

拉脱维亚大学报告——英文版本

所提供拉脱维亚大学报告的英文配套版本，便于阅读。

全文和表格以所选语言提供。自动翻译经过术语和数值检查，但并非认证翻译。保留作者的陈述，包括存在争议的结论。编辑注释单独列出。

编辑说明

应与原始报告一起使用；二者均不能证明一般性的作物表现结论。低于实验室检出限或定量限的数值并不能证明某种物质不存在。报告中关于重金属的表述应结合表格中的实测数值、单位和限值理解。

[NanolImport — 编辑说明 ↗](#)

委托方：SIA JIKO Ent

承包商：研究助理Lauris Arbidans

拉脱维亚大学环境科学系精密科学和技术学院

地址: Jelgavas iela 1, LV-1004, 里加

报告

泥炭和蘑菇生物刺激剂的化学评估 LIAA 凭单号 9.2-29-V-2025/64

2026年，里加

工作任务

根据SIA JIKO Ent在LIAA Voucher No. 9.2-29-V-2025/64框架内的委托,对泥炭和蘑菇生物刺激剂进行全面的物理化学和农业特性分析。特征描述包括：

对三种作物(豌豆、硬小麦、燕麦)进行发芽试验，评估不同浓度的生物刺激剂的有效性；

评估生物刺激剂在应用种子蚀刻处理时对发芽的影响；

使用光谱光度法和TOC法测定产品中的腐殖酸和富勒酸含量；

蛋白质、碳水化合物和甲壳素含量的测定,以确定生物刺激剂中生物活性成分的特征；

使用国际比较方案-环境影响评估和Kjeldahl方法定量确定微量和宏观元素；

使用FTIR、UV-Vis和FLR 3D-EEM光谱法对腐殖酸进行物理化学特性分析。

材料和方法

样本

2025年8月,生物刺激剂在5升罐中交付,标记为SK-04-S01-N。

基質分離

100 mL 生物刺激剂在4500 rpm 下离心30分钟。离心后,收集固体残留物,在0.1 M 的 NaOH 中重新悬浮,搅拌60分钟。然后以4500rpm的速度对样品进行30分钟的离心处理。该过程重复3次,直到样品中腐殖质物质的存在不再被检测到。固体残留物用去离子水洗涤至pH值<9。然后加入1 M 的 NaOH,同时搅拌,将样品加热至 70 °C 2 小时,并进行离心。用去离子水将固体残留物冲洗至中性pH值,然后加入0.5 M HCl,再次离心。用去离子水将样品冲洗至中性pH值,然后加入1% NaClO,在室温下混合60分钟。然后,用70%乙醇洗涤样品,并在40°C的干燥炉中干燥3小时。

腐殖酸提取

200毫升的生物刺激剂通过过滤纸过滤。过滤后,在实验室离心机中以4500rpm进行离心。离心后,将溶液用氯化氢酸化至pH<1,过滤,并用0.1 M CaCl₂溶液洗涤沉淀的腐殖酸。然后用去离子水洗净至中性pH值,并在105°C的干燥炉中干燥2小时。

富尔酸和腐殖酸的定量分析

生物刺激剂以4500rpm的速度进行离心,并收集液体分子。样品稀释50倍,并在410 nm进行光谱测定。浓度是从从提取的腐殖酸获得的校准曲线计算的。腐殖酸提取后,从生物刺激剂中分离出的富维酸溶液分别收集,稀释10倍,并使用富维酸标准作为参考,在410 nm进行光谱光度测定。

使用自动1000微升移液器,将500微升生物刺激剂溶液定量转移到100毫升体积计量瓶中。在一个单独的100 mL体积式试管中,将500 µL分离的富尔维酸溶液转移并用去离子水稀释到标记。稀释溶液用总有机碳分析仪(Shimadzu TOC-V CSN)进行分析,结果以每升生物刺激剂的有机碳(TOC)毫克表示。

UV-Vis分子吸收光谱

20 mg 的提取和纯化腐殖酸在分析秤上称量,定量转移到 1 L 体积测量瓶中,并溶解在 0.5 M NaHCO₃ 溶液中。使用 UV-VIS分光光度计UV-1800在1厘米石英池中测量溶液,范围为220-700纳米,步长为1纳米。对于腐殖酸的特性,吸收率比在波长254纳米(E₂), 365纳米(E₃), 465纳米(E₄)和665纳米(E₆)使用,并表示为E₂/E₃,E₂/E₄,E₂/E₆,和E₄/E₆。

光谱

在分析之前, KBr在105°C下干燥2小时。然后称量200毫克,加入2毫克腐殖酸并混合。将混合物压成颗粒,并用光谱仪(Shimadzu IR-Tracer 100)进行测量。测量范围为4000-400 cm⁻¹,分辨率为8 cm⁻¹,共进行了16次扫描。

荧光三维激发/发射矩阵(FLR 3D-EEM)

使用HORIBA Jobin Yvon Aqualog荧光分光光度计获得了FLR 3D-EEM矩阵。溶液在0.5 M NaHCO₃中制备,浓度为20 mg/L。样品在1厘米石英池中测量,不经过研磨。激发波长: 240-600纳米; 发射波长:260-620纳米。步长:3 nm。测量后,一阶瑞利散射被掩盖。荧光光谱数据使用RStudio(版本2024.12.1.563)和R(版本4.5.0)库readxl、dplyr、akima和ggplot2进行处理和可视化。数据是使用线性二维方法(akima::interp)作为激发和发射波长的函数进行插值的。

