

发酵糠醛渣中生化腐植酸的提取与表征

张院萍, 张晓忠 (宁夏共享生物化工有限公司, 宁夏银川 750200)

摘要 [目的] 为了解决腐植酸的水溶性问题以及钠离子连续、长期在土壤中的累积对土壤环境带来的不利影响。[方法] 以发酵糠醛渣为原料, 采用碱溶酸析法提取生化腐植酸(BHA), 考察固液比(糠醛渣与水的质量比)、碱液浓度、提取温度、提取时间对生化腐植酸含量的影响, 并且通过红外光谱对其结构进行了表征。[结果] 最佳的提取工艺条件为: 固液比1:7、碱液浓度6% KOH、提取时间1 h、提取温度70 ℃, 此时生化腐植酸含量为8.5%。红外光谱分析表明, 提取得到的生化腐植酸和商品腐植酸结构相似, 但BHA官能团种类较多, 分子量较小。[结论] 该工艺生产操作简单, 稳定可行, 可用于提取生化腐植酸。利用BHA开发制备腐植酸类新型肥料有很好的发展前景。

关键词 发酵糠醛渣; 生化腐植酸; 提取; 红外光谱

中图分类号 S188+.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)28-09752-03

Extraction and Characterization of Biotechnology Humic Acid of Fermented Furfural Residue

ZHANG Yuan-ping, ZHANG Xiao-zhong (Kocel Biology Chemicals Co., Ltd., Yinchuan, Ningxia 750200)

Abstract [Objective] The research aimed solve water solubility problem of humic acid and negative influence of continuous and long-term accumulation of sodion in the soil on the soil environment. [Method] Biotechnology humic acid was extracted from fermented furfural residue, which was treated by alkali solubilization and acid precipitation. The effects of solid-liquid ratio (mass ratio of fermented furfural residue to water), alkali concentration, extracting temperature and extracting time on the biotechnology humic acid content was investigated. And its structure was characterized by FTIR. [Result] The optimal extracting conditions were as following: solid-liquid ratio of 1:7, alkali concentration of 6% KOH, with extracting temperature of 70 ℃ and extracting time of 1 h, the biotechnology humic acid content was 8.5%. The infrared spectrum analysis indicated that the biotechnology humic acid had more types of functional groups, lower molecular weight than the commercial humic acid, although they had the similar structure. [Conclusion] The operation of the technology was easy, stable and feasible, which could be used to extract the biotechnology humic acid. And the development and preparation of humic acid fertilizer with BHA had the good development prospect.

Key words Fermented furfural residue; Biotechnology humic acid; Extraction; Characterization

腐植酸(Humic acid, 简称 HA)是一种芳香族类高分子有机弱酸。其结构复杂, 含多种活性官能团, 具有很高的反应活性, 被广泛用于农业、工业、医药、环境保护等各个方面^[1-5]。近年来, 国内外对发酵法生产 HA 的研究日趋重视。发酵法生产 HA 是模拟天然腐植酸的生产过程, 将特定的微生物接种到培养基中, 通过微生物发酵而制取 HA 的过程^[6]。这种生化腐植酸(Biolechnology humic acid, 简称 BHA)官能团渗透力强、水溶性好、耐酸碱, 具有广阔的应用前景。20世纪80年代末, 在进行长达4年的大规模应用试验和较深入的理论研究之后, 总结出腐植酸在农业方面的五大功效, 即改良土壤、增强肥效、增加产量、提高作物抗病力和改善品质^[7]。近年来, 随着环保意识的增强和绿色食品、有机食品的发展, 包括生化腐植酸在内的绿色环保水溶肥备受关注。随着世界范围内农业科技的进步, 水溶性腐植酸肥料的年需求增长率已远超普通产品。然而, 多年来传统的碱液提取腐植酸技术会对土壤环境产生污染^[8-9], 使得这项技术饱受质疑, 从而制约了水溶性腐植酸肥料的推广。笔者认为, 大力推广具有环保优势的水溶性腐植酸新技术迫在眉睫。

