

◆ 开发与分析 ◆

# 花生壳生物炭基*Bt*复合颗粒剂的制备及其性能评价

朱海云<sup>1</sup>, 朱美琦<sup>2</sup>, 高明惠<sup>2</sup>, 王静<sup>1</sup>, 徐晓庆<sup>3</sup>, 张保华<sup>2\*</sup>

(1. 宁夏工商职业技术学院能源化工学院, 银川 750021; 2. 青岛农业大学化学与药学院, 山东青岛 266109; 3. 乳山韩威生物科技有限公司, 山东威海 264500)

**摘要:**在采用不同热解温度制备生物炭的基础上, 筛选出与*Bt*相容性好的生物炭和颗粒剂助剂, 并运用正交试验优化制剂配方和制备工艺。结果表明, 热解温度500℃制备的花生壳生物炭(HS-5)与*Bt*相容性好。优化后的颗粒剂配方(质量分数)为:*Bt*菌粉22%、生物炭(HS-5)0.5%、润湿剂拉开粉2%、黏结剂硅酸镁铝2%、崩解剂氯化钠2%。最优制粒工艺条件为: 筛孔粒径1.0 mm, 40℃条件下烘干40 min。所得颗粒剂各项指标符合国家标准。该研究为生物炭与*Bt*联合应用提供了参考。

**关键词:** 生物炭; 苏云金杆菌; 颗粒剂; 正交试验; 制备工艺

中图分类号: TQ 450.6+3 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2024.03.009

## Preparation and performance evaluation of *Bt* compound GR based on peanut shell biochar

ZHU Haiyun<sup>1</sup>, ZHU Meiqi<sup>2</sup>, GAO Minghui<sup>2</sup>, WANG Jing<sup>1</sup>, XU Xiaoqing<sup>3</sup>, ZHANG Baohua<sup>2\*</sup>

(1. College of Energy and Chemical Engineering, Ningxia Vocational Technical College of Industry and Commerce, Yinchuan 750021, China; 2. College of Chemistry and Pharmacy, Qingdao Agricultural University, Shandong Qingdao 266109, China; 3. Rushan Hanwei Biotechnology Co., Ltd., Shandong Weihai 264500, China)

**Abstract:** Based on the preparation of biochar at different pyrolysis temperatures, the biochar and additives were screened by biocompatibility experiments, and the formulation and process of GR were optimized by orthogonal experiments. The results showed that the peanut shell biochar (HS-5) prepared at the temperature of 500℃ had good compatibility with *Bt*. The optimized formula (mass fraction) were *Bt* powder 22%, carrier (HS-5) 0.5%, wetting agent (nekal) 2%, binder (magnesium aluminum silicate) 2%, disintegrant (sodium chloride) 2%. The optimum granulation technology were as follows: the diameter of the sieve pore was 1.0 mm, the drying time was 40 min at the temperature of 40℃. The indexes of the obtained GR met the national standards. The study provided a reference for the combined application of biochar and *Bt*.

**Key words:** biochar; *Bacillus thuringiensis*; GR; orthogonal experiment; preparation technology

苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*, *Bt*)是一种革兰氏阳性芽孢杆菌,在其芽孢形成时期,菌体内会形成具有杀虫活性的伴孢晶体。*Bt*是目前应用广泛,对人类安全,对生态友好的一种微生物杀虫剂<sup>[1]</sup>。金龟子幼虫蛴螬是危害花生、马铃薯等根茎作物的主要地下害虫,其具有隐蔽性强、防治难度大

的特点。针对蛴螬的生防菌株,国内外已分离出30多个具有杀虫活性的*Bt*菌株<sup>[2]</sup>。虽然*Bt*作为生物杀虫剂具有显著的优势,但由于其主要杀虫成分是晶体蛋白,抗紫外线和适应不良环境条件的能力较差,使得*Bt*制剂在应用中受到限制,活性维持时间短<sup>[3]</sup>。因此,提高*Bt*微生物制剂稳定性、延长药效持续时间,

收稿日期: 2023-11-28

基金项目: 宁夏回族自治区自然科学基金项目(2022AAC03638、2019BEB04042); 山东省科技型中小企业创新能力提升工程项目(2022TSGC1311)