总碳水化合物分析

分析时, 将1 mL样品转移至玻璃试管, 加入1 mL的5%苯酚溶液, 孵育10分钟。随后加入4 mL浓H₂SO₄, 孵育20分钟, 并在490 nm处进行分光光度测定。以葡萄糖为标准, 每个样品测定3个重复。

微量元素分析

将大约 5 mL 的生物刺激剂称量到 PTFE 容器中,干燥至干燥状态,然后添加 10 mL 浓缩 HNO₃。将容器放入耐压容器中,密封,并使用微波消解系统(Milestone Ethos EASY)进行湿分解。样品以最大功率1800 W加热至200 °C15分钟,再保持15分钟,消解后冷却至室温。将样品定量转移到50 mL的聚丙烯管中,并使用去离子水(0.055 µS/cm)稀释至 50 mL。样品在2个重复中制备。

在分析之前,样品还被稀释10倍,并使用电感耦合等离子体光发射光谱仪(Thermo Scientific iCAP 7200系列)进行分析。ICP参数:射频功率1150W; 等离子体气体流量(氩5.0) 12 L/min; 喷雾器气流量0.5升/分钟; 辅助气体流量(氮气 5.0)0.15升/分钟; 样品流速 1 mL/min 共确定了29种元素: Al (396.152纳米, 径向); 砷(189.042纳米, 轴向); B(249.773纳米, 径向); Ba(455.403纳米, 轴向); 铍 (313.042纳米, 径向); Ca(422.673纳米, 径向); 镉 (228.802纳米, 轴向); 钴(228.616纳米, 轴向); 铬(267.716纳米, 轴向); 铜(324.754纳米, 轴向); 铁(240.488 纳米, 径向); K(766.490纳米, 径向); 锂 (670.784纳米, 径向); 镁(285.213纳米, 径向); 锰(257.610纳米, 径向); 钼(202.030纳米, 轴向); 钠(589.592纳米, 径向); 镍(231.604纳米, 轴向); P(177.495纳米, 轴向); 铅 (220.353纳米, 轴向); S(180.731纳米, 轴向); 锌 (206.833纳米, 轴向); 硒 (196.090纳米, 轴向); 硅 (251.611纳米, 径向); 硫化物(407.771纳米, 径向); 钛 (334.941纳米, 径向); 钛 (190.856纳米, 轴 向); V(292.402纳米, 轴向); 锌 (213.856纳米, 轴向)。使用标准化参考材料制作了校准曲线。

总氮测定(Kjeldahl)

使用分析天平称取0.5 g完全干燥、未过滤的生物刺激剂样品, 转移至凯氏烧瓶。加入10 mL浓H₂SO₄, 在配备 Buchi Scrubber K-415酸中和模块的Buchi SpeedDigester K-436凯氏消解装置中加热2小时, 直至整个基质矿化。消解后, 使用Buchi KjellFlex K-360蒸馏样品, 并用0.05 M H₂SO₄滴定馏出液。

经过测试的种子

硬小麦(*Triticum durum*)和燕麦(*Avena sativa*)在2025年8月下旬在Akniste教区收获。豌豆(*Pisum sativum*)于 2025年10月从里加的零售商店Depo购买。

发芽试验

选择了四种生物刺激剂试验浓度: 1:500、1:350、1:200和1:100 (通过将生物刺激剂稀释500、350、200和100倍 获得)。为了评估蚀刻的效果,种子被蚀刻使用1%的NaOH和标记与各自的稀释和“kod”(蚀刻)。种子在NaOH 溶液中混合2分钟,然后用去离子水冲洗。在播种到发芽板上之前,种子在各自的生物刺激剂稀释液中保持一夜。将 10毫升生物刺激剂稀释液应用于每个发芽板,并将10个种子放在上面。密封的培养皿在恒温器中进行培养,温度为 22°C,培养时间为7天,对所有种子类型进行12小时光照/12小时暗光循环。去离子水用作对照。

成果

为了评估生物刺激剂的成分,确定了腐殖酸、富勒酸、总蛋白质、总碳水化合物、总氮、生物刺激剂中的总有机碳和 分离的富勒酸溶液中的总有机碳的含量。结果见表1。

表1. 索赔人提出的索赔 生物刺激剂的总体指标结果

表格 1

参数	结果	单位
干物质含量	12,19 ± 0,17	%
腐殖酸	624 ± 12	mg/L
富尔酸	712 ± 21	mg/L
总蛋白质	1,30 ± 0,07	%
碳水化合物总量	198 ± 6	mg/L
总氮	0,21 ± 0,04	%
TOC – 生物刺激剂	1150 ± 40	mg/L
TOC – 富尔维酸溶液	790 ± 30	mg/L

