

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2022.06.018

吴洪燕, 李清君, 陈士更, 等. 不同分子量腐植酸的结构特征及其对土壤镉有效性的影响. 土壤, 2022, 54(6): 1233–1239.

## 不同分子量腐植酸的结构特征及其对土壤镉有效性的影响<sup>①</sup>

吴洪燕<sup>1,2</sup>, 李清君<sup>3</sup>, 陈士更<sup>1,2</sup>, 吴钦泉<sup>1,2\*</sup>, 高斌<sup>2</sup>, 陈卫民<sup>1,2</sup>, 刘同信<sup>1,2</sup>

(1 农业部腐植酸类肥料重点实验室, 山东泰安 271600; 2 山东农大肥业科技有限公司, 山东泰安 271600; 3 山东农业大学资源与环境学院, 山东泰安 271018)

**摘要:** 为探究不同分子量腐植酸组分的结构特征, 利用褐煤粉提取腐植酸进行超滤分级, 获得 4 个不同分子量的腐植酸组分。研究发现, 分子量大于 50 kDa 和小于 1 kDa 的腐植酸分别占总腐植酸的 49.66%、47.07%, 中间两个组分占比很小; 腐植酸的理化性质和功能主要是由 1 kDa 以下的腐植酸和 50 kDa 以上的腐植酸所决定的。1 kDa 以下的腐植酸总酸性基、羧基和酚羟基官能团含量最高, 酚羟基占总酸性基的比例也较高, 腐植酸的芳香化程度、缩合度随分子量的增大而增大, 含氧官能团含量、E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> 值随分子量的增大而减少。通过盆栽试验, 探索了不同分子量腐植酸对土壤 Cd 有效性的影响, 土壤对 Cd 的吸附量随腐植酸分子量的增大而减少, 各处理均在 500 mg/L 时达到吸附平衡; 土壤 Cd 的解吸量亦随腐植酸分子量的增大而减少。小分子量腐植酸的酸性官能团丰富, 对土壤重金属的吸附络合能力更强, 可以降低土壤对 Cd 的吸持能力, 提高其移动性和生物有效性; 大分子量腐植酸则主要起吸附和固定作用, 降低重金属的移动性和生物有效性。

**关键词:** 腐植酸; 超滤分级; 土壤镉污染

**中图分类号:** S153.1 **文献标志码:** A

### Structural Characteristics of Humic Acids with Different Molecular Weights and Their Effect on Cadmium Availability in Soil

WU Hongyan<sup>1,2</sup>, LI Qingjun<sup>3</sup>, CHEN Shigeng<sup>1,2</sup>, WU Qinquan<sup>1,2\*</sup>, GAO Bin<sup>2</sup>, CHEN Weimin<sup>1,2</sup>, LIU Tongxin<sup>1,2</sup>

(1 Key Laboratory of Humic Acid Fertilizer, Ministry of Agriculture, Tai'an, Shandong 271600, China; 2 Shandong Agricultural University Fertilizer Science and Technology Co., Ltd., Tai'an, Shandong 271600, China; 3 College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

**Abstract:** To explore the structural characteristics of different molecular weight humic acid fractions, lignite powders was used to extract humic acid for ultrafiltration classification, and four humic acid fractions with different molecular weights were obtained. It is found that phytyc acid with molecular weight greater than 50 kDa and less than 1 kDa account for 49.66% and 47.07% of total phyphyic acid, respectively, and the middle two components are very little. The physicochemical properties and function of phytyc acid are mainly determined by phyphyic acid below 1 kDa and above 50 kDa. Humic acid below 1 kDa have the highest contents of total acid group, carboxyl group and phenolic hydroxyl group. Compared with carboxyl group, phenolic hydroxyl group accounts for a higher proportion of total acid group. The degrees of aromatization and condensation of humic acids are increased with the increase of molecular weight, while the content of oxygen-containing functional groups and the value of E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> are decreased with the increase of molecular weight. The pot experiment was used to study the effects of different molecular weight humic acids on Cd availability in soil. The adsorption amount of Cd is decreased with the molecular weight of humtic acid, reaching adsorption equilibrium at 500 mg/L. And the desorption of soil Cd also decreased with the increase of the molecular weight of humtic acid. Small molecular weight humic acids rich in acidic functional groups, thus have stronger adsorption and complexation abilities of soil heavy metals, thus can reduce soil Cd adsorption capacity, improve its mobility and bioavailability; while large molecular humic acids mainly acts as adsorbent and immobilization, which can reduce the mobility and plant availability of heavy metals.