目前, 我国水溶性腐植酸行业所采用的传统技术存在问题。国内外生产腐植酸类农用产品所需的水溶性腐植酸组分大多数需要烧碱提取, 导致在产品中含有无用甚至有害的

钠离子。由于钠不是农作物的营养元素, 仅为了解决腐植酸的水溶性问题, 钠离子连续、长期在土壤中的累积会对土壤环境带来不利影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料 腐熟的糠醛渣(自产), 自来水, 高品质氢氧化钾(含量≥90%, 内蒙古达泰丰化工有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 生化腐植酸的提取。将腐熟的糠醛渣粉碎过80目筛, 按一定的固液比(发酵糠醛渣与水的质量比)准确称量后置于1000 ml 烧杯中, 加入一定质量的氢氧化钾, 在一定的温度条件下搅拌反应一定时间, 然后静置过夜, 等反应物料分层后, 收集含生化腐植酸的黑褐色上清液。将上述所得上清液用浓度10%硫酸调节pH为2.5, 析出大量棕黑色沉淀, 用布氏漏斗抽滤, 收集沉淀物, 然后用蒸馏水20 ml 洗涤3次, 最后将所得沉淀物置于105 ℃下烘干至恒重, 称量。

1.2.2 生化腐植酸的检测方法和表征手段。利用容量法^[10]按照NY 1106-2010含腐植酸水溶肥中规定测定腐植酸含量;按照NYT 1976-2010水溶肥料有机质含量测定方法测定有机质含量;取提取的生化腐植酸, 与KBr粉末混合、研磨、压片, 用红外光谱仪测定, 扫描范围4000~400 cm⁻¹, 进行红外光谱图分析;利用氢氧化钡法和醋酸钙, 测定生化腐植酸的总酸度、羧基和酚羟基。

2 结果与分析

2.1 氢氧化钾提取生化腐植酸

2.1.1 固液比(发酵糠醛渣与水的质量比)对生化腐植酸提取含量的影响。在固液比分别为1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、

作者简介 张院萍(1984-), 女, 宁夏银川人, 助理工程师, 从事腐植酸提取及腐植酸系列肥料技术研发工作。

收稿日期 2014-08-21

1:10、1:12, 提取温度 75 °C 的条件下反应 2 h, 测定生化腐植酸上清液的腐植酸含量。

从图 1 可以看出, 生化腐植酸的提取含量先随着原料固液比的增加而增加, 然后降低。当固液比为 1:7 时, 经过碱提取后上清液中生化腐植酸含量达到最高, 为 8.5%; 当固液比继续增大时, 腐植酸含量反而逐渐降低。分析原因是增加液相介质水量会稀释碱的浓度, 降低碱萃取糠醛渣中生化腐植酸的反应能力。因此, 最佳的原料固液比为 1:7。

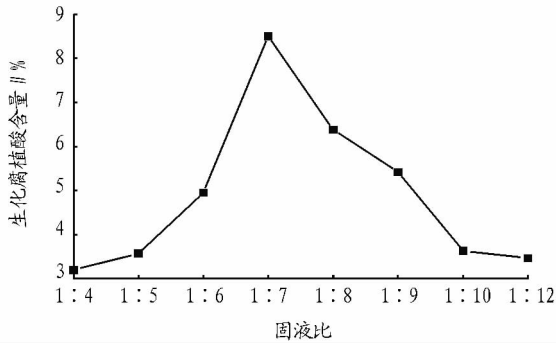


图 1 固液比对生化腐植酸提取含量的影响

2.1.2 氢氧化钾溶液浓度对生化腐植酸提取反应的影响。由于 KOH 溶液能够从发酵糠醛渣中提取出可溶性腐植酸盐、游离腐植酸和部分难溶的腐植酸盐, 可以用不同浓度的 KOH 处理发酵糠醛渣, 考察其对 BHA 提取效果的影响。在固液比为 1:7, 提取温度为 70 °C, 提取时间为 1 h 时, 研究不同氢氧化钾浓度下生化腐植酸含量的变化。

从图 2 可以看出, 生化腐植酸的提取含量先随着氢氧化钾浓度的增加而增加, 然后过了最佳浓度值后其含量随之降低。当氢氧化钾浓度为 6% 时抽提效果最好, 生化腐植酸的含量达到 8.5%。因此, 选择氢氧化钾浓度为 6% 提取发酵糠醛渣中腐植酸。