作者简介: 朱海云(1976—),女,硕士,副教授,研究方向为药物合成与制剂研究。E-mail: zhuhaiyun76@163.com

通信作者: 张保华(1976—),男,博士,副教授,研究方向为药物制剂与高效利用。E-mail: zhangbaohua76@163.com

成为研究的重要方向<sup>[4]</sup>。

生物炭是有机物质在真空、高温条件下受热发生分解得到的产物<sup>[5]</sup>。生物炭具多孔结构,吸附能力强,在肥料缓释、土壤改良、污染物修复、减少碳排放量等方面受到国内外学者的广泛关注<sup>[6-8]</sup>。同时,生物炭还可以作为优良的功能性微生物载体,以达到细胞或微生物固定和培养的目的<sup>[9-10]</sup>。目前已有利用生物炭固定降解菌实现持续降解环境污染物的研究报道<sup>[11]</sup>。

基于*Bt*应用中存在的问题及生物炭在农业中的应用,本研究以花生壳和山核桃壳制备了不同类型的生物炭,并测定其与苏云金杆菌相容性,以筛选出合适的生物炭种类,并通过生物炭固定*Bt*,进一步研发生物炭*Bt*颗粒剂。通过对颗粒剂配方和制备工艺进行优化,获得了符合国家标准的*Bt*颗粒剂。研究结果为生物炭与*Bt*联用开发新型生物杀虫剂提供了借鉴。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验材料与仪器

材料:花生壳、山核桃壳,市场购买。

菌株:*Bt*(B-Y7-1),来源于山东省无脊椎动物细胞研究中心。

试验中所用的LB营养肉汤培养基由试剂公司购买。

助剂:润湿剂拉开粉、TERWET1004、皂角粉、烷基糖苷、十二烷基苯磺酸钠;黏结剂可溶性淀粉,聚乙二醇(4000、6000、10000),硅酸镁铝;崩解剂尿素、硫酸铵、氯化钙、氯化钠、羧甲基淀粉钠。

试验仪器:万能粉碎机,北京市永光明医疗器械有限公司;鼓风干燥箱,山东龙口市先科仪器有限公司;旋转制粒机,张家港市荣华机械制造有限公司;傅里叶变换红外光谱仪,美国赛默飞世尔公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 生物炭制备方法

将洗净的山核桃壳或花生壳烘干,放入高速万能粉碎机粉碎,过0.6 mm筛,将过筛后的细粉放置在烧杯中,加入蒸馏水清洗,减压抽滤后将滤出物置于鼓风干燥箱中60℃干燥4 h。将干燥好的山核桃壳或花生壳细粉分装放入坩埚中,压实、密封、称重,记录初始质量后放入马弗炉中进行热解,真空状态下以5℃/min由25℃分别升至炭化温度400℃、500℃、600℃,并灼烧2 h。将制得的生物炭按照不同种类、温度分装入干燥密封袋保存,分别记做HT-4、

HT-5、HT-6和HS-4、HS-5、HS-6。

#### 1.2.2 生物炭的理化性质测定方法

pH:取样品生物炭2.0 g于40 mL去离子水中,振荡1 h后静置10 min,测定样品pH<sup>[12]</sup>。

产率:通过热解炭化处理前后物料质量差进行计算<sup>[13]</sup>,见公式(1)。

$$\text{产率}/\% = \frac{\text{热解后生物炭的质量}}{\text{热解前添加生物质的质量}} \times 100 \quad (1)$$

灰分:参考文献[14],称取2.0 g生物炭样品,在电热鼓风干燥箱中烘干后再称重,放入马弗炉中进行热解,设置热解温度为750℃,热解时间为6 h;热解结束后冷却至300℃取出生物炭,放置在干燥器中冷却后称重。重复以上步骤直至样品质量变化小于0.000 5 g,通过质量的变化计算生物炭的灰分含量。

### 1.3 生物炭的性能表征方法

BET测试:生物炭样品在150℃脱气预处理6 h后,利用N<sub>2</sub>吸脱附等温仪测定6种不同生物炭的比表面积,进行颗粒表面吸附性能分析。

红外光谱测定:采用傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)在4 000~400 cm<sup>-1</sup>对不同温度处理的山核桃壳及花生壳生物炭进行官能团分析。

### 1.4 相容性测定方法

#### 1.4.1 生物炭与*Bt*相容性的测定

待测*Bt*菌液的制备:将*Bt*菌种冻干粉按照1%的接种量接种于100 mL的LB营养肉汤培养基中,于恒温水浴振荡培养器中37℃摇床培养24 h,活化2次,4 000 r/min离心15 min后收集下层沉淀,用0.9%无菌生理盐水洗涤沉淀2次,离心收集菌体,用0.9%无菌生理盐水制成一定浓度菌悬液。

