

管 慧,白洪志,王 惠,等. 利用农业废弃物对青霉菌进行固态发酵生产纤维素酶[J]. 江苏农业科学,2018,46(5):285-289.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.05.074

利用农业废弃物对青霉菌进行固态发酵生产纤维素酶

管 慧¹,白洪志¹,王 惠²,韩晓日¹,刘 宁¹,黄玉茜¹,韩 梅¹,杨劲峰¹

(1. 沈阳农业大学土地与环境学院,辽宁沈阳 110866; 2. 沈阳农业大学生物科技学院,辽宁沈阳 110866)

摘要:筛选出 1 株产纤维素酶菌株并进行鉴定,为微生物肥料生产筛选菌种资源。采用刚果红染色、综纤维素、滤纸、微晶纤维素培养基等方法,从土壤中分离出 1 株产纤维素酶菌株 ZH1,经形态学分析、18S rDNA 分子进化树分析,鉴定菌株为赭绿青霉(*Penicillium ochrochloron*);采用单因素试验对产纤维素酶的青霉菌菌株进行固体发酵条件优化。结果表明,当温度为 30 ℃、发酵液初始 pH 值为 4、料水体积比为 1.0:3.0、接种量为 0.5 mL 及氮源为花生饼粉时,滤纸酶(FPase)在发酵 3 d 时有最大的产酶活性;通过优化试验,赭绿青霉达到了较高的产纤维素酶能力,为纤维素酶进一步工业化生产奠定了一定的基础。

关键词:鉴定;固体发酵;纤维素酶;青霉菌;农业废弃物

中图分类号: S188+.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)05-0285-04

木质纤维素是所有植物的基石,并普遍存在于地球的大部分地区,木质纤维素的化学组成使其成为巨大的生物技术价值的基材。纤维素、半纤维素和木质素的基本化学结构对木质纤维素的构架能产生深远的影响^[1]。利用生物质过剩、农业废弃物和农产品加工业废渣生产新能源的概念,生物发酵得到了越来越多的关注。因为随着石化燃料由短缺变枯竭,能源是人类面临的共同问题。寻找新的能量来源关系到经济的可持续发展乃至人类的生存^[2]。

固态发酵作为纤维素生物转化的手段,在过去的几十年中,利用固态发酵技术生产大量化学品和酶有逐渐增加的趋势^[3]。固态发酵和液态发酵之间的直接比较是非常困难的,主要由于这 2 种技术使用了不同的微生物浓度,但固态发酵中的微生物具有更高的代谢能力,因为它们接近自然的环境下增殖。这种方法能通过比液态发酵能源需求少、发酵罐体积小、污染物排放少等特点来产生更稳定的产品^[4]。

微生物所产生的纤维素酶系是一个多组分酶系,通常将纤维素分为内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶^[5]。在工业生产过程中所用的纤维素酶是由真菌分泌的胞外酶。所述酶可以有效地降解木质纤维素底物的纤维素链,以产生更小的糖单元如纤维二糖和葡萄糖^[6]。纤维素酶在食品、酿造行业、农副产品、深加工饲料、医药、环境保护和化工等领域有非常广阔的应用前景和应用潜力。

1 材料和方法

1.1 筛选培养基

1.1.1 富集培养基 将粉碎的秸秆装入 150 mL 三角瓶中,每

收稿日期:2016-09-28

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2013BAD08B04);国家现代农业产业技术体系专项(编号:CARS-14 土壤肥料)。

作者简介:管 慧(1990—),女,吉林辽源人,硕士,主要从事纤维素降解菌的研究。E-mail:1187250716@qq.com。

通信作者:白洪志,博士,副教授,主要从事土壤微生物、植物营养等研究。E-mail:baihongzhi2003@sina.com。

瓶 5 g,加 7.5 mL 无机盐溶液,封口膜封口,121 ℃ 灭菌 1.5 h。

无机盐溶液: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3.000 0 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.005 0 g、 KH_2PO_4 1.000 0 g、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.001 6 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.500 0 g、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001 7 g、 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.114 0 g、 CoCl_2 0.002 0 g、 NaCl 0.100 0 g、蒸馏水 1.000 0 L。
1.1.2 综纤维素培养基 次氯酸钠脱除木质素法:称取一定量的原料,加入 pH 值为 4.2~4.7 的次氯酸钠溶液,在 75 ℃ 下处理 2 h,然后用清水洗至中性,烘干得到综纤维素。