**Key words:** Humic acid; Ultrafiltration classification; Cadmium pollution

①基金项目: 泰山产业领军人才工程项目(LJNY202017)资助。

\* 通讯作者(sdtawqq@sina.com)

作者简介: 吴洪燕(1989—), 女, 山东德州人, 硕士, 工程师, 主要从事腐植酸相关肥料研发与应用。E-mail: nxwhy20092277@163.com

镉(Cd)因其毒性高、迁移性强而成为重要的重金属污染物之一。据 2014 年《全国土壤污染状况调查公报》<sup>[1]</sup>显示,我国土壤重金属污染总超标率为 16.1%,其中土壤 Cd 污染物点位超标率达到 7.0%,位居榜首。目前,我国 Cd 污染耕地涉及 11 个省份共 25 个地区<sup>[2]</sup>。土壤中的 Cd 极易被作物吸收,其在影响农田作物品质与产量的同时,还会通过食物链的富集效应进一步影响人类的健康<sup>[3-4]</sup>。腐植酸是一种结构极其复杂的高分子有机混合物,含有丰富的羧基、酚羟基、羰基和甲氧基等活性含氧官能团<sup>[5]</sup>。这些基团使得腐植酸在施用到土壤中后能和 Cd<sup>2+</sup> 发生吸附、络合、螯合等反应,从而影响土壤环境中 Cd<sup>2+</sup> 的形态转化、移动性和植物有效性<sup>[6]</sup>。不同分子量腐植酸(HA)对金属离子的络合吸附能力有较大差异,其络合产物的稳定性也不同<sup>[7-8]</sup>,且对作物的促生效果差异较大<sup>[9]</sup>。本研究结合前人对腐植酸分子量分级的基础<sup>[7-9]</sup>,以褐煤为供试材料,从中分离获得 4 种不同分子量的腐植酸,通过结构表征分析来探究不同分子量腐植酸的组分及结构差异;在腐植酸及其不同组分的作用下,进行土壤对 Cd<sup>2+</sup> 的等温吸附解吸试验,明确不同分子量腐植酸对土壤 Cd 有效性的影响,为腐植酸缓解重金属污染提供理论依据和技术指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

**1.1.1 褐煤** 采用来自黑龙江黑河西岗子煤矿(127°17' E, 49°56' N)褐煤作为提取腐植酸的原料,粉碎后过 80 目筛,测定理化性质(表 1)。

表 1 供试褐煤理化性质  
Table 1 Basic chemical properties of tested lignite

水分	灰分	总腐植酸	游离腐植酸
22.52%	32.65%	55.72%	53.48%

**1.1.2 土壤** 采集无 Cd 污染的农田表层土样(0 ~ 20 cm),自然风干后过 10 目筛,保留部分土样用于吸附解析试验,其余按 4 kg/盆装入直径 22 cm 的塑料盆,制备人工 Cd 污染土壤。向盆中均匀浇灌硫酸镉溶液,Cd<sup>2+</sup>浓度为 10 mg/kg,干湿交替培养半个月后,将盆内土壤混合均匀,测定土壤基础理化性质(表 2)。

### 1.2 试验设计

**1.2.1 腐植酸分级** 将褐煤制备的腐植酸溶液(编号 H<sub>0</sub>)倒入超滤分级设备中,分别通过孔径为 50、10、1 kDa 的超滤膜,获得 4 种不同分子量的腐植酸组分:<1 kDa(编号 H<sub>1</sub>)、1 ~ 10 kDa(编号 H<sub>2</sub>)、10 ~ 50 kDa(编

号 H<sub>3</sub>)、>50 kDa(编号 H<sub>4</sub>)。将 H<sub>0</sub> ~ H<sub>4</sub> 各组分 pH 调至 8.5 ± 0.05。