表1反映了生物刺激剂的总体成分指标。观察到高干物质含量($12.19 \pm 0.17\%$),主要由溶液中的胶体颗粒组成。在腐殖质中,富勒酸在产品中占主导地位($712 \pm 21 \text{ mg/L}$),而测量的腐殖酸含量为 $624 \pm 12 \text{ mg/L}$ 。应注意到,该产品含有大量各种可溶性副产品; 因此,根据有机碳分析,腐殖酸含量并不明确。然而,对从腐殖酸分离出来的溶液进行的分析表明,在去除腐殖酸相关碳后,产品的碳损失为360毫克/升。假设腐殖酸的平均碳含量为50%,这一数值可近似为~720毫克/升腐殖酸,但应对这一结论的有效性进行严格评估; 因此,分光光度法分析被认为是更可靠的值。

在按照工作流程所述从生物刺激剂样品中顺序分离和纯化壳聚糖的过程中——首先分离腐殖质物质,然后去除蛋白质,然后进行脱矿工艺,然后进行材料漂白步骤(去除其他有机颜料),最后进行去除亲脂性物质的步骤 化合物和干燥-获得了一种灰白色的基汀,总含量约为235毫克/升。图1显示了纯化后的甲壳素。



保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

图1. 从生物刺激剂中分离并纯化的几丁质。

使用ICP-OES方法对生物刺激剂进行了微量和宏观元素分析。共测定了29种元素(Al、As、B、Ba、Be、Ca、Cd、Co、Cr、Cu、Fe、K、Li、Mg、Mn、Mo、Na、Ni、P、Pb、S、Sb、Se、Si、Sr、Ti、Tl、V、Zn)。结果见表2。

表2. 索赔人提出的索赔 生物刺激剂的微量元素和宏观元素组成(µg/L)

表格 2	
元素	浓度(微克/升)
Al	143 ± 5
As	<1,77
B	1,057 ± 0,114
Ba	0,28 ± 0,09
Be	<0,014
Ca	348 ± 12
Cd	<0,15
Co	<0,25
Cr	0,462 ± 0,007

Cu	1,82 ± 0,16
Fe	36,3 ± 0,4
K	34955 ± 1880
Li	<0,65
Mg	45,83 ± 0,02
Mn	0,57 ± 0,05
Mo	<0,80
Na	150 ± 3
Ni	0,381 ± 0,008
P	17370 ± 740
Pb	<1,12
S	104 ± 5
Sb	<2,44
Se	<2,00
Si	23 ± 4
Sr	1,053 ± 0,013
Ti	0,57 ± 0,19
Tl	<2,89
V	<0,12
Zn	2,19 ± 0,13

根据元素分析数据（表2），生物刺激剂原型中钾和磷明显占主导（K 34955 ± 1880; P 17370 ± 740），其浓度比其他元素高出数个数量级。因此，该配方着重于由K/P驱动的生理效应，包括能量代谢、根系发育、渗透调节和抗逆性。下一浓度层级包括Ca 348 ± 12; Na 150 ± 3; Al 143 ± 5; S 104 ± 5，而镁相对较低（Mg 45.83 ± 0.02）。微量元素中，铁最为突出（Fe 36.3 ± 0.4），同时存在Si 23 ± 4; Zn 2.19 ± 0.13; Cu 1.82 ± 0.16; B 1.057 ± 0.114; Sr 1.053 ± 0.013; Mn 0.57 ± 0.05。其余元素浓度较低（Cr 0.462 ± 0.007; Ni 0.381 ± 0.008; Ba 0.28 ± 0.09; Ti 0.57 ± 0.19）。积极的一点是，几种潜在有毒元素低于检出限（As < 1.77; Cd < 0.15; Pb < 1.12; V < 0.12; Co < 0.25; Mo < 0.80; Se < 2.00; Sb < 2.44; Tl < 2.89; Be < 0.014），这表明产品中不存在重金属。