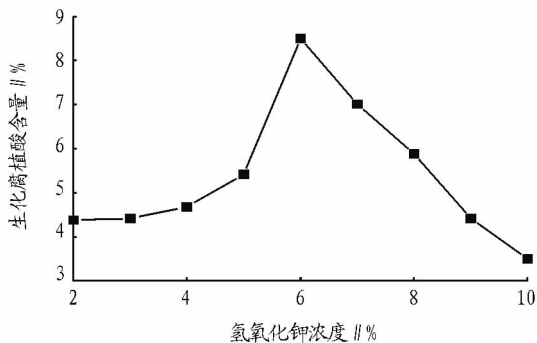


图 2 氢氧化钾对生化腐植酸提取含量的影响

2.1.3 提取时间对生化腐植酸提取反应的影响。在固液比为 1:7、氢氧化钾浓度为 6%、提取温度为 70 °C 时, 研究不同提取时间下生化腐植酸含量的变化。

提取时间对 BHA 的提取是关键因素。如果提取时间过短, 则会使 BHA 提取反应不完全, 造成腐植酸上清液中的 BHA 含量低; 相反, 如果提取时间过长, 则会影响 BHA 的性质, 易造成 BHA 分解, 降低 BHA 的提取含量和提取率。同时, 延长提取时间, 增加提取反应的单位能耗, 增加生产成本。

从图 3 可以看出, 当反应时间为 60 min 时, BHA 含量达到最高。当提取时间低于 60 min 和高于 60 min 时, 利用发酵糠醛渣提取 BHA 的含量低。分析其原因, 是当提取反应时间短时, 提取不充分; 提取时间越长, 碱的浓度消耗越多, 造成 BHA 分解, 使得所制备的腐植酸上清液中 BHA 含量低。

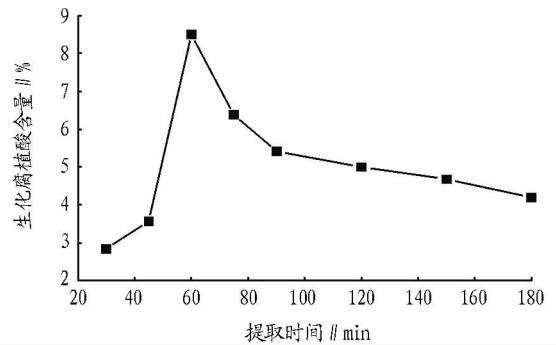


图 3 提取时间对生化腐植酸提取含量的影响

2.1.4 提取温度对生化腐植酸提取反应的影响。在固液比为 1:7, 氢氧化钾浓度为 6%, 反应时间为 1 h 时, 研究不同提取温度下生化腐植酸含量的变化。

生化腐植酸是一种多活性基团的高分子物质。反应温度越高, 分子运动速率越大, 反应速率越快。但是, 反应温度过高会使发酵糠醛渣中有机质分解, 能耗随之增大。因此, 设计合适的提取温度, 不仅可适当加快反应速度, 而且可减少生产成本。从图 4 可以看出, BHA 含量随着提取温度的增加先迅速增大, 过了最佳温度 70 °C 后, BHA 含量逐渐降低。所以, 选择提取最佳温度为 70 °C。

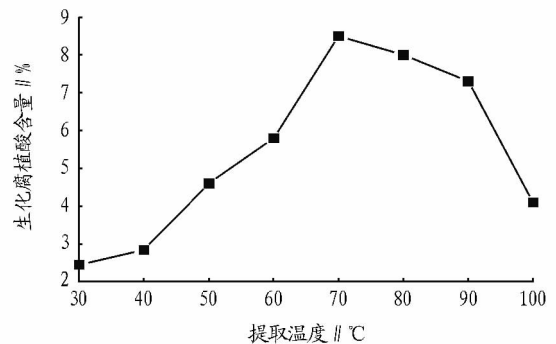


图 4 提取温度对生化腐植酸提取含量的影响

2.2 生化腐植酸产品的物理性质 利用发酵糠醛渣碱液抽提的生化腐植酸产品, 腐植酸的总酸度为 10.687 mmol/g, 酚羟基为 6.238 mmol/g, 羧基为 4.792 mmol/g, 腐植酸含量为 88.4 g/L, 有机质含量为 104 g/L。这说明样品中因其分子中芳香环和脂肪链上的羧基以及羟基中存在可离解的氢离子使得生化腐植酸有酸度和交换容量, 同时有机质含量也高。

