

水稻土胡敏酸中的氨基酸

程励励 叶 炜 文启孝

(中国科学院南京土壤研究所)

摘 要

对比研究了两种水分条件下的土壤胡敏酸以及新形成胡敏酸中的氨基酸组成及含量。结果表明:1. 水分条件对胡敏酸的氨基酸组成无显著影响;2. 胡敏酸酸解残渣中的氨基酸组成和第一次酸解液的有明显的不同;3. 胡敏酸中已检测出的各类氨基酸氮量占全氮量的一半以上。

氨基酸是土壤中已知的主要含氮化合物,绝大部分以结合态存在,其中相当一部分为腐殖酸(胡敏酸、富里酸)的组成成分。尽管迄今在土壤腐殖酸的氨基酸组成方面已积累了不少资料,但是,影响胡敏酸的氨基酸含量及组成的因素仍不清楚。本文对比研究了两种水分条件下的土壤的胡敏酸及新形成胡敏酸中的氨基酸含量及组成,目的在于对水稻土胡敏酸的结构特征能有更多的了解。

一、样品和方法

供试土壤胡敏酸提取自安徽广德县采集的三对土样(表土)。每对土样为发育自同一土壤母质上的水稻土和旱地土壤。样号 A、D、G 为水稻土, C、E、H 分别为板栗园、菜园和荒地。新形成胡敏酸提取自经过培育三年半后的加有稻草的下蜀黄土底土。培育试验设两种水分条件和两种碳酸钙加量,共 6 个处理。其中,UM0, UM1, UM7 为旱地条件下的 3 个处理, FM0, FM1, FM7 为水田条件下的 3 个处理。各胡敏酸的来源、提取方法和某些结构特征已另文发表。

胡敏酸的 α -氨基酸 N 含量用 Bremner 法。取 0.5 克胡敏酸样品,加入 20 毫升 6molL^{-1} HCl 酸解 12 小时。酸解残渣再加入 30 毫升 $330\text{gL}^{-1}\text{H}_2\text{O}_2$ 和 6molL^{-1} HCl 混合液氧化酸解 12 小时,以测定 N-苯氧基氨基酸量。氨基酸组成用“日立 835 型”氨基酸分析仪测定。取一部分胡敏酸的酸解液或酸解残渣的氧化酸解液,在 50°C 水浴上反复蒸干以去除多余的盐酸,残渣溶于 0.05molL^{-1} HCl 中,离心,上清液供测定用。非 α -氨基酸 N 和脯氨酸 N 含量根据 α -氨基酸 N 总量和氨基酸组成结果计算而得。

二、结果和讨论

(一) 组成

表 1 为供试土壤胡敏酸 6molL^{-1} HCl 酸解液的氨基酸组成。由表 1 可见,尽管水稻土和相应旱地土壤的胡敏酸在腐残化程度上有明显差别,但其氨基酸组成上却很相似。它们均以天冬氨酸、甘氨酸、丙氨酸和谷氨酸等居多。这四种氨基酸约占氨基酸总量的 $1/2$ 。除红色石灰土

表 1 土壤胡敏酸的氨基酸组成(α -氨基酸 N \times 100/总 α -氨基 N)

氨基酸种类	A	C	D	E	G	H
天冬氨酸	15.17	15.79	15.06	15.02	15.54	20.71
谷氨酸	10.77	10.58	10.50	10.54	11.10	11.43
酸性氨基酸总量	25.95	26.37	25.56	25.57	26.64	32.14
苏氨酸	6.14	6.84	7.59	6.94	7.07	7.69
丝氨酸	4.75	5.63	6.94	6.52	6.13	5.77
甘氨酸	13.13	14.03	14.07	14.54	13.91	11.95
丙氨酸	12.26	11.48	10.52	10.24	11.09	9.81
缬氨酸	8.95	8.72	7.61	7.53	8.27	7.96
异亮氨酸	3.12	2.98	3.28	3.23	3.89	2.65
亮氨酸	8.02	7.38	8.14	8.65	8.66	6.46
酪氨酸	0.50	0.46	0.62	0.85	0.43	0.92
苯丙氨酸	0.73	0.40	0.37	0.48	0.27	0.31
脯氨酸	7.85	6.73	6.57	5.52	5.29	6.43
中性氨基酸总量	65.43	64.66	64.71	65.60	65.02	59.87
赖氨酸	4.48	4.26	4.62	4.59	3.41	4.19
组氨酸	1.44	2.01	1.55	1.48	1.11	1.10
精氨酸	2.50	2.47	2.96	2.52	2.94	2.42
碱性氨基酸总量	8.40	8.70	8.13	9.60	7.46	7.72
胱氨酸	0	0.14	0.10	0.13	0.12	0.27
蛋氨酸	0.20	0.10	0.50	0.21	0.76	0
含硫氨基酸总量	0.20	0.24	0.60	0.24	0.88	0.37