CFU的测定方法<sup>[15]</sup>:设置不同的生物炭投入量0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%(质量体积比),并设不添加生物炭空白对照CK。放置在30℃培养箱中培养24 h后,利用平板计数法记录菌落数量,即为菌落形成单位,每处理重复3次,取平均值。

#### 1.4.2 助剂与*Bt*相容性的测定

利用紫外分光光度计测定微生物的OD,作为菌体生长状态的一个指标。

将不同种类的助剂加入到含有LB营养肉汤培养液的三角烧瓶内混合均匀(保持助剂质量2%),121℃灭菌30 min,在超净工作台中以无菌操作量取1 mL *Bt*菌液于上述灭菌的LB营养肉汤培养液中,混合均匀,培养24 h,测定其OD。以接入*Bt*的空白LB营养肉汤培养液为对照,通过OD确定助剂对*Bt*生长的影响。

## 1.5 生物炭*Bt*颗粒剂配方优化

### 1.5.1 颗粒剂配方正交试验设计

在筛选出合适的生物炭和助剂种类基础上,分别改变生物炭、润湿剂、黏结剂和崩解剂的比例(表1),采用L9(3<sup>4</sup>)正交表设计试验,分别制备颗粒剂,并采用平板计数法计算活菌数,每处理重复3次,确定不同助剂的最佳组合<sup>[16]</sup>。

表1 主要助剂单因子筛选

因子	水平/%		
	1	2	3
生物炭(A)	0.5	1.0	2.0
润湿剂(B)	1.0	2.0	4.0
黏结剂(C)	1.0	2.0	4.0
崩解剂(D)	1.0	2.0	4.0

### 1.5.2 制备工艺优化

生物炭*Bt*颗粒剂的制备工艺影响因素包括筛孔粒径、烘干温度、烘干时间等3个因素,分别按照表2设计因素水平,采用L9(3<sup>4</sup>)正交试验优化制备工艺。

表2 制备条件单因子筛选

因子	水平		
	1	2	3
筛孔粒径(A)	0.6 mm	1.0 mm	1.5 mm
烘干温度(B)	40℃	50℃	60℃
烘干时间(C)	20 min	30 min	40 min

## 1.6 数据处理

采用Excel 2021进行数据整理,Origin 8.5作图,SPSS 19.0统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 生物炭理化性质及性能表征

#### 2.1.1 生物炭的产率、灰分及pH

制备生物炭的热解温度是影响生物炭理化性质的重要因素,不同热解温度下制备的生物炭理化性质不同<sup>[17]</sup>。由表3可以看出:生物炭在400℃、500℃及600℃时所得生物炭的产率、pH和灰分均有较大

的差异,花生壳生物炭的产率大于山核桃壳,山核桃壳灰分含量大于花生壳;随着温度的增加,2种生物炭的产率均逐渐减少,灰分和pH均逐渐增加。生物炭产率除了受生物质本身来源材料的影响外,还受到热解温度的影响,一般随着制备温度的升高生物炭产率逐渐降低,但灰分、pH则随温度的升高而升高<sup>[18]</sup>。生物炭原料中含有多种植物酸,在热解过程中植物酸逐渐分解,低温热解主要生成草酸盐,而高温热解主要生成碳酸盐。因此,随着温度的升高,碳酸盐含量逐渐增加,导致pH增大<sup>[19]</sup>。

表3 不同生物炭的理化性质

原材料	生物炭	产率/%	灰分/%	pH	比表面积/(m <sup>2</sup> /g)
山核桃壳	HT-4	35.73	5.76	8.01	50.738
	HT-5	27.93	8.74	9.44	61.310
	HT-6	22.47	9.83	9.89	63.074
花生壳	HS-4	36.12	5.49	7.53	61.101
	HS-5	28.41	6.73	8.31	69.459
	HS-6	24.27	8.42	9.73	71.835

#### 2.1.2 比表面积测定

比表面积是指单位质量物料的总面积,比表面积越大,吸附空间越大,效果越好。由表3可知,随着热解温度的不断增加,生物炭的比表面积也越来越大,山核桃壳、花生壳均在600℃热解温度下比表面积最大。

