

# 秸秆发酵生物腐植酸的制备及其性能测定

邱浩峰, 辅琳瑜, 安鹏, 于建兴, 李加友 (嘉兴学院生物与化学工程学院, 浙江嘉兴 314001)

**摘要** [目的]利用秸秆发酵腐植酸,优化最佳提取工艺。[方法]利用高效秸秆降解菌株进行秸秆发酵,提取腐植酸,研究提取温度、提取时间、NaOH浓度及用量对腐植酸提取量的影响,优化最佳提取工艺,并测定提取得到的腐植酸pH、羧基、交换容量(CEC)等理化性质。[结果]在1g发酵秸秆中加入40mL 0.020g/mL NaOH,于65℃下水浴2.0h,可得到最大腐植酸提取量,为0.176g。腐植酸中总酸性基为0.0019mol/g,总羧基为0.0001mol/g,交换容量(CEC)为0.0039mol/g;  $E_{465}=0.175$ ,  $E_{665}=0.020$ ,  $E_4/E_6=8.735$ ,凝聚限度为0.0064mmol/L。[结论]经过单因素优化,腐植酸提取量增加。腐植酸是一种弱酸性物质,其羧基含量较低,交换容量较小,并具有一定凝聚性。

**关键词** 秸秆;腐植酸;发酵;提取;理化性质检测

**中图分类号** S188+.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)15-094-02

## Preparation and Characteristic Determination of Humic Acid from Fermented Rice Straw

QIU Hao-feng, FU Lin-yu, AN Peng et al (College of Biological Chemical Sciences and Engineering, Jiaying University, Jiaying, Zhejiang 314001)

**Abstract** [Objective] By using straw fermentation of humic acid, the optimum technique conditions for extraction of humic acid were obtained. [Method] Humic acid was extracted from fermented rice straw by effective straw degradation strains. Effects of temperature, duration, dosage and concentration of NaOH on yield of humic acid were studied. The physicochemical properties of the extracted humic acid, such as pH, carboxyl and CEC were determined. [Result] In the water bath of 65℃, 1g straw with 40mL solution of 0.020g/mL NaOH can get the maximum humic acid yield 0.176g. The total acid base of humic acid was 0.0019mol/g, the total carboxyl group was 0.0001mol/g, and the exchange capacity (CEC) was 0.0039mol/g;  $E_{465}=0.175$ ,  $E_{665}=0.02$ ,  $E_4/E_6=8.735$ , condensation limit was 0.0064mmol/L. [Conclusion] Through single factor optimization, the yield of humic acid is increased. Humic acid is a weak acid material, its carboxyl group content is low, the exchange capacity is small, and has a certain cohesion.

**Key words** Straw; Humic acid; Fermentation; Extraction; Physicochemical properties detection

我国是农业大国<sup>[1]</sup>,作物秸秆资源丰富,但大部分秸秆尚未得到有效利用<sup>[2]</sup>。利用农业秸秆通过生物发酵技术生产生化腐植酸,可使秸秆废弃物得到有效利用。生化腐植酸生产原料易得,生产成本低,同时减少了环境污染,再加上其优良的理化性质<sup>[3]</sup>,在畜牧、种植、医药等行业都有举足轻重的地位及广阔的发展前景。目前,国内外多采用从煤炭中提取腐植酸<sup>[4]</sup>,该方法不仅受资源分布限制,且提取方法繁琐、复杂,易造成环境污染等。与煤炭(泥炭)腐植酸相比<sup>[5]</sup>,生化腐植酸的提取方式更清洁、环保<sup>[6]</sup>。生化腐植酸为高效、合理利用植物秸秆开辟了新出路,扩大了腐植酸的原料来源,更新了腐植酸的加工技术,为减少农业资源浪费及改善农业生态环境作出了贡献,而腐植酸应用面广、范围大,有广阔的发展空间<sup>[7]</sup>。笔者利用秸秆发酵生产腐植酸,优化了提取工艺,测定了腐植酸的理化性质,旨在为秸秆废弃物的高效利用提供借鉴。