加浓的 Mandels 盐溶液: KH_2PO_4 3.0 g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.0 g、尿素 0.5 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g、 CaCl_2 0.5 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 mg、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 2.5 mg、 ZnSO_4 2.0 mg、 CoCl 3.0 mg,pH 值约 5.5。

1.1.3 滤纸条培养基 在加浓的 Mandels 盐溶液中添加 20 g 琼脂,倒好平板后铺 1 片滤纸片在培养基上。

滤纸处理:使用前将其用 1% 醋酸溶液浸泡 24 h 以除去淀粉,用碘检验,再用 2% NaHCO_3 溶液洗至中性晒干。

1.1.4 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)培养基 CMC-Na 15.0 g、 NH_4NO_3 1.0 g、酵母粉 1.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g、 KH_2PO_4 1.0 g、 ddH_2O 1.0 L、琼脂 20.0 g,pH 值自然。

1.1.5 微晶纤维素培养基 下层:在加浓的 Mandels 营养盐溶液中加入 2% 琼脂。上层:在加浓的 Mandels 盐溶液中加入 1.5% 球磨微晶纤维素粉(微晶纤维素用 2 mm 玻璃珠 200 r/min 振荡 24 h)、2% 琼脂。于 9 cm 平皿中倒入下层培养基约 15 mL,待凝固后加入上层培养基,使其成为均匀的薄层备用。

1.1.6 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基 马铃薯 200 g 或葡萄糖 20 g、琼脂 15~20 g、水 1 L,pH 值自然。

马铃薯去皮,切成块,煮沸 30 min,然后用纱布过滤,再加糖及琼脂,溶化后补足水至 1 L,121 ℃ 灭菌 30 min。

1.1.7 复筛培养基 稻草粉 2.30%、蛋白胨 0.30%、硫酸铵 0.20%、酵母膏 0.05%、 KH_2PO_4 0.40%、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.03%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03%。

试验所有化学品和试剂均为分析纯。

1.2 菌种的分离和纯化

土壤样品采自长白山自然保护区和柴垛附近。把样品装到无菌采样袋中,标记并保存在 4 ℃ 冰箱中,做进一步的分析工作。将土壤样品在富集培养基中 28 ℃ 培养 7 d,并连续转接 3 次,1 式 3 份^[7]。用 PDA 培养基进行分离菌株,把所有分离的菌株接种到 PDA 斜面上后,在 4 ℃ 下保存。然后,用综纤维培养基^[8]、滤纸条培养基^[9]、CMC - Na 培养基^[10] 和微晶纤维素培养基^[11] 的方法对分离的菌株进行筛选。

为了使透明水解圈清晰可见,笔者所在实验室采用双板法,先在培养皿中铺上 1 层固体透明的基本琼脂培养基,待其凝固后再铺上 1 层薄薄的含综纤维素的培养基,既保证了培养基的筛选选择性,又不至于太难筛选到需要的菌株。将分离得到的单菌落接种于 CMC - Na 平板上,28 ℃ 培养 4 d 后取出,倒入适量配制好的 1 mg/mL 刚果红溶液,放置 30 min 后,用蒸馏水温和漂洗,最后倒入适量 1 mol/L NaCl 溶液,放置 30 min。以透明圈直径和菌落直径的比值为标准,初步判断各个菌落产纤维素酶的能力。

1.3 分子鉴定分离的真菌

形态结构及生理生化特征的鉴定,采用点种法在 PDA 培养基上观察菌落形态。ITS 序列鉴定:以提取所述菌株的基因组总 DNA 为底物,以 ITS1 (5' - TCCGTAGGTGAACCT GCGG - 3') 为正向引物、ITS4 (5' - TCCTCCGCTTATTGATATG C - 3') 为反向引物对菌株进行 18S rDNA 扩增。PCR 在 *Taq* 酶说明书[天根生化科技(北京)有限公司]的标准条件下进行。将该 PCR 产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,测得序列与 NCBI 数据库进行比对分析,选取同源性较高的模式菌株进行系统发育分析,借助 MEGA 6.06 软件构建系统发育树^[12]。