#### 2.1.3 生物炭红外光谱分析

不同生物炭的傅里叶红外光谱图如图1所示。由图1可知,花生壳生物炭的特征峰主要有3 435 cm<sup>-1</sup>、2 960 cm<sup>-1</sup>、2 348 cm<sup>-1</sup>、1 388 cm<sup>-1</sup>、1 077 cm<sup>-1</sup>、876 cm<sup>-1</sup>的吸收峰。其中,3 435 cm<sup>-1</sup>为酚羟基和醇羟基的特征峰,但由于热解温度为500℃,-OH特征峰强度减弱且发生红移。2 960 cm<sup>-1</sup>附近是烷烃中的C-H吸收峰,500℃有极弱的吸收峰,说明生物炭的芳香性<sup>[20]</sup>。1 388 cm<sup>-1</sup>为-CH<sub>3</sub>中C-H面内弯曲振动峰。在指纹区1 077 cm<sup>-1</sup>左右为木质素中-C-O和O-CH<sub>3</sub>吸收峰<sup>[21]</sup>,说明生物炭保留了原生质的结构特性。在指纹区876 cm<sup>-1</sup>处有较强的芳香族化合物峰<sup>[22]</sup>。

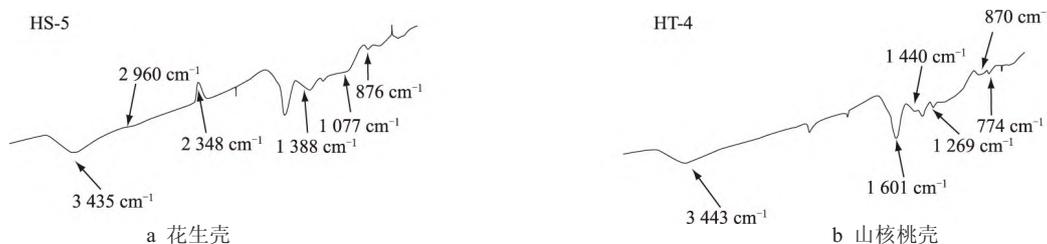


图1 生物炭的红外光谱图

山核桃壳在400℃的热解温度下制得的生物炭的特征峰也比较丰富,主要集中在500~3 500 cm<sup>-1</sup>波长。其中,3 443 cm<sup>-1</sup>的伸缩振动峰为-OH的特征峰,在热解温度400℃下发生了红移<sup>[23]</sup>。1 601 cm<sup>-1</sup>处的峰是芳环中C=C或C=O的伸缩振动吸收峰,1 440 cm<sup>-1</sup>显示的是木质素芳香性C=C的伸缩振动峰,1 269 cm<sup>-1</sup>是纤维素或半纤维素的伸缩振动峰<sup>[24]</sup>。870 cm<sup>-1</sup>处对应的是Si-O-Si伸缩振动吸收峰<sup>[25]</sup>,也是生物炭中灰分的组成结构。以上红外光谱图可以说明,生物炭含有大量含氧官能团,从而提高了生物炭对一些微生物的吸附能力<sup>[26]</sup>。

## 2.2 生物炭与*Bt*相容性

不同种类生物炭由于其理化性质的差异会表现出不同的性能<sup>[27]</sup>。不同种类生物炭与*Bt*的生物相容性见图2。由图2可知,不同种类、不同温度热解的生物炭与*Bt*的生物相容性不同。其中,HT-5和HT-6随生物炭添加量的增加对*Bt*菌落形成呈现抑制作用,而其他生物炭则出现先促进后抑制的趋势,即生物炭在低浓度时促进*Bt*菌落形成,高浓度时抑制。其原因可能是由于生物炭呈碱性,添加量越大pH越大,不利于*Bt*菌落形成<sup>[22]</sup>。总体来看,花生壳生物炭与*Bt*的相容性优于山核桃壳生物炭,且500℃下制备的花生壳生物炭,在添加量为0.5%时与*Bt*的相容性最好。

