

有机物料腐解过程胡敏酸的分级研究

王旭东 胡田田 关文玲

(西北农林科技大学资环学院 陕西杨凌 712100)

摘 要 采用培养试验,在研究玉米秸、绿豆秸、猪粪、羊粪4种有机物料腐解过程腐殖物质的组成(H/F比)胡敏酸性质动态变化的基础上,利用酒精沉淀法对胡敏酸进行分级,研究了不同腐解期胡敏酸的级分组成变异。结果表明,有机物料腐解形成的胡敏酸以级分3、4、5所占比例较多,级分1、2相对较少。级分3在整个腐解过程明显增加;级分1、2前期有所波动,后期呈增加趋势,级分4、5以减小趋势为主。胡敏酸性质变化与其级分组成变化有密切关系。

关键词 有机物料;胡敏酸;酒精沉淀分级;腐解试验

腐殖物质是有机物料在微生物、酶的作用下形成的特殊类型的高分子有机化合物^[1]。其结构一般是由一到多个芳香核(也可能是非芳核结构的线性分子),外边连着多个活性功能团构成^[2, 3]。腐殖物质不是由某一种化合物构成,而是由系列分子构成的聚类物质,由于形成条件和起始物质的多样性,具有高度的非均质性。有研究者指出^[4],即使精制的胡敏酸样品,在化学性质和分子量上仍是多种分子的混合物。由于胡敏酸的复杂性,对其进行分级研究还较少。本文在对4种有机物料腐解过程胡敏酸性质变化研究的基础上,采用酒精沉淀方法对胡敏酸进行分级,研究腐解过程胡敏酸的级分组成变异,揭示胡敏酸形成机理和性质差异的实质。

1 材料与方法

1.1 供试物料

供试4种有机物料为玉米秸、绿豆秸、猪粪、羊粪,它们均采自本校农场。玉米秸为完全成熟后采样,绿豆秸采自盛花期,猪粪、羊粪均为鲜样。采后风干,粉碎(过1mm筛)备用。其基本性状见表1。

表1 供试有机物料的基本性质^{*}

种 类	C g/kg	P g/kg	N g/kg	木质素 g/kg	纤维素 g/kg	C/N
玉米秸	438	1.04	9.1	132	572	48.1
绿豆秸	372	2.59	21.2	45	165	17.5
猪粪	381	5.49	18.8	56	136	20.3
羊粪	268	5.52	16.1	135	237	16.6

* 表中纤维素含量为纤维素和半纤维素的总和

1.2 有机物料腐解

称取4种有机物料各100g,放入广口瓶中,加澄清土壤溶液60ml(1kg田间土壤加5L蒸馏水充分搅动后静止澄清,目的是让有机物料腐解过程中含有土壤相类似的微生物区系),然后用蒸馏水调节有机物料的含水量,使样品能充分保持湿润(手握成团),但又不含过多自由水。于25°C恒温箱中培养(在培养过程中不定期加入蒸馏水保持湿度基本不变),分别在培养15、30、60、90、150、210、270、360天时取出样品,50°C下烘干,以备用来提取分析胡敏酸。每期每个样品重复3次(腐解时玉米秸用尿素调节C/N比为20:1,其它物料不调)。

1.3 腐殖物质的提取

称取不同腐解期的有机物料的烘干品 20g, 放于 250ml 的三角瓶中, 按 1:10 的比例加入 0.1molL^{-1} NaOH 溶液, 于 30°C 下反复浸提、过滤, 直至浸提液颜色很浅为止, 吸取少量滤液分析 H/F 比, 剩余滤液用 1:1HCl 调节溶液的 pH 值为 1.5, 沉淀分离胡敏酸, 并用半透膜对其进行渗析、纯化。 50°C 下烘干, 制得胡敏酸纯品。

1.4 胡敏酸性质分析

胡敏酸与富里酸的比值(简称 H/F 比)测定采用文启孝介绍方法^[5]; 光密度测定采用 Chen^[6] 方法; 色调系数 ($\Delta\log k$) 和相对色度 (RF) 测定采用 Kumada^[7]方法。