## 1 材料与方

**1.1 试验材料** 原料:水稻秸秆,水稻秸秆经粉碎机粉碎,过0.5mm筛,密封,室温保存,备用。试剂:0.10mol/L NaOH标准溶液;0.10mol/L盐酸标准溶液;0.10mol/L BaCl<sub>2</sub>溶液;0.25mol/L醋酸钙溶液;95%乙醇,化学纯;0.05mol/L NaHCO<sub>3</sub>溶液;0.1mol/L CaCl<sub>2</sub>溶液。

发酵菌种:木霉1285。主要仪器和设备为MAS II型常

压微波辅助合成反应仪,上海新仪微波化学科技有限公司;电子天平FA1104N,上海精密科学仪器有限公司;冰箱Jin-songBCD-B5,杭州金松优诺电器有限公司;全温空气摇床QYZ-211,上海福玛试验设备有限公司;真空干燥箱DZF-6050,上海精宏试验设备有限公司。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 秸秆发酵。**称取200g水稻秸秆于发酵桶中,加入60mL助腐剂,540mL水和0.2gNH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>,充分搅拌,分装35罐,接种秸秆高效降解菌木霉1285,于28℃恒温箱中发酵培养,使菌种与秸秆充分接触,降解秸秆。培养28d后,对发酵成熟的秸秆进行腐植酸的提取和测定。

**1.2.2 腐植酸的提取工艺。**利用腐植酸的碱溶性对含有腐植酸的秸秆进行水浴碱提,使腐植酸溶于碱液中,然后进行提取分离。分别考察NaOH浓度和用量、提取温度、提取时间对腐植酸提取量的影响。

**1.2.3 腐植酸的性能测定。**腐植酸和有机质含量、腐植酸含氧功能团、pH、交换容量(CEC)、 $E_4/E_6$ 、凝聚限度等参数的测定参照《腐植酸产品分析及标准》<sup>[8]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 腐植酸的提取工艺优化

**2.1.1 标准曲线的绘制。**根据不同浓度腐植酸测得相应吸光度,绘制标准曲线(图1)。从图1可见,腐植酸的吸光度随腐植酸浓度的增加而增大,腐植酸浓度与吸光度(A)复相关系数 $R^2$ 为0.9926,直线回归方程为 $y(g/mL)=1.2832x-0.2640$ ,说明其呈良好的线性关系。

**2.1.2 NaOH浓度对腐植酸提取量的影响。**在10mL

**基金项目** 浙江省科技计划项目(2016C32092);嘉兴市科技计划项目(2015BZ23005);浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划项目(2015R417036)。

**作者简介** 邱浩峰(1994-),男,浙江兰溪人,本科生,专业:生物工程。

**收稿日期** 2016-04-15

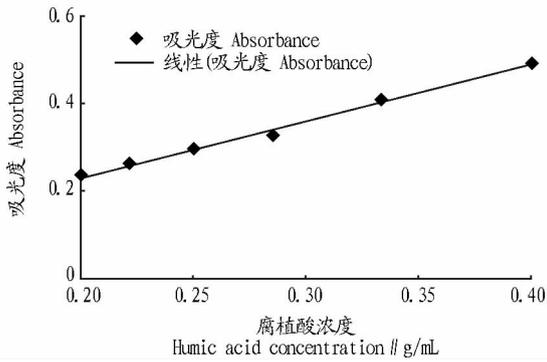


图1 腐植酸的标准曲线

Fig.1 Standard curve of humic acid

NaOH, 温度 70 °C 和提取 1 h 的条件下, 考察 NaOH 浓度对腐植酸提取效果的影响。从图 2 可见, NaOH 浓度为 0.020 g/mL 的提取效果最好, 腐植酸含量达 0.082 g, NaOH 浓度为 0.005 ~ 0.020 g/mL 时, 随着 NaOH 浓度增加腐植酸提取量逐渐增大, 当 NaOH 浓度大于 0.020 g/mL 时, 腐植酸提取量下降。因此, NaOH 的最适宜浓度为 0.020 g/mL。