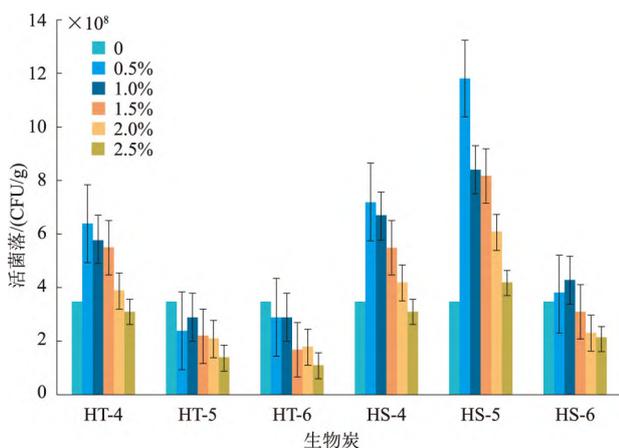


图 2 生物炭与 *Bt* 相容性

## 2.3 助剂与*Bt*相容性

### 2.3.1 润湿剂与*Bt*相容性

图3是不同润湿剂与*Bt*的相容性测定结果。由图3可知,润湿剂对*Bt*具有一定抑制作用。其中,拉开粉抑制作用最小,与对照差异不显著。因此,选择拉开粉作为*Bt*颗粒剂的润湿剂。