表 2 新形成胡敏酸的氨基酸组成(α -氨基酸 N \times 100/总 α -氨基 N)

氨基酸种类	FM0	UM0	FM1	UM1	FM7	UM7
天冬氨酸	13.33	12.59	13.98	12.62	13.14	13.85
谷氨酸	11.70	10.83	11.88	11.76	11.64	11.73
酸性氨基酸总量	25.03	23.42	25.86	24.38	24.78	25.58
苏氨酸	6.60	6.88	7.09	7.40	7.00	7.15
丝氨酸	5.81	6.04	6.05	5.91	5.99	5.15
甘氨酸	10.90	11.71	11.08	12.54	11.58	11.98
丙氨酸	9.92	9.67	9.56	9.90	10.70	9.44
缬氨酸	6.83	6.68	6.78	6.91	6.65	6.58
异亮氨酸	4.76	4.15	4.68	3.72	3.96	4.04
亮氨酸	7.78	8.11	7.87	7.06	6.69	7.53
酪氨酸	0.15	0	0	0	0	0
苯丙氨酸	1.58	0.66	0.77	0.45	0.82	0.63
脯氨酸	12.30	14.61	13.57	14.52	13.67	12.85
中性氨基酸总量	66.63	68.51	67.45	68.41	66.78	65.35
赖氨酸	3.23	3.19	3.33	3.15	3.44	2.85
组氨酸	1.19	1.25	1.08	0.86	1.01	0.83
精氨酸	2.85	2.47	2.63	2.28	2.62	2.46
碱性氨基酸总量	7.72	6.91	7.04	6.29	7.07	6.14
胱氨酸	0.31	0.29	0.31	0.29	0.76	0.26
蛋氨酸	0.75	0.85	0.77	0.71	0.60	0.66
含硫氨基酸总量	1.06	1.14	1.08	1.00	1.36	0.92

(H)胡敏酸外,各胡敏酸的酸性、中性、碱性和含硫氨基酸的相对含量几乎完全相同,分别为 $27.0\pm2.5\%$, $64.2\pm2.2\%$, $8.34\pm0.76\%$ 和 $0.42\%\pm0.27\%$ 。红色石灰土胡敏酸的酸性氨基酸含量明显较高,中性氨基酸则较低,这可能与石灰岩母质有关。Carter 和 Mitterer 也曾报道,碳酸盐沉积物能选择性吸附富含天冬氨酸的有机物。

表 2 为供试新形成胡敏酸 $6\text{molL}^{-1}\text{HCl}$ 酸解液的氨基酸组成。总的来说,它们与土壤胡敏酸(表 1)相似。但脯氨酸和含硫氨基酸含量较高,酪氨酸较低。此外,它的异亮氨酸、苯丙氨酸也较高,而碱性氨基酸总量和缬氨酸略低。计算表明,即便它们的脯氨酸含量和土壤胡敏酸相同,结果仍是如此。新形成胡敏酸的氨基酸组成与土壤胡敏酸的上述差异,是否与其腐殖化程度不同有关,尚待进一步研究。

