5 纳米载体 MSN 的孔径分布

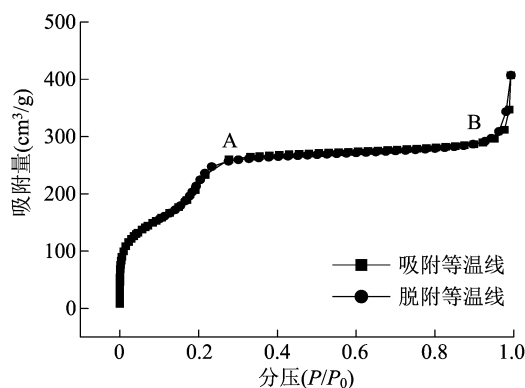


图4 纳米载体 MSN 的氮吸附-解吸等温线

峰为 Si—O—Si 反对称伸缩振动,  $3\,462\text{ cm}^{-1}$  处的弱峰为结构水—OH 反对称伸缩振动峰; 另外还在  $1\,452$ 、 $1\,515$ 、 $1\,606$ 、 $1\,670$ 、 $2\,966\text{ cm}^{-1}$  处出现了与 Rot 相同的特征吸收峰。因此也证明了 Rot 成功负载到纳米载体 MSN 上得到纳米颗粒 Rot@MSN。

图 7 为 MSN 和 Rot@MSN 的热重分析图, 由 MSN 的热重曲线可知, MSN 具有良好的热稳定性, 并且在所研究的温度范围内几乎保持恒定的质量。计算得到所制备的 Rot@MSN 中 Rot 的载药率为 33.2%。

水热合成法制备的纳米载药 MSN, 其释放特征表现为高的初始释放量和随后的缓慢释放, 在 60 h 左右时达到最大的释放量, 而后释放量基本保持在 45% (图 8), 说明 Rot 大量存在于 MSN 的表面, 孔道对鱼 Rot 的约束作用较弱, 或者其在孔道中是以非定型状态存在的, 但与传统制剂相比较, 有一定的缓释作用。

### 3 结论

纳米载体 MSN 由于其良好的吸附能力、生物相

量急速上升。

由图 5 可看出, MSN 具有良好的介孔结构, 孔径分布主要集中在 2.23 nm 左右。根据吸附等温线脱附分支数据计算出 MSN 比表面积为  $856.69\text{ m}^2/\text{g}$ , 孔体积为  $0.63\text{ cm}^3/\text{g}$ , 平均孔直径为 2.94 nm, 最可几孔直径为 2.11 nm。

#### 2.2 Rot@MSN 的表征结果

如图 6 所示, 在  $455\text{ cm}^{-1}$ 、 $804\text{ cm}^{-1}$  处的峰为 Si—O 键对称伸缩峰,  $1\,088\text{ cm}^{-1}$  处的强而宽的吸收