为了表征生物刺激剂中的腐殖酸,使用了几种光谱分析 —— FTIR、UV-Vis分子吸收光谱和荧光3D-EEM光谱。结果如图2-4所示。

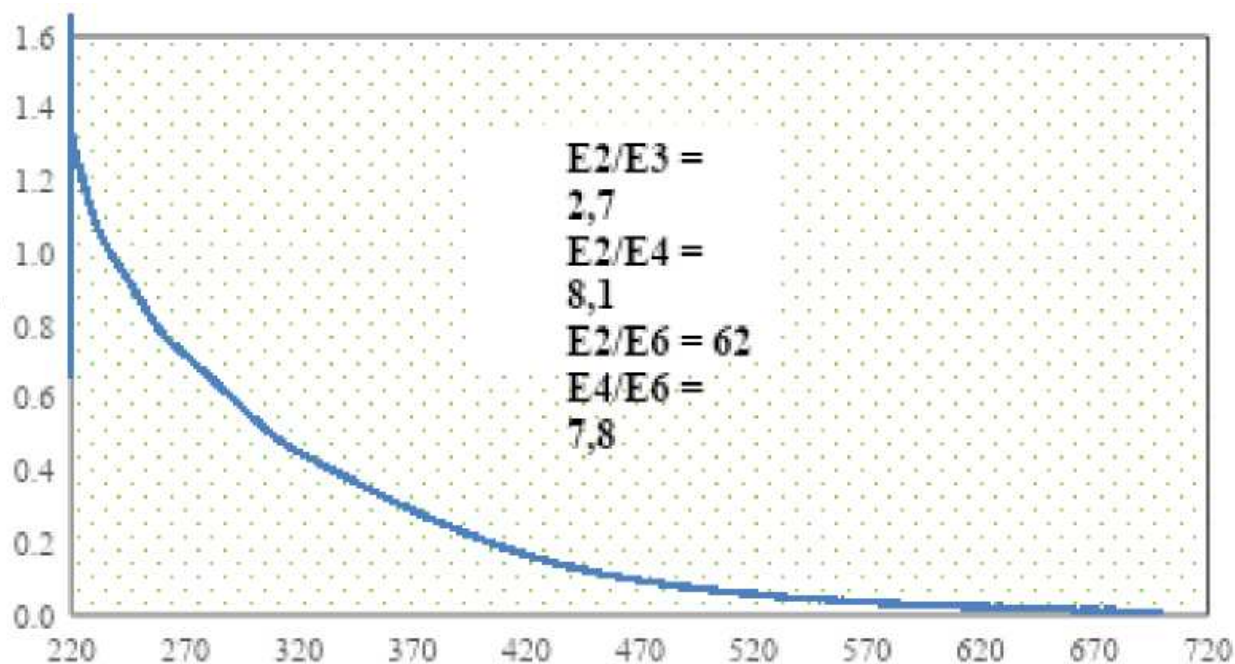


保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

相对透射率。波数 (cm^{-1})。O-H; $\equiv\text{C-H}$; $=\text{C-H}$; C-H (脂肪族); CO_2 ; C=O; C=C; N-H弯曲; C-H弯曲; C-O/C-N; C-Hal / C-H (芳香族)。

图2. 从生物刺激剂中提取的腐殖酸的FTIR光谱。

图2所示的天然泥炭腐殖酸的FTIR光谱是具有许多极性官能团和芳香脂肪族结构的异质腐殖酸基质的典型。3600-3200 cm^{-1} 的宽度对应于O-H 的伸展振动(苯酚、醇、羧酸),通常也表明强氢键。3100-3000 cm^{-1} 的较弱特征表明芳香或烯烃结构,而2920 cm^{-1} 和2850 cm^{-1} 的带状特征表明脂肪族C-H (CH_2/CH_3) 伸展,即侧链和木质素片段。腐殖酸的一个关键特征是典型的强吸收,在~1720-1700 cm^{-1} 范围内,这里可见的是一个实质性的信号,对应于C=O伸展(主要是羧基,但也可能是酯/酮)——腐殖酸酸度和金属复合能力的一个重要指标。在1620-1580 cm^{-1} 的区域,芳香C=C和/或共轭羧基的贡献占主导地位,表明有芳香骨架(木质素/腐殖质)。在~1550-1500 cm^{-1} 附近,酰胺的N-H弯曲特征可能会出现,而~1450-1380 cm^{-1} 的带通常与C-H弯曲和对称 COO^- 振动的可能组成部分相关。在指纹区域~1250-1000 cm^{-1} ,观察到C-O和C-O-C(酚类、酒精类、醚类、多糖残基)和部分C-N振动,反映腐殖质物质的多样性。在~900-700 cm^{-1} ,观察到芳香C-H平面外弯曲,而在~2350 cm^{-1} 附近的带是典型的 CO_2 信号(从大气吸收),通常不是样品结构本身的指标。总体而言,光谱确认,在生物刺激剂中存在的腐殖酸中,以含有脂肪族链混合物的芳香基上的羧基和酚基为主,这与其高反应性和复合/生物刺激潜力相一致。