表 2 供试土壤基础理化性质  
Table 2 Basic physical and chemical properties of tested soil

pH	EC (mS/cm)	全氮 (g/kg)	速效钾 (mg/kg)	有效磷 (mg/kg)	有机质 (g/kg)	全镉 (mg/kg)
6.85	0.248	1.64	142.48	11.52	24.54	10.23

注: pH 按水:土=2.5:1(V:m)的比例测定;电导率按水:土=5:1(V:m)的比例测定。

**1.2.2 吸附解吸试验** 取 6 份无 Cd 污染的土样各 100 g,分别添加 30 mg H<sub>0</sub> ~ H<sub>4</sub> 的腐植酸水溶液(以碳计,土壤质量的 0.03%),并以原土作对照(CK),分别混匀后风干备用。

吸附试验:取上述土样各 0.5 000 g,按水土比 50:1 加入以 0.01 mg/L NaNO<sub>3</sub> 溶解的不同浓度的硫酸镉溶液(50、100、200、300、400、500、600 mg/L Cd<sup>2+</sup>),以转速 180 r/min 恒温 25 °C 振荡 4 h 后静置一夜,离心取上清,采用原子吸收分光光度法测定 Cd 浓度,根据吸附平衡前后上清液 Cd 浓度差值,计算吸附量。

解吸试验:去上清液后,洗净土壤表层。在残留土壤中加入 25 ml 0.01 mg/L NaNO<sub>3</sub> 溶液,混匀,在相同条件下振荡 4 h 后静置过夜,离心 15 min 后取上清,重复两次后将上清用 0.01 mg/L NaNO<sub>3</sub> 定容至 100 ml,过滤后测定 Cd 浓度。

**1.2.3 盆栽试验** 盆栽试验于 2020 年 5 月至 2021 年 1 月在山东农大肥业科技有限公司温室大棚进行。选用直径为 20 cm 的塑料盆,装土 4 kg,设 3 个浓度梯度,分别以每盆 0.4、1.2、2.0 g(土重的 0.01%、0.03%、0.05%)添加 H<sub>0</sub> ~ H<sub>4</sub> 的腐植酸(以碳计),并以原土作对照,共 16 个处理,3 次重复,混匀后培养,分别于第 8、16、32、48 天进行土壤样品采集。

### 1.3 测定指标与方法

**1.3.1 不同分子量的腐植酸结构表征** 利用重铬酸钾容量法测定不同分子量腐植酸的碳含量,利用碱溶氯化钡沉淀电位滴定法测定总酸性基团,利用碱溶酸析醋酸钙法(常量法)测定羧基官能团。酚羟基含量为总酸性基团与羧基含量之差。

**1.3.2 紫外可见光光谱** 准确称取纯腐植酸样品 20 mg,溶于 70 ml 0.05 mol/L NaHCO<sub>3</sub> 溶液中,充分溶解后用 1% NaOH 或 0.1 mol/L HCl 调 pH 至 8.0,用 0.05 mol/L 的 NaHCO<sub>3</sub> 溶液定容至 100 ml。用上海佑科 752N 紫外可见分光光度计分别测定其在 465 nm 和 665 nm 波长下的光密度,以 0.05 mol/L NaHCO<sub>3</sub>

溶液作空白, 取 3 次测定的平均值为测定结果。

**1.3.3 傅里叶变化红外光谱(FTIR)** 称取约 0.01 g 腐植酸样品和 1 g 光谱级干燥的 KBr 置于玛瑙研钵中研磨混合均匀, 压片后利用天津中科瑞捷的 Great10 傅里叶变换红外光谱仪进行检测。测试分辨率为  $4\text{ cm}^{-1}$ ; 样品及背景扫描时间为  $32\text{ cm/s}$ , 在  $400 \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$  波数范围内记录样品的 FTIR 光谱。使用 OriginPro 8.5 校正光谱、基线, 并处理数据。

**1.3.4 土壤镉含量** 将自然风干土样磨细过筛, 测定土壤全 Cd 含量、有效态 Cd 含量。土壤全 Cd 含量采用王水回流消解原子吸收法<sup>[10]</sup>测定。土壤有效 Cd 含量采用原子吸收法<sup>[11]</sup>测定。