### 2.3.2 黏结剂与*Bt*相容性

图4是不同种类的黏结剂与*Bt*的相容性测定结

果。由图4可以看出,黏结剂对*Bt*的生长均有抑制作用,总体分析,硅酸镁铝与*Bt*相容性最好,与对照组差异不明显。因此,选用硅酸镁铝作为黏结剂。

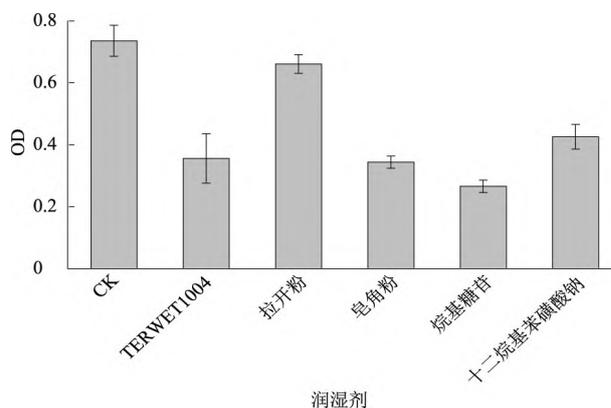


图 3 润湿剂对 *Bt* 菌落形成影响

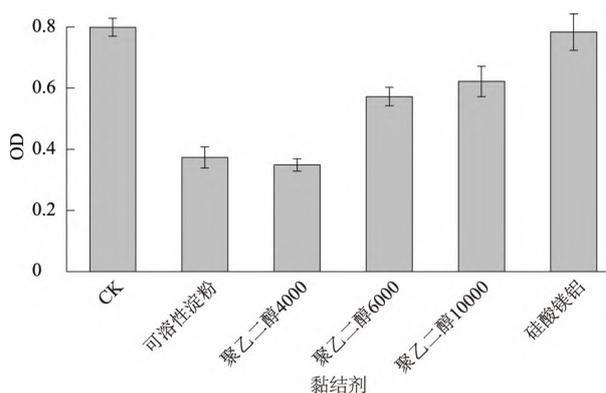


图 4 黏结剂对 *Bt* 菌落形成影响

### 2.3.3 崩解剂与*Bt*相容性

图5是5种崩解剂与*Bt*相容性测定结果。可以看出,与*Bt*相容性最好的崩解剂为氯化钠,与对照相比,其对*Bt*菌落形成几乎没有影响,说明生物相容性良好。

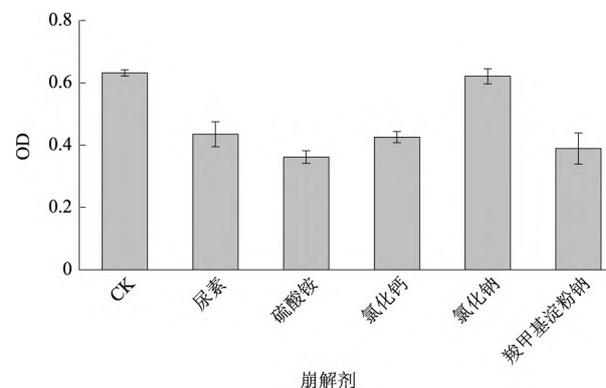


图 5 崩解剂对 *Bt* 菌落形成影响

## 2.4 生物炭基*Bt*颗粒剂配方优化

根据以上对生物炭和助剂的筛选结果,初步确定以HS-5、拉开粉、硅酸镁铝和氯化钠为*Bt*颗粒剂

基本配方,设计正交试验,进一步优化配方。具体优化结果见表4。

表4 主要助剂配比正交优化试验结果

试验序号	因子				活菌数/(CFU/g)
	生物炭(A)	润湿剂(B)	黏结剂(C)	崩解剂(D)	
1	1	1	1	1	$4.1 \times 10^8$
2	1	2	2	2	$5.3 \times 10^8$
3	1	3	3	3	$4.7 \times 10^8$
4	2	1	2	3	$3.9 \times 10^8$
5	2	2	3	1	$3.1 \times 10^8$
6	2	3	1	2	$4.6 \times 10^8$
7	3	1	3	2	$2.4 \times 10^8$
8	3	2	1	3	$3.9 \times 10^8$
9	3	3	2	1	$2.1 \times 10^8$
K1	14.1	10.4	12.6	9.3	
K2	11.6	12.7	11.7	12.7	
K3	8.4	11.4	10.2	12.5	
K1'	4.83	3.47	4.20	3.10	
K2'	3.87	4.23	3.90	4.23	
K3'	2.80	3.80	3.40	4.16	
R	2.03	0.76	0.80	1.13	
主次顺序	A>D>C>B				
最优水平	A <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>2</sub>	
最优组合	A <sub>1</sub> D <sub>2</sub> C <sub>2</sub> B <sub>2</sub>				

注:K1、K2、K3为各因素不同水平下菌落的总和,K1'、K2'、K3'为各个因素不同水平下菌落的平均值<sup>[29]</sup>,均为对应值 $\times 10^8$  CFU/g;下表同。

9组试验数据中试验2的活菌数最多,因此可得最优组合为A<sub>1</sub>D<sub>2</sub>C<sub>2</sub>B<sub>2</sub>,但由正交优化试验所得到各因素水平最佳组合为A<sub>1</sub>D<sub>2</sub>C<sub>1</sub>B<sub>2</sub>。为此,对组合A<sub>1</sub>D<sub>2</sub>C<sub>2</sub>B<sub>2</sub>和A<sub>1</sub>D<sub>2</sub>C<sub>1</sub>B<sub>2</sub>组合进行了验证比较试验。结果表明:A<sub>1</sub>D<sub>2</sub>C<sub>2</sub>B<sub>2</sub>组合的活菌数为 $5.10 \times 10^8$  CFU/g;A<sub>1</sub>D<sub>2</sub>C<sub>1</sub>B<sub>2</sub>组合的活菌数为 $3.70 \times 10^8$  CFU/g。因此最佳组合应为A<sub>1</sub>D<sub>2</sub>C<sub>2</sub>B<sub>2</sub>,即最佳配比为0.5%的HS-5生物炭、2%的拉开粉、2%的硅酸镁铝、2%的氯化钠。

## 2.5 生物炭基*Bt*颗粒剂制备工艺正交优化

颗粒剂制备工艺会影响菌剂的质量<sup>[29]</sup>。在确定了颗粒剂最佳配方的基础上,进一步优化颗粒剂的制备工艺,正交试验结果见表5。分析表中数据可知,活菌数最多的一组是试验7,即最佳组合为A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>,但正交试验得到的最佳组合为A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>。为此对A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>和A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>组合进行了验证比较试验。结果表明:A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>2</sub>组合的活菌数为 $5.32 \times 10^8$  CFU/g;A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>组合的活菌数为 $5.46 \times 10^8$  CFU/g。因此,本试验中各因素的最佳组合应为A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>,即最佳颗

粒制备工艺为筛孔粒径1.0 mm、烘干温度40℃、烘干时间40 min。

表5 颗粒剂制备工艺正交优化试验结果

试验序号	因子				活菌数/(CFU/g)
	筛孔粒径(A)	烘干温度(B)	烘干时间(C)	误差项(D)	
1	1	1	1	1	$3.4 \times 10^8$
2	1	2	2	2	$3.1 \times 10^8$
3	1	3	3	3	$3.2 \times 10^8$
4	2	1	2	3	$4.3 \times 10^8$
5	2	2	3	1	$3.6 \times 10^8$
6	2	3	1	2	$4.7 \times 10^8$
7	3	1	3	2	$5.3 \times 10^8$
8	3	2	1	3	$3.9 \times 10^8$
9	3	3	2	1	$2.9 \times 10^8$
K1	9.7	13	12	9.9	
K2	12.6	10.6	10.3	9.6	
K3	12.1	10.8	12.1	13.2	
K1'	3.23	4.33	4.00	3.30	
K2'	4.20	3.53	3.43	3.20	
K3'	4.03	3.60	4.03	4.40	
R	0.97	0.80	0.60	1.20	
主次顺序	A>B>C				
最优水平	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>3</sub>	
最优组合	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub> D <sub>3</sub>				

