

发酵糠醛渣中生化腐植酸的提取工艺

张院萍, 崔刚, 张国兰, 豆亚妮 (宁夏共享生物化工有限公司, 宁夏银川 750200)

摘要 [目的]考察发酵糠醛渣中生化腐植酸的最佳工艺条件。[方法]以发酵糠醛渣为原料,采用碱提酸析法提取生化腐植酸(BHA)。通过4因素4水平正交试验,考察固液比(发酵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提取率的影响,再利用盐酸调节提取液的pH,使生化腐植酸沉淀析出,固液分离烘干后得到成品生化腐植酸。[结果]最佳的腐植酸提取工艺条件为碱提步骤固液比1:8,碱液浓度8%,提取时间为2.5 h,提取温度为70℃,酸析步骤pH为2.5。得到腐植酸含量为76%的固体生化腐植酸成品,其提取率为49%。[结论]该研究可为糠醛渣废弃物的开发提供科学依据。

关键词 生化腐植酸;碱提酸析法;正交实验;发酵糠醛渣

中图分类号 TQ920.6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)21-086-02

Extraction Technology of Biological Humic Acid from Fermented Furfural Residue

ZHANG Yuan-ping, CUI Gang, ZHANG Guo-lan et al (Ningxia Kocel Biochemistry Co., Ltd., Yinchuan, Ningxia 750200)

Abstract [Objective] To investigate the optimal extraction technology of biochemical humic acids (BHAs) from fermented furfural residue. [Method] With fermented furfural residue as the raw materials, BHAs was extracted by alkali-dissolution and acidification method. Four-factor and four-level orthogonal test was used to investigate the effects of solid-liquid ratio (mass ratio of fermented furfural residue to water), alkali concentration, extraction temperature and extraction time on the extraction rate of BHAs. Then, pH value of extracting solution was regulated by hydrochloric acid, in order to precipitate BHAs from its extracts. Through the solid-liquid separation and drying, solid BHAs were obtained. Results showed that the optimal extracting conditions were as follows: 1:8 solid-liquid ratio, 8% alkali concentration, 70℃ extracting temperature, 2.5 h extracting time, and pH 2.5 during alkali dissolution. Under these conditions, solid BHAs containing 76% humic acid content was obtained, and its extraction rate was 49%. [Conclusion] This research provides scientific basis for the development of fermented furfural residue.

Key words Biochemical humic acid; Alkali-dissolution and acidification; Orthogonal test; Fermented furfural residue

腐植酸是自然界中广泛存在的大分子有机物质,基本结构是芳环和脂环,环上连有羧基、羟基、羰基、醌基、甲氧基等官能团^[1]。作为有机物原料,被广泛应用于农、林、牧、石油、化工、建材、医药、卫生、环保等领域。尤其是在农业方面,与氮、磷、钾等元素结合制成的腐植酸类肥料具有增强肥效、改良土壤、刺激作物生长、提高作物抗病力、改善农产品质量等功能,并且越来越受重视^[2]。腐植酸按照其来源可分为天然腐植酸和人造腐植酸。天然腐植酸一般都是从泥炭、风化煤中提取得到^[3-6]。生化腐植酸(Biotechnology Humic Acid, BHA)是以工农业有机废物为原料,通过特殊的生化工艺生产富含黄腐酸的产品,可利用的工农业废物主要有农作物秸秆、禽畜粪便、食品加工废液、造纸黑液、园林废弃物等。因此,BHA是一种“人造腐植酸”,是腐植酸的新来源。笔者以糠醛生产排放的废弃物糠醛渣为原料,经过微生物好氧发酵,得到含BHA的发酵糠醛渣^[7-9],并研究了从发酵糠醛渣中分离提纯BHA的最优工艺,旨在为废弃糠醛的合理利用提供借鉴。

1 材料与方

1.1 试验材料 供试原料为发酵糠醛渣(自产)、氢氧化钾(分析纯)、水、盐酸(分析纯)。发酵糠醛渣技术指标:外观颜色呈浅褐色,松软无黏块,无恶臭;腐植酸含量大于20%,pH 5.5~7.0,含水率小于35%。试验所用发酵糠醛渣检测指标为腐植酸含量23.92%,pH 6.81,含水率25.97%。

供试仪器为DF-101S集热式恒温加热水浴锅, JJ-1型

增力电动搅拌器, DT5-6A低速台式离心机, 恒温振荡水浴锅, 循环水式多用真空泵, 布氏漏斗, 电子秤(0.01 g), 万分天平, 玻璃烧杯(1 000, 250 mL), 水银温度计(0~200℃)等。