#### 1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2016 处理数据, OriginPro 8.5 进行绘图与分析, 运用 SPSS 21 分析相关性。

## 2 结果与分析

### 2.1 腐植酸及其各组分结构表征

**2.1.1 碳含量分析** 腐植酸各组分  $H_1 \sim H_4$  的碳含量差异较显著(表 3), 以  $H_1$  和  $H_4$  为主, 分别占比 47.07% 和 49.66%, 而  $H_2$  和  $H_3$  含量很少, 仅占 3.28%。这说明腐植酸的理化性质功能可能主要由  $H_1$  和  $H_4$  决定。

表 3 不同分子量腐植酸碳含量及比例  
Table 3 Carbon contents and proportions of humic acid with different molecular weights

组分	碳总量(g)	碳占比(%)
$H_1$	$627.27 \pm 3.07\text{ b}$	47.07
$H_2$	$12.24 \pm 0.14\text{ d}$	0.92
$H_3$	$31.44 \pm 0.31\text{ c}$	2.36
$H_4$	$661.80 \pm 2.69\text{ a}$	49.66

注: 同列数据小写字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ ), 下同。

**2.1.2 酸性含氧官能团特征** 表 4 表明, 所有组分的羧基官能团占总酸性基的比例介于 28.24% ~ 43.49%, 酚羟基官能团占总酸性基的比例为 56.51% ~ 71.76%, 可见, 酚羟基是腐植酸最主要的酸性含氧官能团。总酸性基和酚羟基官能团含量均随着分子量的增大而减少。其中,  $H_1$  的总酸性基的含量比  $H_2$ 、 $H_3$  高 48.92%、46.29%, 比  $H_4$  高 65.93%, 比  $H_0$  高 52.49%;  $H_1$  的羧基含量比  $H_2$ 、 $H_3$ 、 $H_4$  高 37.33% ~ 96.82%, 酚羟基含量高 30.08% ~ 84.04%, 所以  $H_1$  酸度最强, 活性最高。 $H_2$  和  $H_3$  的酸性官能团含量相差不大, 总酸性基含量都在 5.6 mmol/g 左右,  $H_4$  总酸性基和酚羟基含量均明显小于其他组分。

表 4 腐植酸及各组分酸性含氧官能团含量与分布  
Table 4 Contents and distributions of humic acid and oxygen-containing functional groups at different levels

组分	总酸性基含量 (mmol/g)	羧基含量 (mmol/g)	酚羟基含量 (mmol/g)	羧基占总酸性基比例 (%)	酚羟基占总酸性基比例 (%)
$H_0$	$5.43 \pm 0.14\text{ bc}$	$2.05 \pm 0.05\text{ c}$	$3.38 \pm 0.09\text{ c}$	37.75	62.25
$H_1$	$8.28 \pm 0.21\text{ a}$	$3.09 \pm 0.08\text{ a}$	$5.19 \pm 0.13\text{ a}$	37.32	62.68
$H_2$	$5.56 \pm 0.14\text{ b}$	$1.57 \pm 0.04\text{ d}$	$3.99 \pm 0.04\text{ b}$	28.24	71.76
$H_3$	$5.66 \pm 0.14\text{ b}$	$2.25 \pm 0.06\text{ b}$	$3.41 \pm 0.09\text{ c}$	39.75	60.25
$H_4$	$4.99 \pm 0.13\text{ c}$	$2.17 \pm 0.05\text{ bc}$	$2.82 \pm 0.07\text{ d}$	43.49	56.51