1.4 酶活性的测定

对固体发酵培养基进行酶活性测定。向培养基中加入一定体积的蒸馏水,在 30 ℃、150 r/min 条件下振荡浸提 1 h,滤纸过滤,10 000 r/min 离心 15 min。将澄清的上清液用作粗酶液^[13]。

羧甲基纤维素酶(carboxymethyl cellulase,简称 CMCase)和 β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase,简称 β -Gase)活性的测定:在试管中加入 1 mL 底物[1% CMC - Na 或 0.5% 水杨素柠檬酸缓冲溶液(pH 值 4.8)]及 1 mL 粗酶液,50 ℃ 保温 30 min,取出,加入 2 mL DNS 试剂,煮沸 5 min,冷却后稀释 5

倍,摇匀,530 nm 处测定吸光度,并从标准曲线上查出相应的葡萄糖含量折算成酶活性单位(U/g)。

滤纸酶(filter paper lyase,简称 FPase)活性测定:于试管中加入 1.0 mL 柠檬酸缓冲液(pH 值 4.8),Whatman No. 1 滤纸片[1 cm × 6 cm, (50 ± 1) mg] 1 片,以及 1 mL 粗酶液,50 ℃ 保温 60 min,取出,加入 2 mL DNS 试剂,其他步骤同 CMC 酶活性测定。

酶活性单位定义:在纤维素酶最适反应条件下,1 min 水解纤维素底物产生 1 μ g 还原糖的量定义为 1 个酶活性单位,用 U/g 表示。

1.5 生产纤维素酶工艺参数的优化

对各种工艺参数,如发酵时间(24 ~ 168 h)、培养基初始 pH 值(3 ~ 8)、培养温度(20 ~ 45 ℃)、接种量(0.5 ~ 3.0 mL/3 g 底物)、料水体积比(1.0 : 1.0 ~ 1.0 : 3.5)、底物粒径、不同氮源(硝酸钠、硫酸铵、硝酸钾、花生饼粉、蛋白胨、酵母膏)等^[14]进行优化。

2 结果与分析

2.1 菌株的鉴定

大多数真菌一直使用传统的分类学和肉眼观察进行鉴定^[15]。从土壤中分离出 1 株产纤维素酶菌株,命名为 ZH1,将该菌株在 PDA 培养基中 28 ℃ 培养 7 d 进行形态的鉴定。该菌株的营养体为绿色的菌丝体,菌丝各细胞之间有横隔膜,分生孢子梗顶端呈特殊的对称或不对称的扫帚状。这些结果表明,这种生产纤维素酶的真菌是青霉菌。由于 18S rDNA 序列被广泛使用,笔者所在实验室对这种纤维素酶生产菌株的 18S rDNA 基因进行测序^[16]。该菌株的 18S rDNA 基因序列为 551 bp,与 NCBI 数据库进行比对,由图 1 可知,ITS 序列与 ZH1 相似性最高的菌株均属于青霉菌属(*Penicillium*),该菌株与 *Penicillium ochrochloron* strain IHB F 2914 的 18S rDNA 序列有较高的同源性。因此,鉴定菌株为赭绿青霉(*Penicillium ochrochloron*)。

2.2 时间对菌株 ZH1 生产纤维素酶的影响

由图 2 可知,在 72 h 有最大的滤纸酶(FPase)活性,在 48 h 时有最大的 CMCase、 β -Gase 活性。Qaisar 等认为,细胞生长能增加抑制酶的生产^[17]。因此,生产纤维素酶的最佳培养时间为 3 d,进一步培养会增加菌种培育期导致酶活性降低。酶活性的降低可能是由 pH 值的变化或在发酵过程中细