$\Delta\log k = \log k_{400} - \log k_{600}$ k_{400} 、 k_{600} 分别为胡敏酸溶液在 400、600nm 的吸光系数

$\text{RF} = (K_{600} \times 1000) / \text{每 } 30\text{ml 胡敏酸溶液所消耗的 } 0.02\text{mol/L KMnO}_4 \text{ 的 ml 数}$

1.5 胡敏酸酒精沉淀分级

参照卓苏能、文启孝介绍方法^[4]。称取一定量胡敏酸溶于 1 升 0.2mol/L NaOH 溶液中, 向该溶液累加入无水酒精, 每次累加后酒精体积分别为 650、850、1200、1700、2200ml, 每加一次, 静置过夜, 然后离心 (7000 转/分) 15 分钟, 将沉淀重新溶于 0.1mol/L NaOH 溶液中, 调节溶液 pH 为 8, 经渗析、纯化、水浴蒸干 (50°C), 得到 1 个级分样本。每次离心后的溶液按上述累加体积加入无水酒精再制备第 2 个级分样本, 直到 5 个级分样本制备完毕。

2 结果与分析

2.1 腐解过程中 H/F 比的动态变化

有机物料腐解过程 H/F 比 (图 1) 的动态变化显示, 玉米秸在整个腐解过程 H/F 比呈由低 (15 天) 高 (60 天) 低 (210 天) 高 (360 天) 的波动变化; 而绿豆秸从腐解开始到 90 天, H/F 比呈减小趋势, 90 天以后到 360 天, H/F 比逐渐上升。猪粪在整个腐解过程中 H/F 比一直呈上升趋势。羊粪在腐解初期 (15~60 天) H/F 比减小, 60 天后 H/F 比又增大。H/F 比反映了腐殖化过程胡敏酸和富里酸含量的相对多少, H/F 比高说明形成的胡敏酸相对较多, 反之则相反。不同有机物料之间相比, 腐解 50 天至 180 天, H/F 比的高低顺序是玉米秸 > 羊粪 > 猪粪 > 绿豆秸; 180 天以后, 则为羊粪 > 玉米秸 > 猪粪 > 绿豆秸。

2.2 不同腐解期胡敏酸的性质变化

不同腐解期胡敏酸的 E_4 值 (图 2) 显示, 不同有机物料在腐解过程中 E_4 值变化基本与 H/F 比表现出相同的变化趋势。即 H/F 比大时, 胡敏酸的 E_4 值较大, H/F 比小时, 胡敏酸的 E_4 值也较小。 E_4 值为胡敏酸在 465nm 下的光密度, 其大小与胡敏酸的颗粒分子量大小、分子结构有关。一般情况下 E_4 值愈大, 胡敏酸的颗粒分子量愈大, 分子结构愈复杂, 反之则相反^[6]。可见, 有机物料构成不同, 腐解过程胡敏酸结构的变化趋势不同。腐解 150 天前, 不同有机物料胡敏酸的 E_4 值变化起伏较大, 150 天以后, E_4 值的大小顺序是羊粪 > 绿豆秸 > 猪粪 > 玉米秸, 反映了不同有机物料形成胡敏酸的分子结构差异。

不同有机物料腐解过程胡敏酸的 $\Delta\log k$ 值 (图 3) 变化与 E_4 值的变化趋势相反, RF 值变化 (图 4) 趋势与 E_4 值保持一致。Kumada^[7]认为, 胡敏酸的 $\Delta\log k$ 愈小, RF 值愈大, 胡敏酸的结构愈复杂, 反之则相反。相关分析显示, $\Delta\log k$ 值与 RF 值呈极显著负相关 ($r = -0.822$, $n = 31$), 与 E_4 值呈极显著负相关 ($r = -0.816$, $n = 31$)。 E_4 值与 RF 值呈极显著正相关 ($r = 0.967$, $n = 31$)。 $\Delta\log k$ 值与 RF 值的变化进一步证实了前述 E_4 值所得结论。