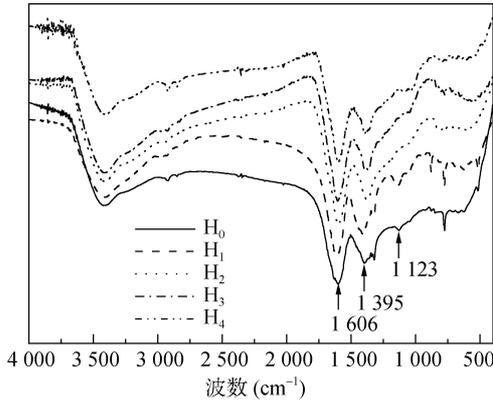
**2.1.3 紫外可见光光谱特征** 在 465 nm 和 665 nm 波长下的腐植酸溶液吸光度之比( $E_4/E_6$ )是腐植酸的一个特征性常数。褐煤腐植酸及各分级组分  $E_4/E_6$  检测结果见表 5,  $E_4/E_6$  值与腐植酸分子量大小呈明显的负相关, 腐植酸分子量越小,  $E_4/E_6$  值越大。 $H_1$  的  $E_4/E_6$  值比  $H_2$ 、 $H_3$  分别高 92%、120%, 比  $H_4$  高 177%。 $E_4/E_6$  值与腐植酸芳香化程度有关, 芳香化程度越高,  $E_4/E_6$  值越低。因此, 小分子量腐植酸的碳链芳香化程度小于中高分子腐植酸。

**2.1.4 傅里叶变化红外光谱特征** 由图 1 可知, 各样品均表现出相似的红外光谱特征:  $3\,600 \sim$

$3\,000\text{ cm}^{-1}$  处强而宽的氢键缔合  $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}$ 、 $-\text{NH}_2$  伸缩振动吸收峰, 表明  $H_0 \sim H_4$  均含有大量的氢键缔合  $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}$  和  $-\text{NH}_2$  基团;  $3\,000 \sim 2\,800\text{ cm}^{-1}$  为脂肪烃 C-H 伸缩振动吸收峰;  $1\,606\text{ cm}^{-1}$  处包括羧酸根、芳环烃的骨架振动 C=C 以及酮基共 C=O 氢键缔合的伸缩振动吸收峰;  $1\,395\text{ cm}^{-1}$  附近包括醇羟基 O-H 弯曲振动、酚羟基的 C-O 伸展振动以及脂肪烃中 C-H 弯曲振动的吸收峰;  $1\,123\text{ cm}^{-1}$  处为糖类 C-O 伸缩振动峰或羧基中 O-H 变形振动峰。这些相似的红外光谱特征都表明了不同分子量腐植酸和未分级腐植酸原液都具有类似的结构组成和官能团信息。

**表 5** 腐植酸在紫外-可见区域的 E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> 光谱特征  
**Table 5** E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> spectral characteristics of humic acid in UV-Vis region

组分	E <sub>4</sub>	E <sub>6</sub>	E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>
H <sub>0</sub>	0.753 ± 0.004 d	0.193 ± 0.001 b	3.90 ± 0.020 d
H <sub>1</sub>	0.911 ± 0.005 a	0.101 ± 0.001 d	9.02 ± 0.046 a
H <sub>2</sub>	0.856 ± 0.005 b	0.182 ± 0.001 c	4.70 ± 0.025 b
H <sub>3</sub>	0.756 ± 0.004 d	0.185 ± 0.001 c	4.09 ± 0.021 c
H <sub>4</sub>	0.772 ± 0.004 c	0.237 ± 0.002 a	3.26 ± 0.015 e



**图 1** 腐植酸及其不同组分样品的 FTIR 谱  
**Fig. 1** FTIR spectra of humic acid and its different components

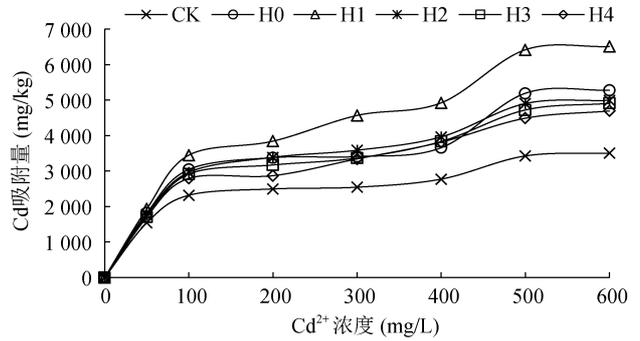
5 种腐植酸样品在某些特征吸收峰强度上存在一定差异, 说明其结构单元和官能团数量有所不同。在 3 000 ~ 2 800 cm<sup>-1</sup> 处的脂肪烃 C-H 伸缩振动吸收峰, H<sub>4</sub> 吸收峰最强, 说明 H<sub>4</sub> 含有较多的脂肪烃, 脂肪化程度较高。1 123 cm<sup>-1</sup> 处 H<sub>0</sub> 和 H<sub>1</sub> 吸收峰最明显, 其他组分几乎没有吸收峰出现, 说明腐植酸分级后, 小分子腐植酸可能含有较多的多糖 C-O 伸缩振动结构。同样在指纹区 900 ~ 600 cm<sup>-1</sup> 处 H<sub>1</sub> 及 H<sub>0</sub> 存在若干吸收振动峰, 而 H<sub>2</sub>、H<sub>3</sub>、H<sub>4</sub> 在此段波长处无吸收振动峰, 说明低分子量组分含有较多的 C-H 或 -CH<sub>2</sub>。