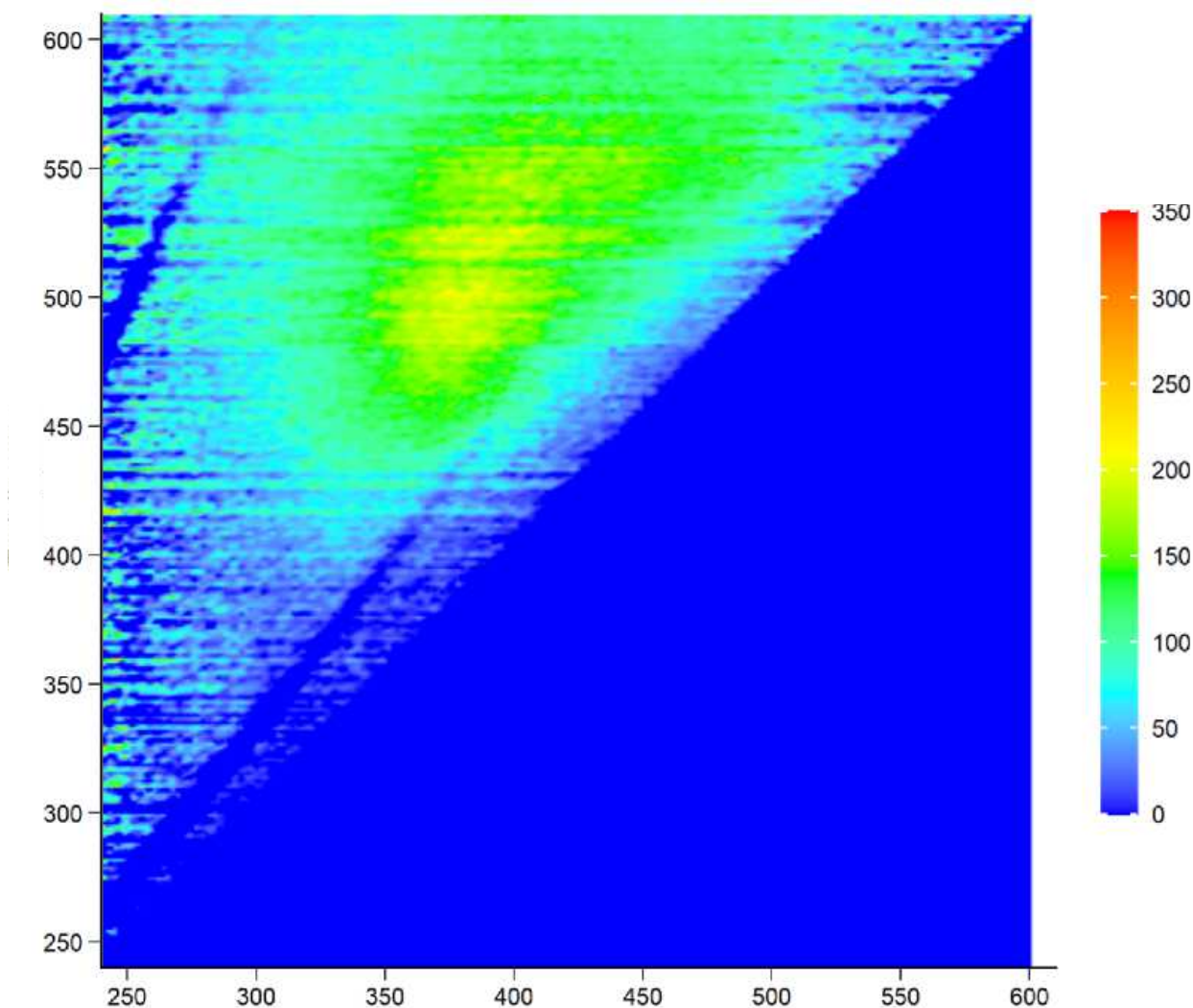


保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

吸收率，单位： $E2/E3 = 2.7$ ； $E2/E4 = 8.1$ ； $E2/E6 = 62$ 个； $E4/E6 = 7.8$ 个百分点。

图3. 从生物刺激剂中提取的腐殖酸的UV-Vis分子吸收光谱。

图3中的紫外可见光谱显示了腐殖酸的典型特征：吸收率平稳下降，没有明显的狭窄峰值，这表明有广泛的色素体（芳香族、酚类、羰基等）和结构混合物。计算出的 $E4/E6 = 7.8$ 高于腐殖酸的典型值(<5)，从而表明腐殖化程度更高，平均分子量更高，结构更浓缩，更芳香。 $E2/E3 = 2.7$ （低于常用的3-5范围）表明在365纳米吸收的共轭/富含水分成分的比例相对较高，并且向富含水分的有机物质转移。 $E2/E4 = 8.1$ 表示木质素衍生官能团和芳香性迹象的明显存在，而 $E2/E6 = 62$ 则反映出平衡的转移，有利于较少的腐蚀和较少的凝聚分数，集合物较小。总的来说，可以得出结论，从生物刺激剂中提取的泥炭腐殖酸是一种混合物，既含有芳香/木质素碎片，也含有较轻的、腐殖化程度较低的部分，这通常与较好的溶解度和官能团的可用性有关。



保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

排放量, nm 激发, 纳米 强度, au

图4. 从生物刺激剂中提取的腐殖酸的FLR 3D-EEM光谱。

在3D-EEM矩阵中(图4), 一个宽阔的腐殖酸荧光区域可见,其最大值约为Ex ~390-430 nm和Em ~520-560 nm(黄色区域), 表明强共轭、芳香和相对更加凝聚的结构(泥炭的特征是含腐殖酸的比例更高)。此外,在Ex~320-360纳米附近可见一个“肩膀”; Em ~440-500 nm,这是腐殖酸的特点,一个较弱的成分在Ex ~250-280 nm附近; Em ~420-460 nm,这是木质素成分的特征。 总体而言,光谱显示样品是具有不同程度腐蚀性的色素胞的异质混合物。 同时,蛋白质类荧光区域(在Ex~275 nm和Em~300-350 nm附近的酪氨酸/色氨酸类信号)实际上没有表达,表明易降解杂质的比例较低,而更稳定的腐殖质物质总体占主导地位。