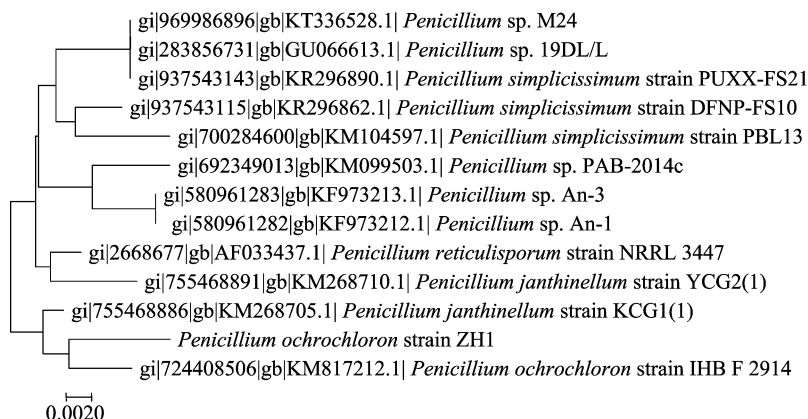


图1 分离菌株的 18S rDNA 基因序列进化树

胞代谢导致酶的变性所致^[18]。

2.3 初始 pH 值对菌株 ZH1 生产纤维素酶的影响

发酵培养基的 pH 值在发酵过程中对微生物生长产酶有显著的影响,每种微生物的生长均具有最佳的 pH 值范围。丝状真菌在 pH 值为 3~8 的范围内能够良好地生长,极端 pH 值(过高或过低)可能会导致微生物死亡^[19]。由图 3 可知,在培养基初始 pH 值为 4 时有最大的 FPase 活性和 β -Gase 活性,CMCase 活性最大时 pH 值为 5。这项研究结果与 Irfan 等

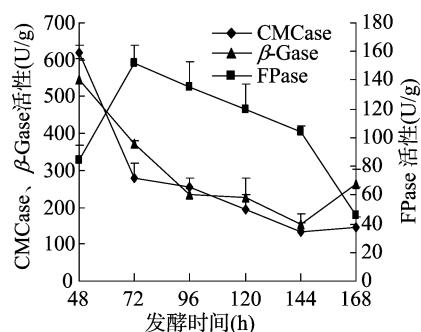


图2 不同发酵时间对生产纤维素酶的影响

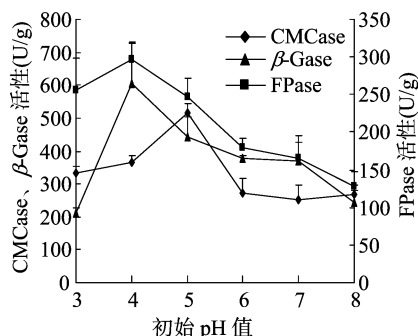


图3 初始 pH 值对纤维素酶生产的影响

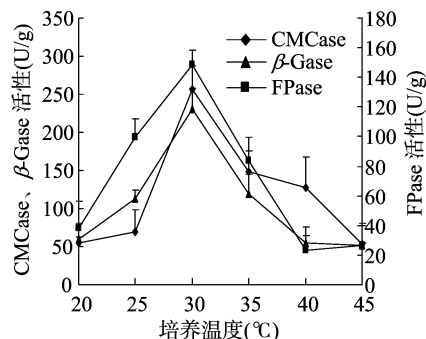


图4 培养温度对生产纤维素酶的影响

2.5 接种量对生产纤维素酶的影响

使用最佳料水体积比,接种量分别调节至 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL/3 g 以研究其对生产纤维素酶的影响。由图 5 可知,接种量为 0.5 mL/3 g 时有最大的 FPase、CMCase、 β -Gase 活性。酶产量随着接种量的增加而下降。因此,接种量是生产纤维素酶的一个重要因素。Huang 等报道,产酶情况与菌株的生长相关,接种量影响纤维素酶的活性^[24]。Raza 等通过用麦麸作为底物接种 2 mL/10 g 黑曲霉和米曲霉的孢子悬浮液,获得最高的 β -Gase 活性^[22]。

2.6 料水体积比对生产纤维素酶的影响

对于固态发酵,真菌喜欢生活在适当潮湿的环境,有利于它们的成长和酶的生产。本试验以稻草为主要底物,研究不同料水体积比对生产纤维素酶的影响。由图 6 可知,1.0 : 3.0 的料水体积比适合生产 CMCase、FPase,1.0 : 2.5 的料水体积比适合生产 β -Gase。在固态发酵中过多或过少的水量都会