综上, 各腐植酸产品均含有氨基、羰基、羧基、酮基、醇羟基、酚羟基、脂肪烃等多种官能团, 但小分子量腐植酸的含氧官能团数量较多。

**2.2 腐植酸及其各组分对土壤镉有效性的影响**

**2.2.1 土壤吸附 Cd 差异** 图 2 表明, 各处理土壤 Cd 的吸附量随着 Cd<sup>2+</sup> 浓度的增加而增加, 且均呈先快速增加后缓慢上升并最终趋于平衡的趋势。在腐植酸添加量相同的前提下, 除了 H<sub>0</sub> 处理, 其他处理土壤 Cd 吸附量大小顺序均为: H<sub>1</sub>>H<sub>2</sub>>H<sub>3</sub>>H<sub>4</sub>>CK。说明 H<sub>1</sub> ~ H<sub>4</sub> 的添加均增加了土壤对 Cd 的表观吸附能力, 但不同分子量腐植酸对土壤吸附 Cd 的影响程度不同, 这可能与其结构组成不同进而影响吸附络合重

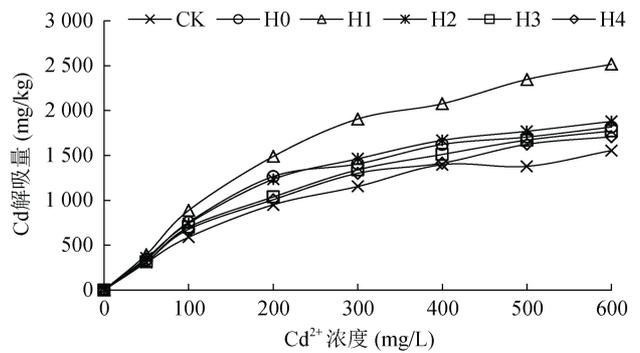
金属离子的能力有关。由图 2 可知, 各处理均在 Cd<sup>2+</sup> 浓度为 500 mol/L 达到吸附平衡, 此时 H<sub>1</sub> 处理吸附量最高, 比 CK 增加了 87.33%, H<sub>4</sub> 处理吸附量最低, 比 CK 处理增加了 31.02%。



**图 2** 添加不同分子量腐植酸对土壤 Cd 吸附量的影响  
**Fig. 2** Effects of adding humic acid with different molecular weights on Cd adsorption in soil

与 H<sub>0</sub> 相比, H<sub>1</sub> 处理对 Cd 的吸附量增加了 6.33% ~ 34.62%, H<sub>4</sub> 处理对 Cd 的吸附量降低了 1.95% ~ 15.07%。这说明腐植酸各组分中, H<sub>1</sub> 比 H<sub>4</sub> 更有利于提高土壤对 Cd 的吸附能力。

**2.2.2 土壤 Cd 解吸差异** 解吸特性与土壤对重金属的吸持能力密切相关, 解吸量会直接影响土壤与农作物中重金属的含量, 解吸率则可以反映土壤对 Cd 的吸持强度。由图 3 可知, 各处理土壤 Cd 解吸量均随 Cd<sup>2+</sup> 浓度的增加而增大。除 H<sub>0</sub> 处理外, 其他各处理土壤 Cd 解吸量大小顺序均为: H<sub>1</sub>>H<sub>2</sub>>H<sub>3</sub>>H<sub>4</sub>>CK, 与土壤 Cd 的吸附规律一致。