仔细分析表 2,除苯丙氨酸外,不同水分条件下新形成的胡敏酸的氨基酸组成无任何规律性差异。至于苯丙氨酸,有渍水条件下高于旱地条件的趋势。有趣的是紫云英中的氮素在土壤中矿化和转化时,也存在同样的现象。

表 3、4 分别为土壤胡敏酸和新形成胡敏酸酸解残渣的氧化酸解液中的氨基酸(N—苯氨基氨基酸)组成。总的来说,它们彼此间很相似,而与第一次酸解液有明显的不同。它们都以赖氨酸、甘氨酸、缬氨酸和天冬氨酸的含量较高,这 4 种氨基酸约占氨基酸总量的 54—68%。其中赖氨酸的相对含量最高,次为甘氨酸和缬氨酸,再次为天冬氨酸。与其相应的第一次酸解液比较,它们的酸性、中性和含硫氨基酸的相对含量显著较低,碱性氨基酸的相对含量则显著较高,分别为 $17.9\pm0.9\%$, $54.6\pm2.9\%$, $0.39\pm0.78\%$ 和 $27.1\pm2.6\%$ ($n=10$)。看来,胡敏酸酸解残渣液中的氨基酸组成,主要决定于各氨基酸的性质。少数氨基酸除了与苯环直接联接和形

表 3 土壤胡敏酸酸解残渣的氨基酸组成
(α -氨基酸 N $\times 100/\text{总 } \alpha$ -氨基 N)

氨基酸种类	D	E	G	H
天冬氨酸	13.00	12.23	12.14	11.39
谷氨酸	6.21	6.35	5.60	6.43
酸性氨基酸总量	19.19	18.58	17.74	17.82
苏氨酸	3.32	4.41	4.27	2.45
丝氨酸	2.41	2.29	2.72	2.10
甘氨酸	13.77	17.30	14.26	15.30
丙氨酸	5.27	4.71	7.24	5.59
缬氨酸	13.66	14.48	15.68	15.10
异亮氨酸	4.27	3.73	4.57	5.45
亮氨酸	4.75	4.55	5.30	6.17
酪氨酸	0	0	0	0
苯丙氨酸	0.87	1.67	1.83	2.34
脯氨酸	2.31	2.18	0	0
中性氨基酸总量	51.63	54.32	55.87	54.49
赖氨酸	25.76	23.93	23.44	21.88
组氨酸	1.30	1.41	1.31	1.38
精氨酸	2.12	1.41	1.64	1.88
碱性氨基酸总量	29.18	26.75	26.39	25.13
胱氨酸	0	0.36	0	0
蛋氨酸	0	0	0	2.56
含硫氨基酸总量	0	0.36	0	2.56

表 4 新形成胡敏酸酸解残渣中的氨基酸组成
(α -氨基酸 N $\times 100/\text{总 } \alpha$ -氨基 N)

氨基酸种类	FM0	UM0	FM1	UM1	FM7	UM7
天冬氨酸	9.66	10.04	10.53	11.41	10.40	11.51
谷氨酸	7.08	6.25	7.56	7.04	7.32	7.05
酸性氨基酸总量	16.74	16.29	18.09	18.45	17.72	18.56
苏氨酸	3.93	4.61	4.67	4.55	4.32	4.08
丝氨酸	2.39	2.96	2.63	2.69	2.42	2.49
甘氨酸	9.32	13.95	10.45	15.09	10.26	15.67
丙氨酸	5.68	9.60	5.64	7.59	5.77	7.49
缬氨酸	12.95	12.87	12.90	13.20	12.99	136.61
异亮氨酸	8.40	5.04	5.01	3.86	5.21	4.18
亮氨酸	8.48	7.89	5.56	5.73	5.70	5.52
酪氨酸	0	0	0	0.11	0	0
苯丙氨酸	1.37	0.64	0.66	0.30	0.55	0.38
脯氨酸	3.42	3.28	3.64	3.14	3.24	2.56
中性氨基酸总量	55.94	60.30	51.20	55.74	50.46	55.53
赖氨酸	22.12	20.30	26.84	21.54	27.57	22.73
组氨酸	1.82	1.34	1.50	1.31	1.64	1.14
精氨酸	3.16	1.78	2.43	2.04	2.39	1.79
碱性氨基酸总量	27.10	23.42	30.77	24.89	31.60	25.66
胱氨酸	0.23	0	0	0	0.22	0.27
蛋氨酸	0	0	0	0.22	0	0
含硫氨基酸总量	0.23	0	0	0.22	0.22	0.27