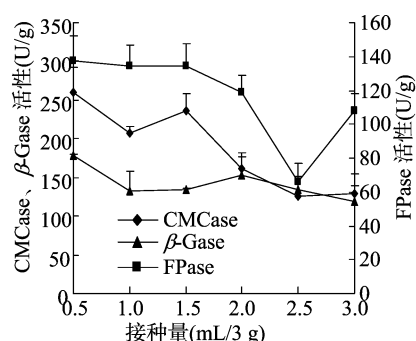


图5 接种量对生产纤维素酶的影响

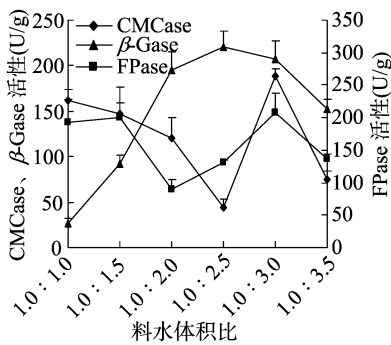


图6 料水体积比对生产纤维素酶的影响

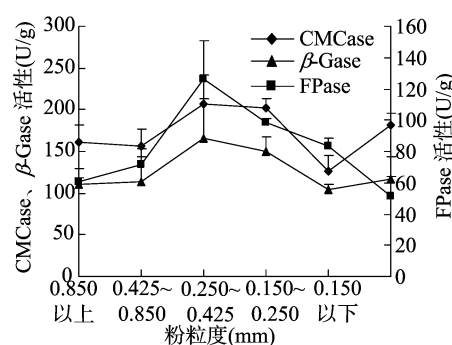


图7 稻草底物粒径对生产纤维素酶的影响

2.8 氮源对生产纤维素酶的影响

氮源是影响菌株产酶的重要因素之一^[28]。不同有机和无机氮源(酵母膏、蛋白胨、硫酸铵、硝酸钾、硝酸钠、花生饼粉)的存在能明显影响酶的生产。如图 8 所示,添加花生饼粉到培养基中,有最大的 FPase 酶活性。培养基中添加硝酸钠有利于 CMCase 生产,而添加硫酸铵有利于 β -Gase 的生

利用固态发酵生产羧甲基纤维素酶最佳培养基初始 pH 值为 5 的报道^[20]相一致。有报道显示,生产 β -Gase 的最佳 pH 值为 5.0^[21]或 5.5^[22]。

2.4 温度对菌株 ZH1 生产纤维素酶的影响

培养温度是影响糖化发酵生产酶的一个重要因素^[6]。由图 4 可知,当温度为 30 °C 时,FPase、CMCase、 β -Gase 都有最大的活性。在发酵过程中不同的真菌生产纤维素酶的最佳温度范围为 25~45 °C^[18,23]。

影响纤维素酶的生产,维护适当的水分是非常重要的,因为它会影响底物孔隙大小最终影响氧的移动^[21]。Mehboob 等报道,白腐真菌最佳生产纤维素酶的料水体积比为 1 : 3^[25]。绿色木霉使用麦草作为底物生产 CMC 酶的最优含水量为 40%^[20]。

2.7 稻草粉底物粒径对生产纤维素酶的影响

底物的粒径(比表面积)对微生物生长非常重要,因为它在糖化发酵过程中传递热与能量^[26]。在本试验中使用不同粒径的稻草粉,研究其对生产纤维素酶的影响。由图 7 可知,当底物粒径为 0.250~0.425 mm 时,比其他尺寸生产的酶活性高。小的粒子激发真菌的生长,因为它提供了较大的表面积,有利于微生物的营养摄取,但会降低传热及氧气与二氧化碳的交换。较大底物粒径(0.850 mm)时,真菌生长被限制,由于表面面积小导致酶生产的降低^[27]。这表明稻草粉粒度对菌株生产纤维素酶具有明显影响。