1.2 试验设计 碱提试验中影响生化腐植酸提取的因素有固液比(发酵糠醛渣与水的质量比)、碱液(KOH)浓度、提取温度、提取时间。根据影响因素设计了4因素4水平的正交试验,研究影响糠醛渣中生化腐植酸提取的最佳条件。试验设计见表1。

表1 正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels design of orthogonal test

水平 Level	因素 Factor			
	固液比 Solid-liquid ratio (A)	碱液浓度 Alkali concentration (B) // %	提取温度 Extraction temperature (C) // °C	提取时间 Extraction time (D) // h
1	1:6	2	60	1.0
2	1:7	4	70	1.5
3	1:8	6	80	2.0
4	1:9	8	90	2.5

酸析(固体生化腐植酸的制备)中影响固体腐植酸提取率的主要因素为调酸pH和提取时间。试验设计pH为5.5、4.5、3.5、2.5、1.5,研究不同pH对固体生化腐植酸沉淀量和提取率的影响。

1.3 生化腐植酸的提取方法

1.3.1 碱提(生化腐植酸提取液的制备) 将腐熟的糠醛渣粉碎过1 mm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1 000 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,用离心机对烧杯内物料进行离心分离

(转速 3 000 r/min, 离心 10 min)。收集含生化腐植酸的黑褐色提取液。将生化腐植酸提取液准确称量, 检测腐植酸提取液中生化腐植酸含量, 计算碱提步骤中生化腐植酸提取率(ω_1)。

$$\omega_1 = \frac{m_2 \times n_2}{m_1 \times n_1} \times 100\%$$

式中, ω_1 为生化腐植酸提取率, %; m_1 为发酵糠醛渣质量, g; n_1 为发酵糠醛渣中 BHA 含量, %; m_2 为生化腐植酸提取液质量, g; n_2 为生化腐植酸提取液中 BHA 含量, %。

1.3.2 酸析(固体生化腐植酸的制备)。将碱提制备得到的生化腐植酸提取液用盐酸调节为酸性, 混合物料分层, 容器底部析出棕黄色沉淀, 静置过夜后用布氏漏斗抽滤, 收集沉淀物, 抽滤过程中用蒸馏水洗涤 3~4 次, 将所得沉淀物置于 105 °C 烘干至恒重得到固体生化腐植酸成品, 称重。检测成品中生化腐植酸含量, 并按公式计算固体腐植酸的提取率(ω_2)。

$$\omega_2 = \frac{m_3 \times n_3}{m_1 \times n_1} \times 100\%$$

式中, ω_2 为固体生化腐植酸提取率, %; m_1 为发酵糠醛渣质量, g; n_1 为发酵糠醛渣中 BHA 含量, %; m_3 为固体腐植酸成品质量, g; n_3 为固体腐植酸成品中 BHA 含量, %。

1.4 测定项目与方法 按照《GB/T 11957—2001 煤中腐植酸产率测定方法》测定发酵糠醛渣及腐植酸成品中腐植酸含量, 按照《NY/T 1971—2010 水溶肥料 腐植酸含量的测定》测定生化腐植酸提取液中腐植酸含量。腐植酸的含碳比(R_c)以 0.62 计算。

2 结果与分析

2.1 正交试验结果 由表 2 可知, 利用腐熟糠醛渣制备生化腐植酸液, 各因素对生化腐植酸提取率的影响从大到小依次为固液比、碱液浓度、提取时间、提取温度。最佳工艺为固液比 1:8, 碱液浓度 8%, 提取时间 2.5 h, 提取温度 70 °C。