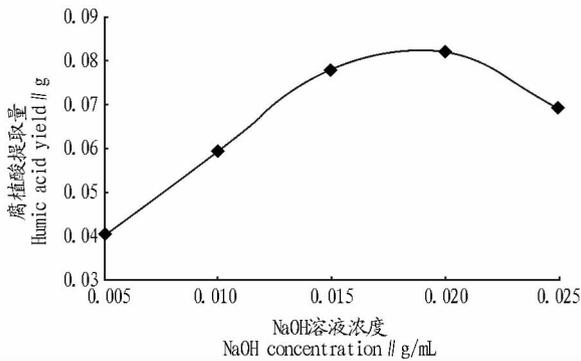


图2 NaOH 浓度对腐植酸提取量的影响

Fig.2 Effects of NaOH concentration on humic acid yield

**2.1.3 NaOH 用量对腐植酸提取量的影响。**从图 3 可见, 当 NaOH 用量为 10 mL 时, 单位体积 NaOH 溶液的提取效率最高, 但腐植酸的提取量最低。随 NaOH 用量的增加, 腐植酸的提取总量增加, 当 NaOH 用量增加到 40 mL 时, 腐植酸提取总量最高, 为 0.176 g。NaOH 用量提升到 50 mL 后, 腐植酸提取量不再增加。

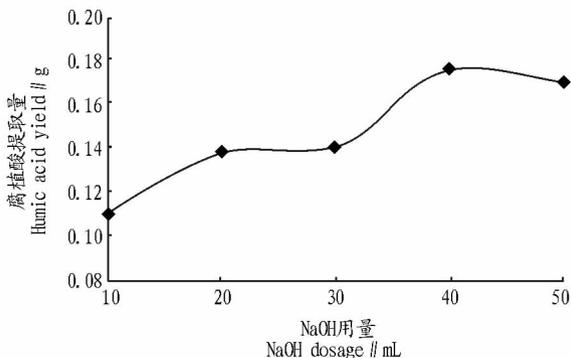


图3 NaOH 用量对提取腐植酸量的影响

Fig.3 Effects of NaOH dosage on humic acid yield

**2.1.4 提取温度对腐植酸提取量的影响。**在 10 mL 0.020 g/mL NaOH, 提取 1 h 的条件下, 考察不同提取温度对腐植酸提取量的影响。从图 4 可见, 提取温度为 65 °C 时, 腐植酸提取量最大, 继续升高温度, 腐植酸提取量反而降低。因此, 65 °C 为腐植酸最适提取温度。

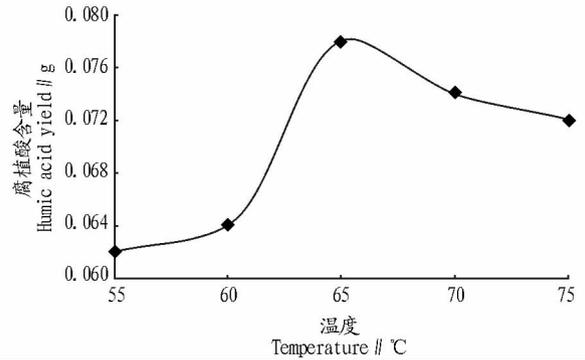


图4 提取温度对腐植酸提取量的影响

Fig.4 Effects of extraction temperature on humic acid yield

**2.1.5 提取时间对腐植酸提取量的影响。**在 10 mL 0.020 g/mL NaOH, 提取温度为 65 °C 的条件下, 考察不同提取时间对腐植酸提取量的影响。从图 5 可见, 随着提取时间的延长, 腐植酸提取量随之增大, 当提取时间为 2.0 h 时, 腐植酸提取量最大, 达 0.080 g 以上, 之后腐植酸提取量反而开始下降, 2.5 h 时降至最低, 这可能是提取时间过长易造成腐植酸分解。