产。在这项研究中,有机氮源和无机氮源对酶活性的影响与前人的研究结果^[29]相一致。宋贤冲等的研究报告指出,蛋白胨作为氮源最适合绿色木霉生产 CMCase^[30]。

3 结论与讨论

赭绿青霉菌 ZH1 菌株固体发酵生产纤维素酶时,在自然

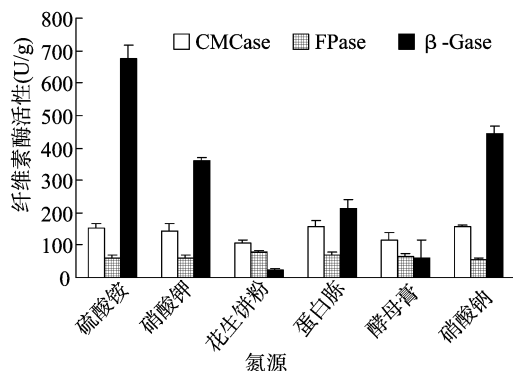


图8 氮源对菌株生产纤维素酶的影响

补给氧气的条件下,对培养基及培养条件的优化结果为培养基 pH 值为 4,并保持料水体积比为 1.0 : 3.0,最佳氮源为花生饼粉,接种量为 0.5 mL,稻草底物粒径为 0.250 ~ 0.425 mm,有利于纤维素酶活性的提高;在此条件下 72 h 是适宜的发酵周期。

参考文献:

- [1] Malherbe S, Cloete T E. Lignocellulose biodegradation: fundamentals and applications [J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2002, 1(2): 105–114.
- [2] John R P, Nampoothiri K M, Pandey A. Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 74(3): 524–534.
- [3] Hölker U, Höfer M, Lenz J. Biotechnological advantages of laboratory – scale solid – state fermentation with fungi [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 64(2): 175–186.
- [4] Robinson T, Singh D, Nigam P. Solid – state fermentation: a promising microbial technology for secondary metabolite production [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, 55(3): 284–289.
- [5] Takó M, Kotogán A, Krisch J, et al. Enhanced production of industrial enzymes in *Mucoromycotina* fungi during solid – state fermentation of agricultural wastes/by – products [J]. Acta Biologica Hungarica, 2015, 66(3): 348–360.
- [6] Li W Y, Ang T N, Ngho G C, et al. Fungal solid – state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production [J]. Biomass & Bioenergy, 2014, 67(5): 319–338.
- [7] 杨林丽. 纤维素降解菌筛选及混合菌种纤维素降解能力测定 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [8] 曲音波. 木质纤维素降解酶系的基础和技术研究进展 [J]. 山东大学学报, 2011, 46(10): 161–162.
- [9] 殷中伟. 秸秆纤维素高效降解菌株的筛选及对秸秆降解效果初步研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [10] Yang W P, Meng F X, Peng J Y, et al. Isolation and identification of a cellulolytic bacterium from the Tibetan pig's intestine and investigation of its cellulase production [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2014, 17(6): 262–267.
- [11] Fei Q, Zhang S Y, Gao P J. Purification and identification of *Sporocytophaga bacter* [J]. Journal of Shandong University, 1999, 34(4): 484–485.
- [12] Bergadi F E, Laachari F, Elabed S, et al. Cellulolytic potential and

filter paper activity of fungi isolated from ancient manuscripts from the Medina of Fez [J]. Annals of Microbiology, 2014, 64(2): 815–822.