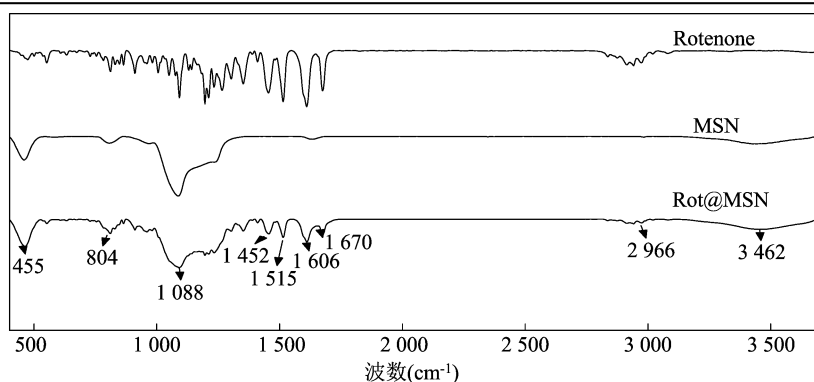


图6 纳米颗粒 Rot@MSN 的傅里叶红外光谱

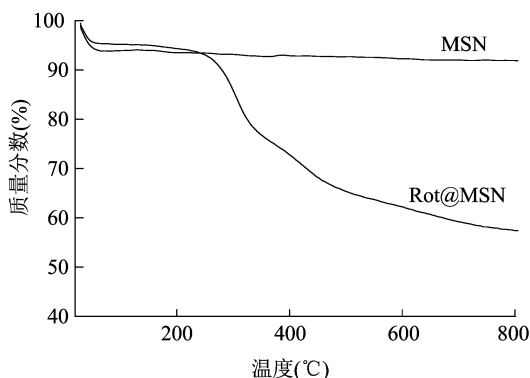


图7 纳米颗粒 Rot@MSN 的热重分析

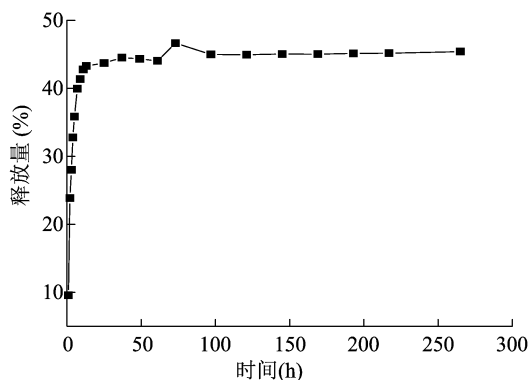


图8 纳米颗粒 Rot@MSN 中 Rot 的控制释放曲线

容性和结构稳定等优点,将生物农药分子负载于纳米载体 MSN 之中,通过载体 MSN 来提高生物农药 Rot 的缓释特性。本研究通过水热合成法制备得到纳米载体 MSN,通过溶剂挥发法将 Rot 负载到 MSN 上得到纳米颗粒 Rot@MSN,其载药率达 33.2%,研究表明所制备的纳米颗粒中 Rot 具有较好的缓释特性。

#### 参考文献:

[1] Angioni A, Cabizz M, Cabras M, et al. Effect of the epicuticular waxes of fruits and vegetables on the photodegradation of rotenone [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52 (11): 3451 – 3455.

[2] Isman M B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world [J]. *Annual Review of Entomology*, 2006, 51: 45 – 66.

[3] Cavoski I, Caboni P, Sarais G, et al. Photodegradation of rotenone in soils under environmental [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55 (17): 7069 – 7074.

[4] Chen X J, Xu H H, Yang W, et al. Research on the effect of photoprotectants on photostabilization of rotenone [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2009, 95 (2): 93 – 100.

[5] Bidyarani N, Kumar U. Synthesis of rotenone loaded zein nano – formulation for plant protection against pathogenic microbes [J]. *RSC Advances*, 2019, 9 (70): 40819 – 40826.

[6] Mohd S M, Azlan K, Suriani A B, et al. Chitosan – graphene oxide nanocomposites as water – solubilising agents for rotenone pesticide [J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2020, 318: 114066.

[7] Gomollón – Bel F. Ten chemical innovations that will change our world: IUPAC identifies emerging technologies in chemistry with potential to make our planet more sustainable [J]. *Chemistry International*, 2019, 41 (2): 12 – 17.

[8] Karimi M, Mirshekari H, Aliakbari M, et al. Smart mesoporous silica nanoparticles for controlled – release drug delivery [J]. *Nanotechnology Reviews*, 2016, 5 (2): 195 – 207.

[9] Li G B, Wang J, Kong, X P, et al. Coprecipitation – based synchronous pesticide encapsulation with chitosan for controlled spinosad release [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 249: 116865.

[10] Huang L, Yu, S X, Long W, et al. The utilization of multifunctional organic dye with aggregation – induced emission feature to fabricate luminescent mesoporous silica nanoparticles based polymeric composites for controlled drug delivery [J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2020, 308: 110520.

[11] Sun J, Fan Y, Zhang P, et al. Self – enriched mesoporous silica nanoparticle composite membrane with remarkable photodynamic antimicrobial performances [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2020, 559: 197 – 205.

[12] Thi N T N, Ngoc T T L, Ngoc H N, et al. Aminated hollow mesoporous silica nanoparticles as an enhanced loading and sustained releasing carrier for doxorubicin delivery [J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2020, 309: 110543.