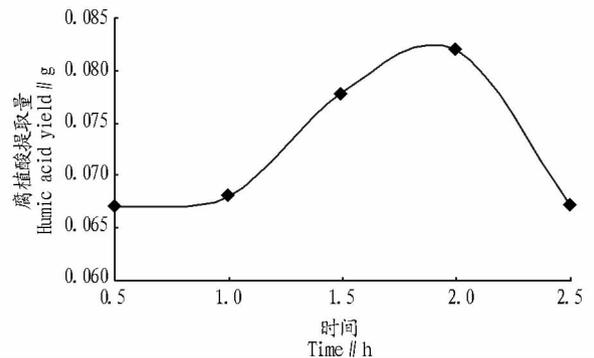


图5 提取时间对腐植酸提取量的影响

Fig.5 Effects of extraction time on humic acid yield

**2.2 腐植酸的性能测定** 经测定, 秸秆发酵制备的腐植酸中总酸性基为 0.001 9 mol/g, 总羧基为 0.000 1 mol/g, 其交换容量 (CEC) 为 0.003 9 mol/g;  $E_{465} = 0.175$ ,  $E_{665} = 0.020$ ,  $E_4/E_6 = 8.735$ ; 凝聚限度为 0.006 4 mmol/L。这说明腐植酸的芳香缩合度较低。

### 3 结论

该研究通过对秸秆发酵腐植酸的单因素提取条件进行优化, 结果表明: 在 1 g 发酵秸秆中加入 40 mL 0.020 g/mL NaOH 溶液在 65 °C 下水浴提取 2.0 h, 可得到最大腐植酸提取量。在最优条件下, 腐植酸提取量为 0.176 g。这说明提取腐植酸的温度、时间以及 NaOH 浓度和用量对腐植酸提取

生活的需求是远远不够的,所以该区旱灾多发是必然的,而且以春旱、夏旱和连旱为主,这就造就了旱灾的季节性变化。

②各种灾害的相互作用。各种自然灾害的发生不是孤立的,他们之间或多或少存在着一些联系,某些灾害的发生可能是另外某些灾害发生的原因,如“旱后必涝”。③地质活动。地质活动是形成包括旱灾在内的自然灾害的重要因素。明代关中地区发生了历史时期伤亡最重、影响最重、经济损失严重的罕见性地震(1556年)。

**2.3.2 旱灾发生的人为因素。**灾害的发生与人类活动息息相关,在一定程度上是人类活动的结果。因此,人为因素是旱灾发生的重要原因之一。具体可从以下几点阐述:①农业活动对环境的破坏。在生产力落后的当时,提高耕垦面积是提高经济的重要手段,但是过度的垦殖加之不完善的技术不可避免地会出现弊大于利的后果,造成生态平衡的破坏。如1638~1640年出现了“赤地千里,饿殍遍地,卖儿鬻女”的特大旱灾。②破坏森林,破坏生态平衡。由于人口的增加,土地不断开发,大量的森林被破坏,地表植被遭到严重破坏,这是造成水土流失和荒漠化的原因,对农业的生产也有很大的危害。关中地区以秦岭北坡为界,到明代后期,终南山的砍伐范围不断增加,致使关中地区的生态环境严重失衡。③时局的动荡因素。战争最终的结果是百姓的痛苦。尸体的不及时处理会导致病毒滋生,瘟疫盛行。

### 3 结论与讨论

通过对明代关中地区干旱灾害资料的收集统计分析,对明代关中地区干旱灾害的规律、特征以及时空分布有以下几点认识:①明代关中地区共发生干旱灾害145次,平均每1.91 a发生1次。该时期关中地区发生灾害频繁,是灾害高发期。②明代中后期关中地区发生的特大灾害、连旱稍多,严重影响民计民生,对该时期关中地区的农业经济影响甚大。③旱灾的区域性相对明显,关中东南部发生次数多于西北部;有阶段性以及季节性。④旱灾趋势拟合中,一元线性呈现增加趋势,二阶多项式从增加趋于稳定。⑤在明代早期

的1368~1388年,主要表现为5~10 a的周期;1398~1638年,10~20 a的周期较显著;1428~1528年,主要表现为30~35 a的周期振荡特征;1528~1608年,主要表现为40~45 a的周期振荡特征。由此可见,旱灾的变化特征较显著。