2.3 红外光谱分析 利用 FTIR, 对 BHA 中官能团作定性分析。生化腐植酸的红外谱图见图 5。BHA 的红外特征吸收峰及其归属见表 1。

这些官能团在生化腐植酸分子中所处的化学环境各不相同, 因而吸收峰的宽度各不一样。综合试验, 同时根据相

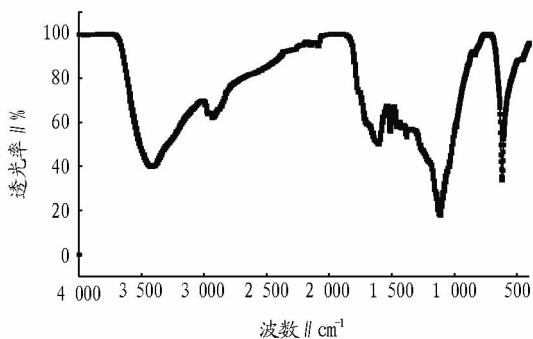


图5 利用发酵糠醛渣提取生化腐植酸的红外谱图

关资料研究,发现生化腐植酸中含羟基(-OH)、羧基(-COOH)、羰基(-C=O)等活性官能团。这些活性基团决定了BHA官能团渗透力强、水溶性好、耐酸碱及较高的吸附能力。因此,该工艺提取的物质从结构上可以肯定是生化腐植酸。

表1 BHA的红外特征吸收峰及其归属

吸收峰波长 范围// cm^{-1}	生化腐植酸官能团
3 300~3 500	氢键缔合的-O-H伸缩振动,N-H伸缩振动
2 800~3 000	脂肪族中-CH ₃ 、-CH ₂ 和-C-H的伸缩振动
1 700~1 800	有羰基中C=O,酮基中C=O伸缩振动
1 600~1 700	醛、酮、醌中-C=O的伸缩振动或芳香上C=C伸缩振动
1 500~1 600	芳香基上C=C骨架振动,芳香C=O伸缩振动,硝基NO ₂ 振动
1 400~1 500	脂肪族中-CH ₃ 变形振动、不对称振动,-CH ₂ -变形振动,芳环C=C伸缩振动
1 300~1 400	脂肪族中-CH ₃ 和-CH ₂ -的振动,C-OH的变形振动
1 100~1 200	脂肪族上的C-OH、C-O伸缩振动
1 000~1 100	R-OH、脂肪醇振动
700~800	COO-振动

(上接第9730页)

抗辐射、生发乌发等美容功效,是天然的保健化妆品,开发潜力巨大。

4 小结与讨论

笔者通过走访与实地调查,研究了黄精在商南的自然分布状况、伴生植物、生态学习性以及资源利用的现状,以期对商南黄精资源的保护和中药产业的蓬勃发展提供理论基础,也能够为其他药用植物的发展提供借鉴。

由于时间、经费所限,布设样点频度不足,不足之处在所难免,有许多不同地貌的区域由于交通和安全的原因没有涉足,调查的种类和数量与实际情况有所出入,需要在后续的研究中继续加大工作的力度。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005年版一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:215.
 [2] 石林,蒙义文,李伟,等. 黄精及黄精多糖的药理作用[J]. 天然产物研究与开发,1999,11(3):67-71.
 [3] 孙隆儒,王素贤. 中药黄精中的新生物碱[J]. 中国药物化学杂志,1997,7(2):129.
 [4] 黄瑶,石林. 黄精的药理研究及其开发利用[J]. 华西药学杂志,2002,17(4):278-279.
 [5] 王红玲,张瑜侯,饶艳,等. 黄精多糖对哮喘患儿红细胞免疫功能影响的体外实验研究[J]. 中国当代儿科杂志,2002,4(3):233-235.