表 2 4 因素 4 水平正交设计试验结果

Table 2 Results of orthogonal test with four factors and four levels

试验序号 Test code	因素 Factor				腐植酸提取液质量 Weight of humic acid extracting solution //g	生化腐植酸含量 Content of biochemical humic acid//%	腐植酸提取率 Extraction rate of humic acid (ω_1)//%
	A	B	C	D			
1	1:6	2	60	1.0	354.9	3.89	57.72
2	1:7	2	70	1.5	446.8	3.39	63.32
3	1:8	2	80	2.0	542.3	3.27	74.14
4	1:9	2	90	2.5	630.4	2.71	71.42
5	1:6	4	70	2.0	362.2	4.08	61.80
6	1:7	4	60	2.5	444.5	4.03	74.89
7	1:8	4	90	1.0	544.5	3.25	73.98
8	1:9	4	80	1.5	642.4	2.89	77.61
9	1:6	6	80	2.5	379.1	4.46	70.69
10	1:7	6	90	2.0	468.4	3.64	71.28
11	1:8	6	60	1.5	543.4	3.36	75.07
12	1:9	6	70	1.0	623.1	3.11	81.01
13	1:6	8	90	1.5	357.6	4.21	62.94
14	1:7	8	80	1.0	411.8	3.55	61.11
15	1:8	8	70	2.5	555.9	3.83	89.01
16	1:9	8	60	2.0	641.5	3.04	81.53
K_1	63.28	66.65	72.30	69.96			
K_2	69.15	72.07	73.79	69.74			
K_3	78.05	74.51	72.39	72.18			
K_4	77.89	75.15	69.90	76.50			
R	14.76	8.50	3.88	6.77			

2.2 酸析试验结果 对由正交试验得到的高腐植酸提取率最优组合进行提取, 得到 1 000 g 腐植酸提取液, 搅拌均匀后分成 5 份, 每份 200 g, 置于 250 mL 玻璃烧杯中进行酸析试验, 结果见表 3。

由表 3 可知, 利用盐酸溶液对生化腐植酸液进行调酸处理, 随着 pH 的降低生化腐植酸重量增大。但酸度过大, 会严重腐蚀设备, 因此综合考虑, pH 为 2.5 时最佳。

2.3 最优提取条件验证 由表 4 可知, 生化腐植酸含量能够达到 76.62%~76.98%, 生化腐植酸的提取率为 49.24%~49.97%。

表 3 pH 对生化腐植酸重量的影响

Table 3 Effects of pH on the weight of BHAs

试验序号 Test code	调酸 pH Acid adjustment pH	调酸实际 pH Actual pH	目测生化腐植酸沉淀体积 Observed precipitation volume of BHAs//mL	生化腐植酸重量 Weight of BHAs//g
1	5.50	5.41	150	4.05
2	4.50	4.43	160	4.37
3	3.50	3.47	170	4.61
4	2.50	2.52	195	5.29
5	1.50	1.47	210	5.71

止咳祛痰、清热平喘,相关研究也表明该疗效明显。而痰火咳嗽、哮喘是生活中常见疾病,所以研究龙俐叶,从中提取有效的化学成分,对其进行合成,对人类的健康有重大意义。由所查文献显示,大戟科植物大多具有抗肿瘤作用,而龙俐叶是否也具有抗肿瘤作用尚未知,以及其他方面的药效作用还需要进一步深入研究。目前尚未见有文献对龙俐叶化学成分进行具体系统的研究,因此,还需要深入地研究和开发其药效、机制、确切的活性成分,以期为其药用价值及其临床用药的安全、有效提供科学依据。

参考文献

- [1] 萧步丹. 岭南采药录[M]. 广州:广东科技出版社,1932.
- [2] 广州部队后勤部卫生部. 常用中草药手册[M]. 北京:人民卫生出版社,1969.
- [3] 广西区中医药研究所. 广西药用植物名录[M]. 南宁:广西人民出版社,1986.
- [4] 谢宗万. 全国中草药汇编[G]. 北京:人民卫生出版社,1975:9.
- [5] 广西科学院广西植物研究所. 广西植物志:第一卷[M]. 南宁:广西科学技术出版社,1991:237.
- [6] 广西壮族自治区革命委员会卫生局. 广西本草选编[M]. 南宁:广西人民出版社,1974:5.
- [7] 南宁市中医药研究所. 南宁市药物志[M]. 南宁:广西人民出版社,1959.
- [8] 刘蓉,丘琴,甄汉深,等. 龙俐叶的显微结构研究[J]. 广西中医药大学学报,2009,12(1):49-51.
- [9] 吴怀恩,刘蓉,姜建国,等. 龙俐叶根的显微鉴别研究[J]. 中国民族民间医药,2008(11):4-5.