## 2.6 生物炭基*Bt*颗粒剂性能及贮藏稳定性

以优化所得的配方制备*Bt*颗粒剂,并进行相关性测定。所制备的花生壳生物炭基*Bt*复合颗粒剂外观为灰白色柱状颗粒,活菌数为 $5.46 \times 10^8$  CFU/g,pH为6.3,润湿时间为19.8 s,悬浮率为82.65%,崩解时间为75.30 s,各项性能指标均符合生物农药产品标准要求。

所制备的*Bt*颗粒剂在室温(25℃)条件下贮藏6个月,*Bt*存活率为75.39%,而4℃条件下贮藏相同时间的*Bt*存活率为82.47%,差异不显著;生物炭基*Bt*颗粒剂稳定性均高于*Bt*菌粉的稳定性,表明通过颗粒化制备提高了*Bt*的常温存活率。

## 3 结论与讨论

生物炭是具有良好孔隙结构的富碳材料,是目前应用广泛的土壤改良剂,不但能改善土壤pH,提高营养元素吸收,缓解有害金属毒性<sup>[30]</sup>,而且还可以与微生物共用,提高微生物稳定性和有效性<sup>[31]</sup>。微生物农药具有安全性高、相容性好的特点,但对剂型配方和制备工艺要求高,需要筛选和优化与微生物

菌剂相容性好的载体和其他助剂<sup>[32]</sup>。

本研究以花生和山核桃壳为原料,在不同热解温度下制备了生物炭,并筛选出与*Bt*生物相容性好的生物炭种类HS-5。在此基础上,进一步筛选和优化颗粒剂配方、制备工艺,最终获得了以花生壳生物炭为载体的*Bt*复合颗粒剂。经测定其各项性能指标均符合生物农药的产品标准要求。所制生物制剂以生物炭为载体,实现了生物炭与微生物的联合应用,并提高了微生物制剂的贮存稳定性。该生物制剂尚需要进一步开展田间试验,研究其田间应用效果及对土壤微环境和作物的影响,以便于进一步推广应用。