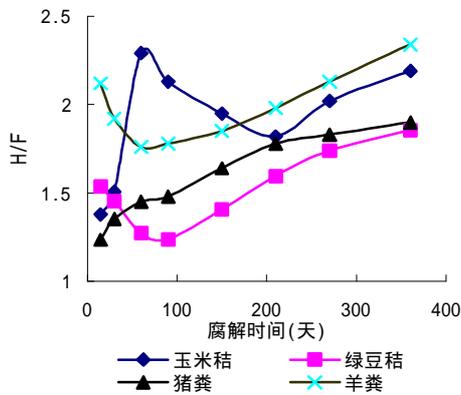


图1 有机物料不同腐解期 H/F 比

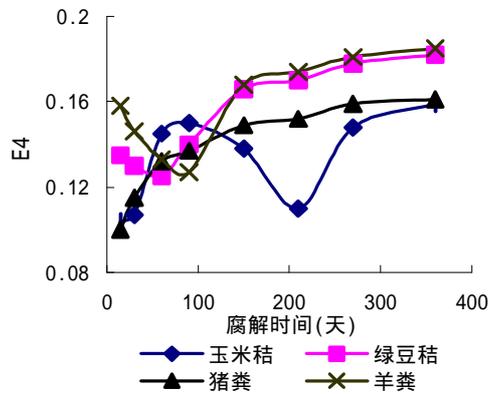


图2 胡敏酸 E₄ 值

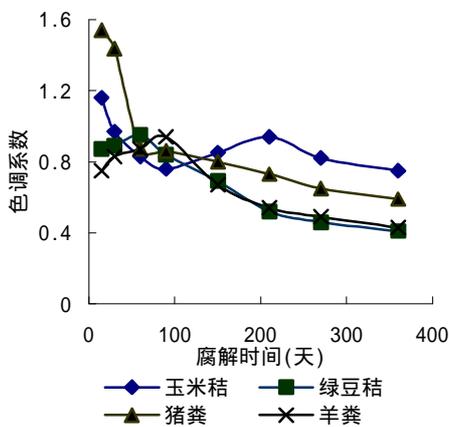


图3 不同腐解期胡敏酸色调系数(Δlogk)

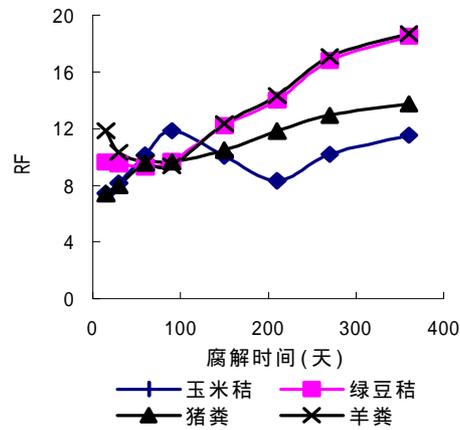


图4 不同腐解期胡敏酸 RF 值

2.3 胡敏酸的级分组成变异

不同腐解期胡敏酸各级分占胡敏酸原样的平均重量百分数(表2)显示,有机物料腐解形成胡敏酸的级分1、2所占比例相对较少,级分1在3%以下(平均为1.95%),级分2在8%以下(平均为6.13%)。级分3、4、5所占比例相对较多,平均分别为23.77%、22.02%、19.54%。羊粪与猪粪、秸秆类相比,级分1、2、3的含量相对增加,级分

表2 胡敏酸各级分的重量百分数(%)

有机物料	级分1	级分2	级分3	级分4	级分5
玉米秸	2.31	5.32	20.18	20.40	23.32
绿豆秸	1.91	5.81	22.56	23.31	19.10
猪粪	0.98	5.95	21.17	26.55	19.99
羊粪	2.61	7.44	31.16	17.85	15.76
平均值	1.95	6.13	23.77	22.02	19.54