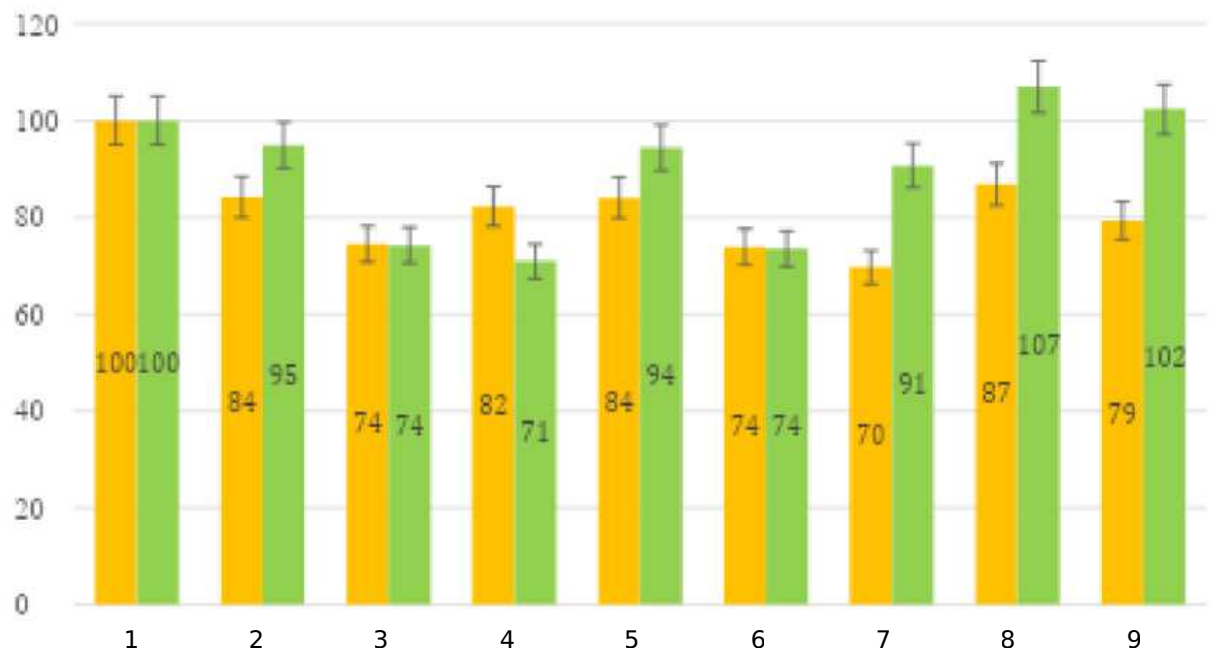
为了确定生物刺激剂对作物发芽的影响,进行了发芽试验。 小麦发芽板的示例如图5所示。



保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

图5. 对照样品中已萌发小麦的发芽板。

图5显示了一个发芽板,在发芽7天后,小麦使用去离子水发芽。生物刺激剂对燕麦发芽的影响见图6(长度)和图7(质量)。

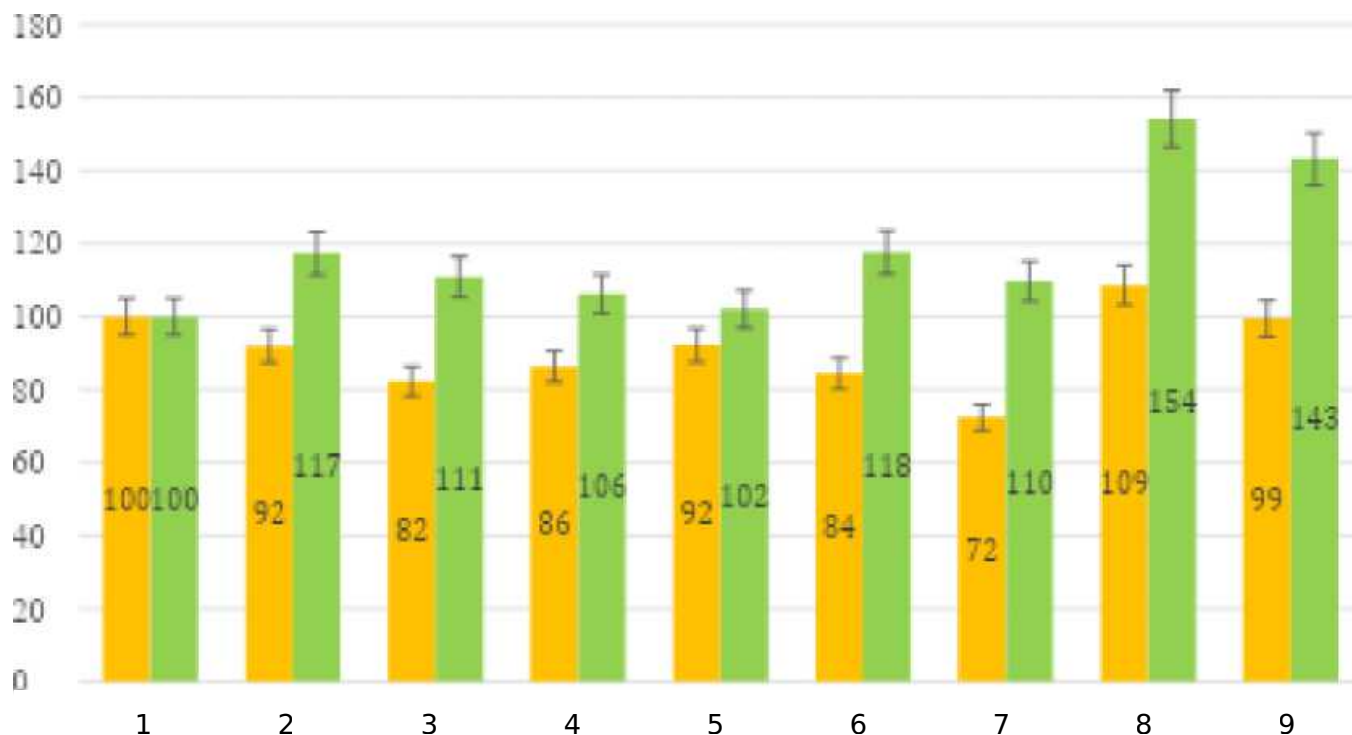


保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

黄色：根。绿色：芽。第 1-9 组按下文列出的处理顺序排列。

植株各部分长度相对于对照的百分比 (%)。根长。芽长。对照；1:500；1:500（种子预处理）；1:350；1:350（种子预处理）；1:200；1:200（种子预处理）；1:100；1:100（种子预处理）。