- [13] Elghonemy D H, Ali T H, Elbondkly A M, et al. Improvement of *Aspergillus oryzae* NRRL 3484 by mutagenesis and optimization of culture conditions in solid – state fermentation for the hyper – production of extracellular cellulase [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2014, 106(5): 853–864.
- [14] El – Deen A M N, Shata H M A H, Farid M A F. Improvement of β – glucosidase production by co – culture of *Aspergillus niger*, and *A. oryzae*, under solid state fermentation through feeding process [J]. Annals of Microbiology, 2014, 64(2): 627–637.
- [15] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [16] Varga I, Pocai P, Cernák I, et al. Application of direct PCR in rapid rDNA ITS haplotype determination of the hyperparasitic fungus *Sphaeropsis visci* (Botryosphaeriaceae) [J]. Springerplus, 2014, 3(1): 569.
- [17] Qaisar S, Zohra R R, Aman A, et al. Enhanced production of cellulose degrading CMCase by newly isolated strain of *Aspergillus versicolor* [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 104(8): 199–203.
- [18] Garcia N F L, Santos F R D S, Gonçalves F A, et al. Production of β – glucosidase on solid – state fermentation by *Lichtheimia ramosa* in agroindustrial residues: characterization and catalytic properties of the enzymatic extract [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2015, 18(4): 314–319.
- [19] Prasetyo J, Sumita S, Okuda N, et al. Response of cellulase activity in pH – controlled cultures of the filamentous fungus *Acremonium cellulolyticus* [J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2010, 162(1): 52–61.
- [20] Irfan M, Syed Q, Yousaf M, et al. Studies on the pretreatment of wheat straw for improve production of carboxymethyl cellulase by thermophilic *Trichoderma viride* – FBL1 in solid state fermentation [J]. Academia Arena, 2010, 2(7): 18–30.
- [21] Bhatti H N, Batool S, Afzal N. Production and characterization of a novel β – glucosidase from *Fusarium solani* [J]. International Journal of Agriculture & Biology, 2013, 15(1): 140–144.
- [22] Raza F, Raza N A, Hameed U, et al. Solid state fermentation for the production of β – glucosidase by co – culture of *Aspergillus niger* and *A. oryzae* [J]. Pak J Bot, 2011, 43(1): 75–83.
- [23] Irfan M, Nadeem M, Syed Q. Influence of nutritional conditions for endoglucanase production by *Trichoderma viride* in SSF [J]. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, 2012, 7(1): 07–12.
- [24] Huang Y, Qin X, Luo X M, et al. Efficient enzymatic hydrolysis and simultaneous saccharification and fermentation of sugarcane bagasse pulp for ethanol production by cellulase from *Penicillium oxalicum*, EU2106 and thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae*, ZM1 – 5 [J]. Biomass & Bioenergy, 2015, 77: 53–63.
- [25] Mehboob N, Asad M J, Asgher M, et al. Exploring thermophilic cellulolytic enzyme production potential of *Aspergillus fumigatus* by the solid – state fermentation of wheat straw [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 172(7): 3646–3655.
- [26] Krishna C. Solid – state fermentation systems – an overview [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2005, 25: 1–30.
- [27] Xin F X, Geng A L. Horticultural waste as the substrate for cellulase and hemicellulase production by *Trichoderma reesei* under solid – state fermentation [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology,

李 备, 韩占涛, 张发旺, 等. 丙烯酸-膨润土保水剂的制备及其保水效果研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(5): 289-292.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.05.075

丙烯酸-膨润土保水剂的制备及其保水效果研究

李 备^{1,2}, 韩占涛², 张发旺³, 张 威², 宋 乐²

(1. 河北地质大学, 河北石家庄 050031; 2. 中国地质科学院水文地质环境地质研究所, 河北石家庄 050061;

3. 中国地质科学院岩溶地质研究所, 广西桂林 541004)

摘要:将丙烯酸盐在膨润土层间进行聚合, 研发出一种高吸水性聚合矿物复合保水剂。经过对膨润土矿物添加量的研究得出了矿物复合保水剂吸水倍率在一定范围内随膨润土的量增加而减小的曲线分析; 经过对聚合反应时间的研究得出了搅拌时间对矿物复合保水剂吸水倍率的影响; 经过对释水速率的研究得出了释水曲线; 经过有无施用矿物复合保水剂盆栽试验的对比可知, 施用矿物复合保水剂的盆栽在节水保水方面取得了明显效果, 且在促进植物发芽方面有明显优势; 通过对盆栽质量变化的测定可知, 矿物复合保水剂可有效缓解水分蒸发速率; 通过对盆栽体积变化量的测定可知, 矿物复合保水剂可起到疏松土壤的功效; 通过不同施用比例和不同初始给水量盆栽试验对比得出, 利于植物生长的合适施用比例及不同初始给水量对植物萌发和生长的影响。