#### 参考文献

- [1] CHANDRAKASA N G, AYALA M T, FERNANDO J, et al. Bio-controlled efficacy of *Bacillus thuringiensis* cry protein protection against tomato fruit borer *Helicoverpa armigera* in a laboratory environment[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2022, 119: 101827.
- [2] 王容燕, 范秀华, 曹伟平, 等. 苏云金杆菌新菌株对金龟子幼虫的毒力比较[J]. *植物保护学报*, 2003, 30(2): 223-224.
- [3] ELHAM J, SHAHAB M, EBRAHIM N. Ultraviolet protection of *Bacillus thuringiensis* through microencapsulation with pickering emulsion method[J]. *Scientific Reports*, 2020 (10): 20633.
- [4] ELHAM J, YOLANDA B, SHAHAB M, et al. Enhancing insecticidal efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab through pH-sensitive encapsulation [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2023, 107: 6407-6419.
- [5] LEHMANN J, RILLIG M C, THIES J, et al. Biochar effects on soil biota-a review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1812-1836.
- [6] 索桂芳. 炭基微生物肥料的制备与应用[D]. 浙江金华: 浙江师范大学, 2018.
- [7] 李飞跃, 梁媛, 汪建飞. 生物炭固碳减排作用的研究进展[J]. *核农学报*, 2013, 27(5): 681-686.
- [8] 谢祖彬, 刘琦, 许燕萍. 生物炭研究进展及其研究方向[J]. *土壤*, 2011, 43(6): 857-861.
- [9] 丁文川, 曾晓岚, 王永芳. 生物炭载体的表面特征和挂膜性能研究[J]. *中国环境科学*, 2011, 31(9): 1451-1455.
- [10] MULLA S I, TALWAR M P, BAGEWADI Z K, et al. Enhanced degradation of 2-nitrotoluene by immobilized cells of *Micrococcus* sp. Strain SMN-1[J]. *Chemosphere*, 2013, 90(6): 1920-1924.
- [11] 李骅, 姜灿烂, 丁大虎, 等. 海藻酸钠-生物炭联合固定化菌株降解2-羟基-1,4-萘醌[J]. *南京农业大学学报*, 2016, 3(5): 800-806.
- [12] 李飞跃, 汪建飞, 谢越, 等. 热解温度对生物质炭碳保留量及稳定性的影响[J]. *农业工程学报*, 2015, 31(4): 266-271.
- [13] QIU M, SUN K, JIN J, et al. Properties of the plant and manure-derived biochars and their sorption of dibutyl phthalate and phenanthrene[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 5295.
- [14] CARRIER M, HARDIE A G, URAS U, et al. Production of char from vacuum pyrolysis of South-African sugar cane bagasse and its characterization as activated carbon and biochar[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2010, 96: 24-32.
- [15] 董金星, 杨梦娇, 陈小芳, 等. 生物炭作为EM菌载体影响因素及其条件优化[J]. *安徽科技学院学报*, 2015, 29(6): 81-86.
- [16] 李飞跃, 陶进国, 汪建飞, 等. 不同温度下制备花生壳生物炭的结构性质差异[J]. *环境工程学报*, 2017, 11(6): 3726-3730.
- [17] 孙玲, 贾明云, 刘壮壮, 等. 不同热解温度和升温速率下杨树枝条生物质炭产率和理化性质分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2023, 32(3): 71-82.
- [18] KEILUWEIT M, NICO P S, JOHNSON M G, et al. Dynamic molecular structure of plant biomass-derived black carbon (biochar) [J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, 44: 1247-1253.
- [19] 李靖. 不同源生物炭的理化性质及其对双酚A和磺胺甲噁唑的吸附[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2013.
- [20] PARSHETTI G K, HOEKMAN S K, BALASUBRAMANIAN R. Chemical, structural and combustion characteristics of carbonaceous products obtained by hydrothermal carbonization of palm empty fruit bunches[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 135: 683-689.
- [21] LIU Y, YUAN X Z, HUANG H J, et al. Thermochemical liquefaction of rice husk for bio-oil production in mixed solvent (ethanol-water)[J]. *Fuel Processing Technology*, 2013, 112 (3): 93-99.
- [22] LIM G P, AHMAD M S. Development of Ca-alginate-chitosan microcapsules for encapsulation and controlled release of imidacloprid to control dengue outbreaks[J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2017, 56: 382-393.
- [23] 王彤彤, 王晓琳, 任志胜, 等. 不同原料制备的生物炭形貌结构及表面特性研究[J]. *环境科学与技术*, 2017, 40(1): 42-48.
- [24] WANG Q, KONG X P, ZHANG B H, et al. Adsorption of Zn (II) on the kaolinite (001) surfaces in aqueous environment: a combined DFT and molecular dynamics study[J]. *Applied Surface Science*, 2017, 414: 405-412.
- [25] YUAN J H, XU R K, ZHANG H. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3): 3488-3497.
- [26] 徐欢欢. 生物炭负载纳米零价铁对水中雌激素去除及其在人工湿地中的应用[D]. 上海: 东华大学, 2019.
- [27] CARRIER M, HARDIE A G, URAS U, et al. Production of char from vacuum pyrolysis of South-African sugar cane bagasse and its characterization as activated carbon and biochar [J]. *Journal of Analytical & Applied Pyrolysis*, 2012, 96(7): 24-32.
- [28] 蒋盼盼. 解淀粉芽孢杆菌B1619对设施蔬菜根结线虫病的防治效果与抗病性诱导作用的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [29] 甘颖, 石晓鹏, 明亮, 等. 正交法优化解淀粉芽孢杆菌 B1619水分散剂加工工艺[J]. *农药学报*, 2016, 18(4): 516-523.
- [30] 丛铭, 张梦阳, 夏浩, 等. 施用生物炭对红壤中不同形态钾含量及小白菜生长的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2020, 39(4): 22-28.
- [31] 李其胜, 殷小冬, 董青君, 等. 生物炭和微生物菌剂添加对菇渣好氧堆肥过程及其养分变化的影响[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51 (11): 212-218.
- [32] 赵航, 周勇军, 刘小川, 等. 生物除草剂型研究进展[J]. *植物保护*, 2005, 31(5): 5-8.

(编辑: 顾林玲)