4、5的含量相对减小。玉米秸与绿豆秸比较,级分3、4的含量相对减小,级分5的含量相对增加,级分1、2的含量相差不大。胡敏酸酒精沉淀分级是根据同一缩聚物中不同分子量部分的临界沉淀点不同而进行的分级。卓苏能、文启孝^[4]以及作者的前期研究^[8,9]均表明,利用酒精沉淀法分离的胡敏酸各级分,随级分数由小到大,芳构化度逐渐降低,分子结构由复杂趋于简单。因此不同腐解期胡敏酸中各级分的组成变化,反映了胡敏酸这一聚

类物中大小分子组分的变化情况。不同有机物料形成的胡敏酸，级分 1~3 之和的变化趋势是羊粪 (41.21%) > 绿豆秸 (30.28%) > 猪粪 (28.1%) > 玉米秸 (27.81%)，而级分 4~5 之和的变化趋势是：猪粪 (46.54%) > 玉米秸 (43.32%) > 绿豆秸 (42.41%) > 羊粪 (33.61%)。因此，羊粪、绿豆秸腐解形成的胡敏酸中大分子级分相对较多，小分子级分相对较少（与玉米秸、猪粪相比）。级分 1~3 之和的变化顺序与前述由 E_4 、 $\Delta \log k$ 、RF 得出的胡敏酸芳构化度高低顺序一致。