图6. 燕麦发芽试验结果：7天后根（黄色柱）和芽/幼苗（绿色柱）的长度，相对于对照进行归一化。



保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

黄色：根。绿色：芽。第 1-9 组按下文列出的处理顺序排列。

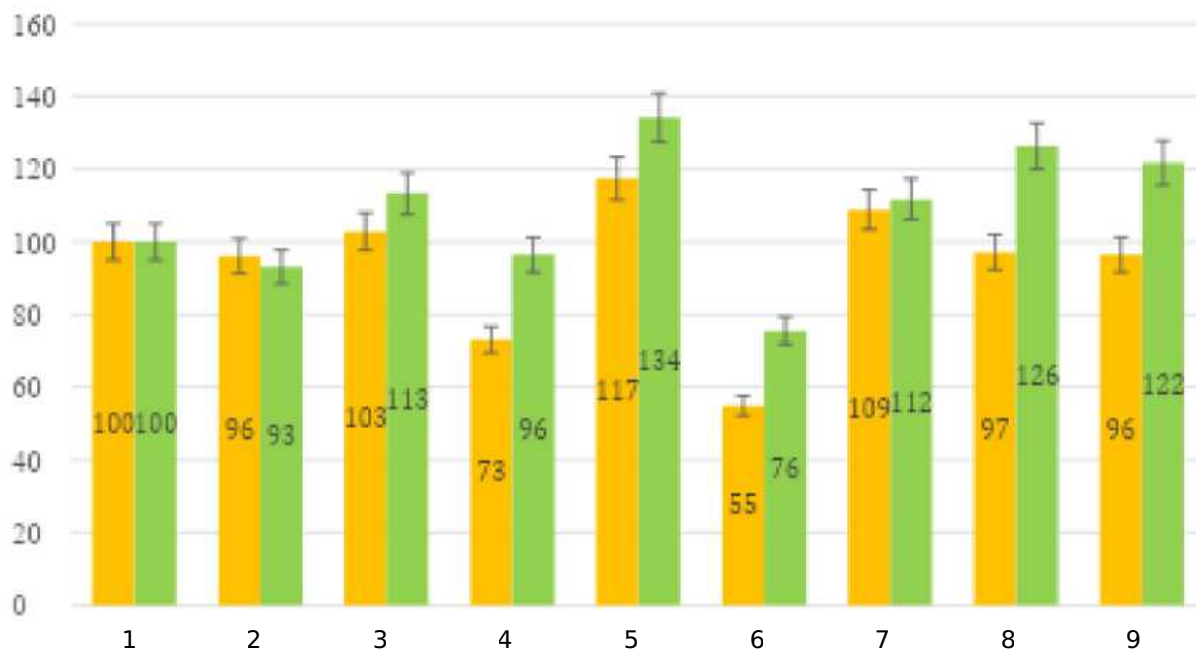
植株各部分质量相对于对照的百分比 (%)。根质量。芽质量。对照；1:500；1:500 (种子预处理)；1:350；1:350 (种子预处理)；1:200；1:200 (种子预处理)；1:100；1:100 (种子预处理)。

图7. 燕麦发芽试验结果：7天后根（黄色柱）和芽/幼苗（绿色柱）的质量，相对于对照进行归一化。

图6显示了用去离子水发芽燕麦的植物部位长度的燕麦发芽测试结果,并与使用去离子水发芽燕麦的对照组进行了标准化。结果表明,当使用生物刺激剂在稀释1:500、1:350和1:200时,无论是蚀刻和非蚀刻的种子都表现出较低的发芽性能,无论是根长还是芽长。对于1:100稀释,非蚀刻和蚀刻种子表现出更高的芽长性能(分别为+7%和+2 %),但根长仍然减少。

图7显示了燕麦发芽试验的植物部位质量结果,并将其与使用去离子水发芽燕麦的对照组进行了标准化。观察到,种子蚀刻对所有生物刺激剂稀释比例的实际芽质量有积极影响,特别是对非蚀刻和蚀刻种子的1:100稀释比例(分别为+54%和+43 %)。然而,几乎所有的测试都显示根质量减少,除了1:100稀释的非蚀刻种子,其显示质量增加了+9 %。应该指出,在芽质量方面,与未蚀刻的种子相比,种子蚀刻具有负面影响(4-11%的下降)。