成交联的机率不同外,其氧化高温稳定性也各异。

仔细分析表 3、4 不难看出,渍水条件下新形成的胡敏酸酸解残渣的碱性氨基酸较相应旱地条件下者为多,而酸性氨基酸的含量则较少;但水稻土和旱地土壤胡敏酸酸解残渣彼此间则看不到这种差异。

(二) 含量

表 5 中列出了胡敏酸中各类氨基酸态氮的含量。由表可见,各胡敏酸中未将脯氨酸计算在内的 α -氨基酸 N 占全氮量的 $41.2 \pm 5.5\%$ ($n=12$),上述数值加上脯氨酸 N、非 α -氨基酸 N 和 N-苯基氨基酸 N 的总量则为 $53.8 \pm 8.4\%$ ($n=12$),如果再把酸解过程中可能被破坏的氨基酸及真酰胺计算在内,则全 N 中以氨基酸态存在的 N 量将高于此数值。可见,现有的研究氮素形态分布的方法显然低估了氨基酸态 N 占土壤全氮的份额。

一般认为,随着腐殖化过程的进展,土壤中的 α -氨基酸 N 的相对含量将逐步减少。表 5 中的结果并不能有力的支持这一点。作为腐殖化程度较低的新形成胡敏酸,其 α -氨基酸氮的平均含量($43.9 \pm 1.2\%$, $n=6$)虽较土壤胡敏酸($38.4 \pm 6.9\%$)为高,但部分土壤胡敏酸的 α -氨基酸 N 量并不较新形成胡敏酸低。

表 5 胡敏酸中各类氨基酸态氮含量(占全 N%)

样品号	α -氨基酸 N	脯氨酸 N	非 α -氨基酸 N	N-苯氧基氨基酸 N	总 量
土 壤 胡 敏 酸					
A	48.28	4.11	7.79	1.17	61.37
C	45.19	3.26	7.60	0.90	56.93
D	38.83	2.27	6.75	0.68	48.08
E	31.06	2.17	5.03	0.90	39.16
G	34.66	1.94	5.29	1.12	43.01
H	33.06	2.23	4.81	1.26	41.36
新形成土壤胡敏酸					
FM0	42.56	5.97	7.02	2.81	58.36
UM0	42.82	7.33	6.06	1.60	57.81
FM1	43.21	6.78	6.64	2.32	59.54
UM1	44.53	7.56	5.68	1.55	59.32
FM7	45.33	7.18	6.85	2.17	61.53
UM7	45.21	6.67	5.81	1.40	59.09

值得注意的是,新形成胡敏酸中 N-苯氧基氨基酸态 N 的含量较土壤胡敏酸为高。众所周知,该种形态的氮在化学上较稳定,为非酸解性氮的一部分。一般认为,这部分氮难以被微生物所利用。新形成胡敏酸中 N-苯氧基氨基酸态 N 的相对含量较土壤胡敏酸为多的事实似乎表明,这类形态的氮尽管在化学上比较稳定,但其生物学稳定性并不一定很高;土壤中的非酸解性氮,至少有一部分是较易为微生物所利用的。施书莲等在研究耕垦对土壤氮素形态和氨基酸组成的影响时,也曾得到类似的结果。

在渍水条件下,虽然土壤中 α -氨基酸态 N 的相对含量常较相应条件下旱地土壤的为高,表 5 表明,除水稻土胡敏酸中的 α -氨基酸态 N 量较相应旱地土壤的略高外,前者胡敏酸中的非 α -氨基酸态 N 含量还较后者略多。此外,渍水条件下新形成的胡敏酸中,N-苯氧基氨基酸的含量也明显的较旱地条件下的多。