[13] Wang L, Cai K Z, Chen Y T, et al. Silicon – mediated tomato

刘小玉,付登强,刘立云,等. 解淀粉芽孢杆菌 ck-05 发酵液的抑菌活性[J]. 江苏农业科学,2021,49(4):78-81.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.04.015

# 解淀粉芽孢杆菌 ck-05 发酵液的抑菌活性

刘小玉,付登强,刘立云,齐 兰

(中国热带农业科学院椰子研究所/海南省槟榔产业工程研究中心,海南文昌 571339)

**摘要:**对解淀粉芽孢杆菌 ck-05 菌株发酵液中生物活性物质的抑菌作用及稳定性进行初步研究。采用菌丝生长速率法测定菌株 ck-05 发酵液对 11 种病原菌的抑菌作用。结果表明,ck-05 菌株发酵液对供试植物病原菌均具有较强的抑菌作用,其中对香蕉枯萎病的抑制性最强,抑菌率达 82.22%。另外,以香蕉枯萎病为指示菌,测定不同条件下 ck-05 菌株发酵液的抑菌稳定性。结果表明,发酵液热稳定性较好;对酸碱性条件比较敏感,pH 值为 6~8 时具有较强的抑菌作用;紫外线和自然光照射下稳定性较好,对蛋白酶不敏感。

**关键词:**解淀粉芽孢杆菌 ck-05;抑菌活性;稳定性;生长速率法;香蕉枯萎病;发酵液

**中图分类号:**S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)04-0078-04

近年来,化肥的施用为作物产量的提高做出了突出贡献,但盲目过量施用化肥,造成部分地区植物土传病害日益加重<sup>[1]</sup>。利用化学药剂防治植物病害会引起诸多副作用,生物防治逐渐成为农业生产中一种新的发展趋势。解淀粉芽孢杆菌具有广泛抗菌能力,属革兰氏阳性芽孢杆菌。有研究表明,解淀粉芽孢杆菌通过产生吡啶-3-乙酸(IAA),分泌葡聚糖酶、几丁质酶以及抗菌活性物质,达到防治植物病害的目的<sup>[2-3]</sup>。笔者所在课题组在前期工作中获得解淀粉芽孢杆菌菌株 ck-05,为进一步将该菌株应用到实际生产中,对该菌株发酵液的抑菌活性及不同条件下的稳定性进行研究,

旨在为将该菌株开发为生物农药提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间及地点

试验于 2019 年在海南省文昌市文清大道 496 号椰子研究所实验室(19°33'12"N,110°47'14"E)开展。

### 1.2 供试菌株及培养基<sup>[4]</sup>

解淀粉芽孢杆菌 ck-05 和 11 种病原菌(槟榔炭疽病、椰子茎腐病、菜心炭疽病、油茶炭疽病、油棕心腐病、椰子灰斑病、板栗疫病、香蕉枯萎病、油茶炭疽病、槟榔心腐病、花生果腐病)均由中国热带农业科学院椰子研究所实验室保藏。

LB(Luria-Bertani)培养基:5 g 酵母粉,10 g NaCl,10 g 蛋白胨,18~20 g 琼脂,1 L 水,pH 值为 7.0~7.2。

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基:200 g 土豆,20 g 葡萄糖,18~20 g 琼脂,1 L 水。

发酵培养基:20 g 葡萄糖,20 g 蛋白胨,0.8 g 无

收稿日期:2020-06-09

基金项目:海南省重大科技项目(编号:ZDKJ201817-3-5);“一带一路”热带项目(编号:BARTP-06)。

作者简介:刘小玉(1986—),女,江西九江人,硕士,助理研究员,主要从事土壤微生物方面的研究。E-mail:liuxiaoyu06120210@163.com。

resistance against *Ralstonia solanacearum* is associated with modification of soil microbial community structure and activity[J]. Biological Trace Element Research,2013,152(2):275-283.

[14]Slomberg D L,Schoenfisch M H. Silica nanoparticle phytotoxicity to *Arabidopsis thaliana*[J]. Environmental Science and Technology,2012,46(18):10247-10254.

[15]中国农药信息网. 农药登记数据[DB/OL]. [2020-12-01].  
http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml.

[16]Zhao P Y,Cao L D,Ma D K,et al. Translocation,distribution and degradation of prochloraz-loaded mesoporous silica nanoparticles in cucumber plants[J]. Nanoscale,2018,10(4):1798-1806.

[17]沈殿晶,张铭瑞,陈小军,等. 基于介孔二氧化硅的鱼藤酮纳米颗粒的制备及其性能研究[J]. 农药学报,2020,22(6):1061-1068.

[18]Chen H Y,Lin Y S,Zhou H J,et al. Synthesis and characterization of chlorpyrifos/copper(II) Schiff base mesoporous silica with pH sensitivity for pesticide sustained release[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2016,64(43):8095-8102.

[19]Chen H Y,Huang G Z,Zhou H J,et al. Highly efficient triazolone/metal ion/polydopamine/MCM-41 sustained release system with pH sensitivity for pesticide delivery[J]. Royal Society Open Science,2018,5(7):180658.