根据燕麦发芽试验结果,得出结论,进一步的研究将只使用根和芽质量,因为它更准确地代表发芽性能。硬质小麦的测试结果见图8。



保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

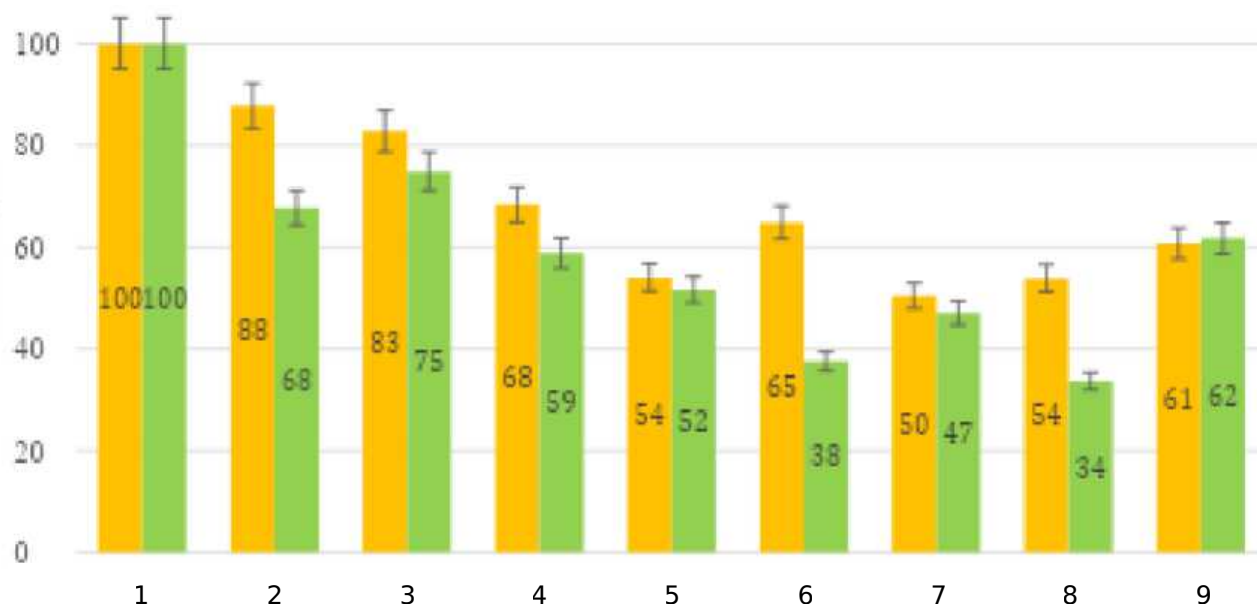
黄色：根。绿色：芽。第 1-9 组按下文列出的处理顺序排列。

植株各部分质量相对于对照的百分比 (%)。根质量。芽质量。对照；1:500；1:500（种子预处理）；1:350；1:350（种子预处理）；1:200；1:200（种子预处理）；1:100；1:100（种子预处理）。

图8. 硬粒小麦发芽试验结果：7天后根（黄色柱）和芽/幼苗（绿色柱）的质量，相对于对照进行归一化。

在硬质小麦发芽试验中(图8), 可以看到,对于未蚀刻的种子,生物刺激剂在1:100稀释时(+26 %) 增加芽质量最好,而1:500则略有减少(-7 %),1:350和特别是1:200会导致明显的质量减少(分别为-4%和-24 %)。与此同时,未蚀刻种子的根质量大多数下降,在1:350(-27 %) 和1:200(-45 %) 下降非常显著,而1:500和1:100接近控制值(-4%和-3 %)。总的来说,蚀刻改善了结果,因为在所有稀释(1:500蚀刻+13 %; 1:350蚀刻+34%; 1:200蚀刻+12%; 1:100蚀刻+22%)。在1:500、1:350和1:200时,根质量也高于对照组(分别为+3 %、+17%和+9 %),但在1:100时,蚀刻会略微降低根质量。与未经蚀刻的种子相比,蚀刻在1:500-1:200的稀释率下产生积极效果,而在1:100的稀释率下则略有下降,这可能表明在浓度较高的情况下,蚀刻不再提供额外的好处。

最后,对豌豆进行了发芽试验,豌豆植物体的发芽试验结果如图9所示。



保留原始实验图形。图中标签在随附文字中翻译。

黄色：根。绿色：芽。第 1-9 组按下文列出的处理顺序排列。

植株各部分质量相对于对照的百分比 (%)。根质量。芽质量。对照；1:500；1:500 (种子预处理)；1:350；1:350 (种子预处理)；1:200；1:200 (种子预处理)；1:100；1:100 (种子预处理)。

图9. 豌豆发芽试验结果：7天后根（黄色柱）和芽/幼苗（绿色柱）的质量，相对于对照进行归一化。

在豌豆发芽试验中,总体情况是明确的:生物刺激剂在所有稀释条件下都会减少根部和芽部的质量,而在对照条件下,随着溶液浓度的增加,芽部的质量减少最为明显。对于未蚀刻的种子,在最稀释的溶液(1:500)下降是更温和的,但移动到更浓缩的溶液的效果加强——在1:200,特别是1:100,苗的质量下降最强烈(约为控制的三分之一)。总体而言,蚀刻并不能提供稳定的改善。在某些稀释比例下,它甚至会使根质量恶化(例如,1:350),但是在1:100的情况下,蚀刻会对芽质量产生重大影响,因为芽质量从34%增加到62% (从~1/3到~2/3的对照值)。因此,对于豌豆在这种试验中,生物刺激剂主要起抑制作用。

发芽试验后,显然生物刺激原型对豌豆有不利的影响,可能还对其他豆类有不利的影响,而对谷物来说,观察到显著的积极效果——硬小麦在1:350与蚀刻种子的稀释下,根质量增加了+17%,芽质量增加了+34%;对于燕麦在1:100的稀释与未蚀刻的种子,根质量增加+9%,芽质量增加+54%。