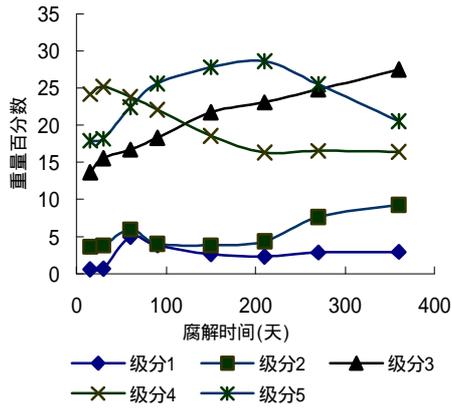


图 5 玉米秸腐解过程胡敏酸各级分变化

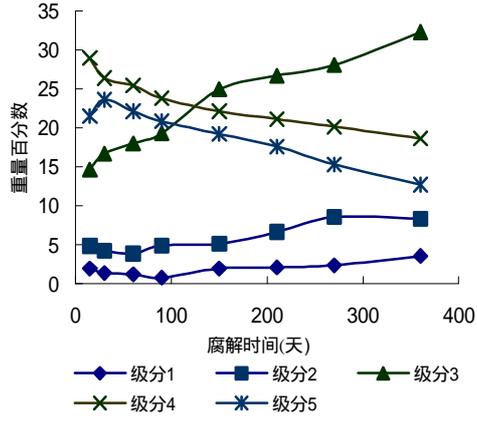


图 6 绿豆秸腐解过程胡敏酸各级分变化

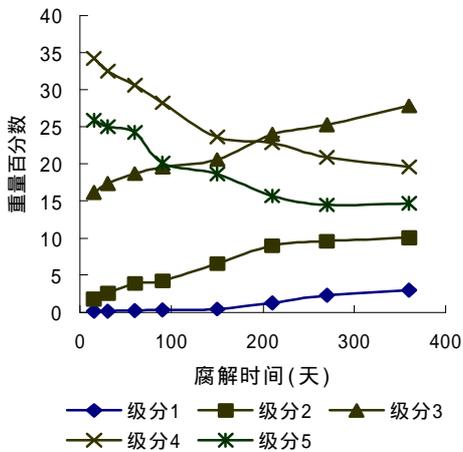


图 7 猪粪腐解过程胡敏酸各级分变化

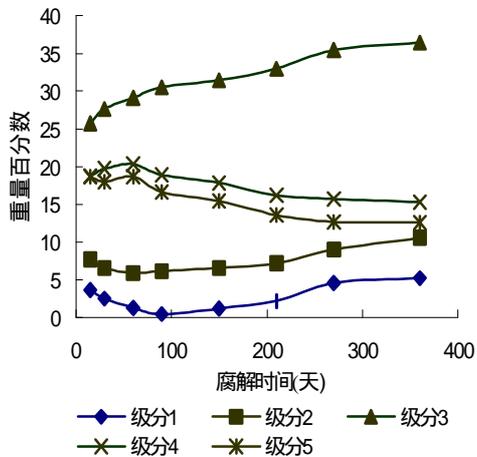


图 8 羊粪腐解过程胡敏酸各级分变化

胡敏酸各级分的动态变化 (图 5、6、7、8) 显示，不同有机物料形成的胡敏酸中，级分 3 在整个腐解过程呈增加趋势。对于其它级分，随腐解时间变化趋势不同。总的看来，级分 1、2 前期有所波动，后期呈增加趋势。级分 4、5 在腐解一定时间后呈减小趋势，但不同有机物料胡敏酸中各级分出现的转折时期有所不同。

3 讨论

4 种有机物料，物质构成有一定差异，腐解过程腐殖物质的动态变化也有所不同。玉

米秸秆木质素含量较高,随腐解进行,木质素逐渐氧化转化为胡敏酸,因此,从腐解开始到60天左右,腐殖物质的H/F比逐渐增大,由于处于腐殖化的初级阶段,木质素以长链结构存在,此时胡敏酸的结构比较复杂;60天以后至210天,由于胡敏酸的氧化断裂,胡敏酸逐渐转变为富里酸等,所以,腐殖物质的H/F比逐渐变小,胡敏酸由复杂趋于简单。210天以后至360天,富里酸以及一些小分子组分在矿化分解的同时又进一步缩合成为结构复杂的胡敏酸。所以,腐殖物质的H/F比增大,胡敏酸结构趋于复杂。绿豆秸采自盛花期,木质素、纤维素含量较少,15天时大部分已分解,木质素已转化为胡敏酸。故15天时腐殖物质的H/F比较高,胡敏酸结构较复杂。15天以后至90天左右,胡敏酸氧化断裂,向其它物质转化,所以H/F比变小,胡敏酸结构趋于简单。90天以后,出现缩合趋势,因此,H/F比逐渐增大,胡敏酸结构趋于复杂。羊粪虽然木质素、纤维素的含量高,但其C/N比较小,易于分解,15天时形成大量胡敏酸,因此H/F比较大,15天以后胡敏酸也经历了氧化断裂到再缩合的过程,与绿豆秸腐解过程胡敏酸变化趋势大致相同。猪粪中木质素含量较少,由于酶等的促进作用,在整个腐殖化过程以缩合趋势为主,H/F比升高,胡敏酸结构趋于复杂。

总的看来,有机物料腐解形成胡敏酸前期以木质素衍生而形成胡敏酸为主,中间经历一个胡敏酸的氧化断裂阶段,后期以小分子组分缩合为主。但不同有机物料3个阶段出现的时期不同,从而使胡敏酸的组成、性质不同。

参 考 文 献

- 1 程励励,文启孝,吴顺龄.植物物料的化学组成和腐解条件对所形成的腐殖物质的影响.土壤学报,1981,18(4):360~367
- 2 熊田恭一.土壤有机质的化学.北京:科学出版社,1984,1~6
- 3 彭福泉,高坤林,车玉萍.我国几种土壤中腐殖质性质的研究.土壤学报,1985,22(1):64~73
- 4 卓苏能,文启孝.胡敏酸酒精分级沉淀法分级.土壤学报,1994,31(3):251~258
- 5 文启孝.土壤有机质研究法.北京:农业出版社,1984,136~145
- 6 Chen L, Senesi N, Schnitzer M. Information provided on humic substance by E_4/E_6 ratios. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 1977, 41:352~358.
- 7 Kyoichi kumada, Osamu sato, Yasuo obsumi et al. Humus composition of mountain soils in central Japan with special reference to the distribution of P type humic acid. Soil Sci. Plant Nutri. 1967, 13(5):151~158
- 8 王旭东.胡敏酸酒精沉淀分级及各级分特性研究.西北农业大学学报,1996,24(6):11~16
- 9 王旭东. 娄土不同层次胡敏酸组成变异的研究.西北农业大学学报,1997,25(6):97~101