关键词:膨润土; 丙烯酸; 吸释水性; 矿物复合保水剂; 聚合反应; 水资源高效利用; 释水曲线

中图分类号: S157 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)05-0289-04

我国是一个干旱缺水的国家, 在干旱缺水的条件下实现作物高产以及治理沙漠化都需要高效利用当地宝贵的水资源。土壤保水剂作为一种可高效吸持水分, 并可为作物提供水分的特殊材料, 近 20 余年来在我国得到了大量推广利用。但是, 目前面世的保水剂以有机高分子材料为主, 价格较高, 并且其在土壤环境中风化较快。进一步研发价格低廉、吸水倍率高、风化慢、一次添加可具有多年保水效果的持久性保水剂, 是当前保水剂研究的主要方向^[1-3]。将具有一定吸水性能的矿物与有机物单体混合后进行聚合, 所合成的复合保水剂具有较强的吸水能力、较快的吸水速度、较高的保水性能、较好的释水性能等优点^[4], 但前人研究中获得的复合保水剂性能各异, 仍需要进一步总结和优化。

本试验在前人研究基础上, 以具有一定层间吸附性能的膨润土与丙烯酸为原料制备矿物复合保水剂, 并系统研究了膨润土和丙烯酸的比率、合成时间等对其吸水性能的影响, 最

终确定出最优的保水剂配方, 并验证其在土壤中良好的保水效果。

1 材料与方法

1.1 材料

膨润土, 工业级, 河北省晋州百信商贸有限公司; 丙烯酸, 分析纯, 天津市百世化工有限公司; 氢氧化钠, 分析纯, 天津市光复科技发展有限公司; *N,N*-亚甲基双丙烯酰胺, 分析纯, 天津市百世化工有限公司; 过硫酸铵, 分析纯, 天津市永大化学试剂有限公司。

1.2 试验设备

水浴锅, DK-98-II, 天津泰斯特仪器有限公司; 天平, HZK-FA210 型, 赛多利斯科学仪器有限公司; 精密增力电动搅拌器, JJ-1 型, 江苏省金坛市鑫鑫实验仪器有限公司; 79-1 磁力加热搅拌器, 江苏省烟台凯拓电炉科技有限公司; 滴定管、移液管、电热鼓风干燥箱, 101-1A 型, 天津市泰斯特仪器有限公司。

1.3 复合保水剂的制备

称取一定量丙烯酸于烧杯中, 然后在冰水浴下边搅拌边缓慢加入浓度为 25% 的氢氧化钠溶液进行中和, 中和完毕稍加搅拌, 将反应物移入浸润在温度为 65 ℃ 水浴锅中的 4 个瓶内, 加入一定量的引发剂过硫酸铵, 另称取适量膨润土加入, 同时加入适量交联剂 *N,N*-亚甲基双丙烯酰胺, 便开始发生聚合反应, 在预订的时间停止合成后, 将样品移入培养皿中,

收稿日期: 2016-11-01

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(编号: 41130637); 河北省研究生创新资助项目(编号: 1007705)。

作者简介: 李 备(1990—), 男, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事水文地质环境地质相关研究。E-mail: pingpangplayer@126.com。

通信作者: 张发旺, 博士, 研究员, 博士生导师, 俄罗斯科学院外籍院士, 主要从事水文地质环境地质相关研究。E-mail: zhangfawang@karst.ac.cn。

2010, 162(1): 295-306.

[28] Maeda R N, da Silva M M P, Santa Anna L M M, et al. Nitrogen source optimization for cellulase production by *Penicillium funiculosum*, using a sequential experimental design methodology and the desirability function [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010, 161(1-8): 411-422.

[29] Zhou H, Wang C Z, Ye J Z, et al. Solid-state fermentation of

Ginkgo biloba L. residue for optimal production of cellulase, protease and the simultaneous detoxification of *Ginkgo biloba* L. residue using *Candida tropicalis* and *Aspergillus oryzae* [J]. European Food Research and Technology, 2015, 240(2): 379-388.

[30] 宋贤冲, 唐 健, 邓小军, 等. 产纤维素酶真菌的分离筛选、鉴定及其酶学性质分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2013, 32(3): 372-378.