一般来说,干旱灾害是与农业生产联系密切。从农业生产的角度来讲,在一定时期内,农作物吸收的水分不能满足正常的需要,危害了农作物的正常发育,甚至使之凋萎、枯死,造成农作物减产甚至绝收,即构成了干旱灾害<sup>[3]</sup>,属于气象灾害。相比其他的灾害,旱灾持续的时间长、影响的范围严重,而且对农业生产造成直接的很严重的损失,并伴随着人员伤亡。赵景波等<sup>[5]</sup>在研究旱灾趋势时采用最小二乘法进行拟合;马莉等<sup>[6]</sup>在研究旱灾时间变化规律时运用了R/S分析法。对于旱灾周期的研究采取小波分析。前人采用的方法对旱灾研究具有重要的借鉴意义,但是对于不同地方发生灾害的比较研究甚少,只是对整体进行研究,所以得到的经验都是整体的。该研究对明代关中地区5市34县发生旱灾的程度进行比较,得出具体的地方发生灾害的情况;对旱灾趋势运用一元线性拟合和二阶多项式拟合,比较在2种情况下旱灾趋势拟合程度。将该研究结果与前人研究结论相结合,可使人们从整体和局部认知灾害,从而为预测和防灾减灾提供可靠依据。该研究数据多出自史料,提高数据的全面性是今后研究的重要突破。另外,该研究因素单一,结合降水等因素对旱灾进行分析是今后研究的重点。

### 参考文献

- [1] 朱士光. 关于当前加强历史地理学理论建设问题的思考[J]. 陕西师范大学学报(哲学社会科学版), 1999, 28(1): 90-94.
- [2] 赵景波, 李艳芳, 董雯, 等. 关中地区清代干旱灾害研究[J]. 干旱区研究, 2008, 25(6): 871-876.
- [3] 袁林. 西北灾荒史[M]. 兰州: 甘肃人民出版社, 1994: 32-73.
- [4] 赵景波, 郁耀刚, 王长燕. 1850-1949年关中地区干旱灾害研究[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2006, 34(4): 99-103.
- [5] 赵景波, 陈颖, 周旗. 延安地区明代、清代干旱灾害与气候变化对比研究[J]. 自然灾害学报, 2011, 20(5): 82-89.
- [6] 马莉, 赵景波. 明代陕南地区旱灾时空特征分析[J]. 干旱区资源与环境, 2009, 23(4): 115-119.

(上接第95页)

量有一定影响。性能检测结果表明,腐植酸是一种弱酸性物质,其羧基含量较低,交换容量较小,具有一定凝聚性。因此,秸秆发酵生产腐植酸作为一种新的生产方式不仅解决了秸秆资源利用化问题,还解决了从有限资源煤炭中提取腐植酸的资源限制问题。随着研究的深入,发酵秸秆制备腐植酸类物质必将有更加广阔的应用前景。

### 参考文献

- [1] 赵海燕, 何忠伟. 中国大国农业国际竞争力的演变及对策:以蔬菜产业为例[J]. 国际贸易问题, 2013(7): 3-14.

- [2] 彭靖. 对我国农业废弃物资源化利用的思考[J]. 生态环境学报, 2009, 18(2): 794-798.
- [3] 侯勇. 秸秆发酵制取生化腐植酸过程中的理化特性及微生物学特性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2013: 5-11.
- [4] 李善祥. 我国煤炭腐植酸资源及其利用[J]. 腐植酸, 2002(3): 84-90.
- [5] 焦元刚, 朱红, 邹静, 等. 风化煤中黄腐酸的提取研究[J]. 化工时刊, 2007(1): 30-32.
- [6] 贾爱萍, 赵冰, 廖宗文. 生化腐植酸的肥效及作用机理研究[J]. 腐植酸, 2005(2): 15-17.
- [7] 李威, 邹立壮, 朱书全, 等. 近十年腐植酸应用研究综述[J]. 腐植酸, 2006(3): 3-8.
- [8] 李善祥. 腐植酸产品分析及标准[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 78, 82, 95-97.