3 结论

近年来,腐植酸已被广泛应用于农业肥料的制备,一般都是从泥炭、风化煤中提取得到,而通过从发酵糠醛渣中提取腐植酸的研究很少。以发酵糠醛渣为原料,采用碱溶酸析法提取生化腐植酸,考察了固液比(糠醛渣与水的质量比)、碱液浓度、提取温度、提取时间对生化腐植酸含量的影响,并且通过红外光谱对其结构进行表征。结果表明,最佳的提取工艺条件为固液比1:7、碱液浓度6% KOH、提取时间1 h、提取温度70℃,此时生化腐植酸含量为8.5%。红外光谱分析表明,提取得到的生化腐植酸和商品腐植酸结构相似,但是BHA官能团种类较多,分子量较小。该工艺生产操作简单,稳定可行,可用于提取生化腐植酸。同时,该试验对BHA的结构、性质和含量检测做了一定的研究。利用BHA开发制备腐植酸类新型肥料有很好的发展前景。

参考文献

[1] 李威,邹立社,朱书全. 近十年腐植酸应用研究综述[J]. 腐植酸,2006,30(3):3-8.
 [2] 刘康德. 腐植酸应用领域或生产现状[J]. 精细与专用化学品,1999(1):13-14.
 [3] 张学才,张德祥. 我国腐植酸资源及其工农业应用[J]. 中国煤炭,2000,26(12):63-68.
 [4] 牛育华,李中谨,郝明德. 腐植酸研究进展[J]. 安徽农业科学,2008,36(11):4638-4639.
 [5] 陈玉玲. 腐植酸对植物生理活动的影响[J]. 植物学通报,2000,17(1):64-72.
 [6] 曾完成,成绍鑫. 腐植酸的主要类别[J]. 腐植酸,2002(2):4-6.
 [7] 白燕,陈淑云,赵红艳. 泥炭腐植酸类液体肥的制备及应用研究[J]. 腐植酸,2002(3):35-36.
 [8] 李克斌. 土壤中腐植酸的提取剂表征[J]. 陕西化工,1998(4):20-23.
 [9] 徐小方,张华. 腐植酸的提取方法研究[J]. 山东煤炭科技,2009(5):110-112.
 [10] 李善祥. 腐植酸产品分析及标准[M]. 北京:化学工业出版社,2007:49-51.
 [11] 傅利明,王芳. 黄精治疗呼吸继发霉菌感染40例[J]. 山东中医杂志,1998,8(1):7-10.
 [12] 张光新,宋中午. 黄精枯草膏加抗痨药治疗肺结核53例观察[J]. 河南预防医学杂志,1997,8(6):349.
 [13] 廖放明,加味. 黄精汤治疗慢性肝炎106例观察[J]. 甘肃中医,2002,15(1):24.
 [14] 庞玉新,赵致,袁媛,等. 黄精的化学成分及药理作用[J]. 山地农业生物学报,2003,22(6):547-550.
 [15] 李时珍. 本草纲目. 中册[M]. 北京:人民卫生出版社,2004:580-582.
 [16] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京:化学工业出版社,2002:902-910.
 [17] 商南县志编纂委员会. 商南县志[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1990.
 [18] 苗明三. 食疗中药药理学[M]. 北京:科学出版社,2001.
 [19] 车勇,王宪冉,夏作理. 黄精的现代研究进展[J]. 社区医学杂志,2004,2(6):34-35.
 [20] 张瑞宇. 天然黄精橙汁复合饮料的研制[J]. 食品科技,2002(12):61-64.
 [21] 戎桦. 冬补黄精祛病延年[J]. 食品与健康,2011(11):32-33.
 [22] 赵广兰. 黄精传说神益寿驻颜奇[J]. 养生月刊,2003,24(9):410.
 [23] 常富业. 黄精抗衰、养生与美容作用浅析[J]. 中华中医药学刊,2011,29(3):593-594.
 [24] 朱艳,孙伟,秦民坚,等. 基于RAPD技术探讨黄精属部分药用植物系统位置[J]. 中国野生植物资源,2011(6):34-37.
 [25] 程守涛,李德福. 黄精资源的利用价值与开发前景[J]. 中国林副特产,2005,78(5):26-27.
 [26] 盛孝邦. 论中药种质资源的开发利用和发展更新[J]. 湖南农业大学学报:社会科学版,2000,1(2):1-3.
 [27] 李隆云,卫莹芳. 中国中药种质资源的保存与评价研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(9):641-645.
 [28] 蒋勇,张存钧,蒋振明. 中药灵芝与黄精抗衰老作用的实验研究[J]. 浙江中西医结合杂志,2002(7):59-60.