- [10] 张玲. 龙俐叶石油醚部位化学成分及其质量分析初步研究[D]. 南宁:广西中医药大学,2009.
- [11] 王莹. 广西产龙俐叶根质量分析与抗炎药理作用研究[D]. 南宁:广西中医药大学,2009.
- [12] 何鹏,王国才,李药兰,等. 高效液相色谱法测定龙俐叶中黄酮-3-O-胆甾二糖苷的含量[J]. 中草药,2014(8):811-813.
- [13] 姜建国,刘蓉,杨永瑜,等. 龙俐叶化学鉴别的初步研究[J]. 广西中医学院学报,2008,11(3):84-85.
- [14] 丘琴,王莹,甄汉深,等. 龙俐叶根化学成分的初步研究[J]. 中国民族民间医药,2013,22(5):31-32.
- [15] 刘红丽. 龙俐叶和桉桉的化学成分及桉桉指纹图谱的研究[D]. 广州:暨南大学,2012.
- [16] 沈小静. 龙俐叶止咳药理作用和化学成分研究[D]. 郑州:河南中医药大学,2013.
- [17] 汪小根,邱蔚芬. 龙俐叶挥发油的气-质联用分析[J]. 食品与药品,2007(5):19-20.
- [18] 黄泰康. 常用中药成分与药理手册[M]. 北京:中国医药科技出版社,1994:1266.
- [19] 丁聪,贺勤,柳贤福. 龙俐叶水提物的止咳祛痰作用研究[J]. 华西药学杂志,2015(1):49-50.
- [20] 丘琴,甄汉深,王莹,等. 龙俐叶根急性毒性和抗炎作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):286-288.
- [21] 甄汉深,刘蓉,丘琴,等. 龙俐叶抗炎镇痛作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(9):270-273.
- [22] 黄燕,谭建宁,马雯芳. 龙俐叶提取物体外抑菌活性初步研究[J]. 大众科技,2014(2):68-70.
- [23] 林慧,林斌. 龙俐叶抗过敏作用的实验研究[J]. 海峡药学,2011,23(4):23-24.
- [24] 徐燕萍,郑民实. ELISA 技术检测中草药对 HBeAg 的作用[J]. 南昌大学学报(医学版),1991(3):6-9.

(上接第 87 页)

表 4 最优提取条件重复试验结果

Table 4 Test results of the optimal extraction conditions

项目 Item	腐植酸提取液质量 Wight of BHAs extracting solution g	提取液腐植酸含量 BHAs content in extracting solution // %	碱提步骤提取率 ω_1 Extraction rate in alkali-extraction step // %	腐植酸成品重量 Weight of BHAs finished product g	成品腐植酸含量 Content of BHAs finished product %	腐植酸提取率 ω_2 Extraction rate of BHAs %
平行试验 1 Parallel test 1	558.4	3.79	88.48	15.3	76.98	49.24
平行试验 2 Parallel test 2	554.6	3.81	89.46	15.6	76.62	49.97

3 结论

以糠醛生产排放的废弃物糠醛渣为原料,经过微生物好氧发酵腐熟得到发酵糠醛渣,采用碱提酸析法从中提取生化腐植酸(BHA)。设计了 4 因素 4 水平正交试验,考察固液比(发酵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提取率的影响,再通过加酸调节 pH,使腐植酸提取液中的腐植酸凝胶析出,固液分离烘干后得到成品生化腐植酸。结果表明,腐植酸最佳提取工艺条件:碱提步骤固液比 1:8,碱液浓度 8%,提取时间 2.5 h,提取温度 70℃,酸析步骤 pH 2.5。得到腐植酸含量为 76% 的固体生化腐植酸成品,其提取率为 49%。

参考文献

- [1] 曾完成,成绍鑫. 腐植酸的主要类别[J]. 腐植酸,2002(2):4-6.

- [2] 李威,邹立壮,朱书全. 近十年腐植酸应用研究综述[J]. 腐植酸,2006,30(3):3-8.
- [3] 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.
- [4] 牛育华,李仲谨,郝明德. 腐植酸研究进展[J]. 安徽农业科学,2008,36(11):4638-4639.
- [5] 刘光灿. 陕西某地泥炭腐植酸提取工艺的实验研究[J]. 广州化学,2011,39(4):83-85.
- [6] 高丽娟,王世强,赵雪飞,等. 宁夏石嘴山褐煤腐植酸的提取工艺[J]. 湖北农业科技,2012,51(22):5168-5170.
- [7] 张院萍,张晓忠. 发酵糠醛渣中生化腐植酸的提取与表征[J]. 安徽农业科学,2014,42(28):9752-9754.
- [8] 王娟娟,赵永斌,张茜. 含生化腐植酸水溶肥料在茄子上的应用效果[J]. 安徽农业科学,2013,41(22):9261-9262.
- [9] 豆亚妮,张院萍,崔刚. 利用糠醛渣制备含腐植酸螯合态水溶肥料的技术[J]. 安徽农业科学,2015,43(29):41-43.