**图 3** 添加不同分子量腐植酸对土壤 Cd 解吸量的影响  
**Fig. 3** Effects of adding humic acid with different molecular weights on soil Cd desorption

图 4 表明, CK 处理 Cd 的解吸率随着 Cd<sup>2+</sup> 浓度增大先增大后减小的趋势; 在 300 ~ 600 mg/L 时, 其解吸率均明显高于其他处理。可见, 在高 Cd<sup>2+</sup> 水平下, 施用腐植酸能提高土壤对 Cd 的吸持强度。除 Cd<sup>2+</sup> 浓度为 600 mg/L 时, H<sub>1</sub> 处理解吸率均大于其他

处理, 比  $H_0$  高 1.20% ~ 12.34%, 比  $H_4$  高 1.07% ~ 13.67%。可见  $H_1$  处理的土壤虽然吸附能力强, 但吸持强度弱, 这可能与小分子量腐植酸聚合度、芳香化程度低有关。

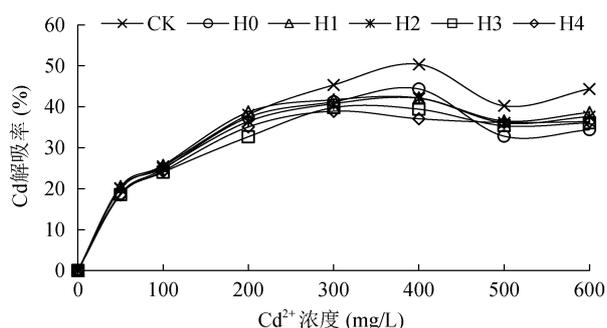


图 4 不同处理土壤 Cd 解吸率差异

Fig. 4 Differences in soil Cd desorption rates under different treatments

综上, 施用  $H_1$  使得土壤对 Cd 的吸附能力最强, 但也极大地降低了土壤对 Cd 的吸持效果, 从而提高了土壤 Cd 的移动性和有效性; 相反, 施用  $H_4$  使得土壤对 Cd 的吸附能力相对较弱, 但却增加了土壤对 Cd 的固定, 从而降低了土壤 Cd 的移动性和有效性。

**2.2.3 土壤有效 Cd 含量差异** 由图 5 可知,  $H_1$ 、 $H_2$  对土壤有效 Cd 有活化作用,  $H_1$  的活化作用更强。 $H_3$ 、 $H_4$  及  $H_0$  对土壤有效 Cd 有钝化作用,  $H_4$  的钝化作用更强。以 0.4 g/盆的腐植酸施用量为例(图 5A), 在第 8 天时,  $H_1$  处理土壤有效 Cd 含量显著高于其他处理, 比 CK 提高 14.98%;  $H_0$ 、 $H_2$ 、 $H_3$ 、 $H_4$  的土壤有效 Cd 含量分别比 CK 降低了 25.96%、6.07%、27.88%、29.04%; 其中  $H_4$  处理有效 Cd 含量最低, 为 4.04 mg/kg。自第 16 天起,  $H_2$  处理土壤有效 Cd 含量有所提高, 并高于 CK 处理,  $H_0$ 、 $H_3$ 、 $H_4$  处理的土壤有效 Cd 含量依旧显著小于 CK。

对于不同腐植酸施用量,  $H_1$  处理后施用量在 0.4 g/盆时(图 5A)活化效果最弱, 1.2 g/盆时(图 5B)活化效果最强;  $H_4$  处理在施用量 2.0 g/盆时(图 5C)对土壤 Cd 的固定作用最强, 钝化效果最好。

### 3 讨论

#### 3.1 腐植酸来源与其结构和组成的差异

不同来源腐植酸的结构与组成差异较大<sup>[12]</sup>, 甚至同一来源不同方法提取的腐植酸也相差很大<sup>[13]</sup>。本文从褐煤中提取的腐植酸的结构特征与风化煤<sup>[14]</sup>、泥炭<sup>[15]</sup>和堆肥<sup>[16]</sup>腐植酸的傅里叶红外光谱定性及定量分析结构特征类似, 表明研究所用腐植酸样品有一定的代表性。采用超滤分级获得的不同分子量腐植

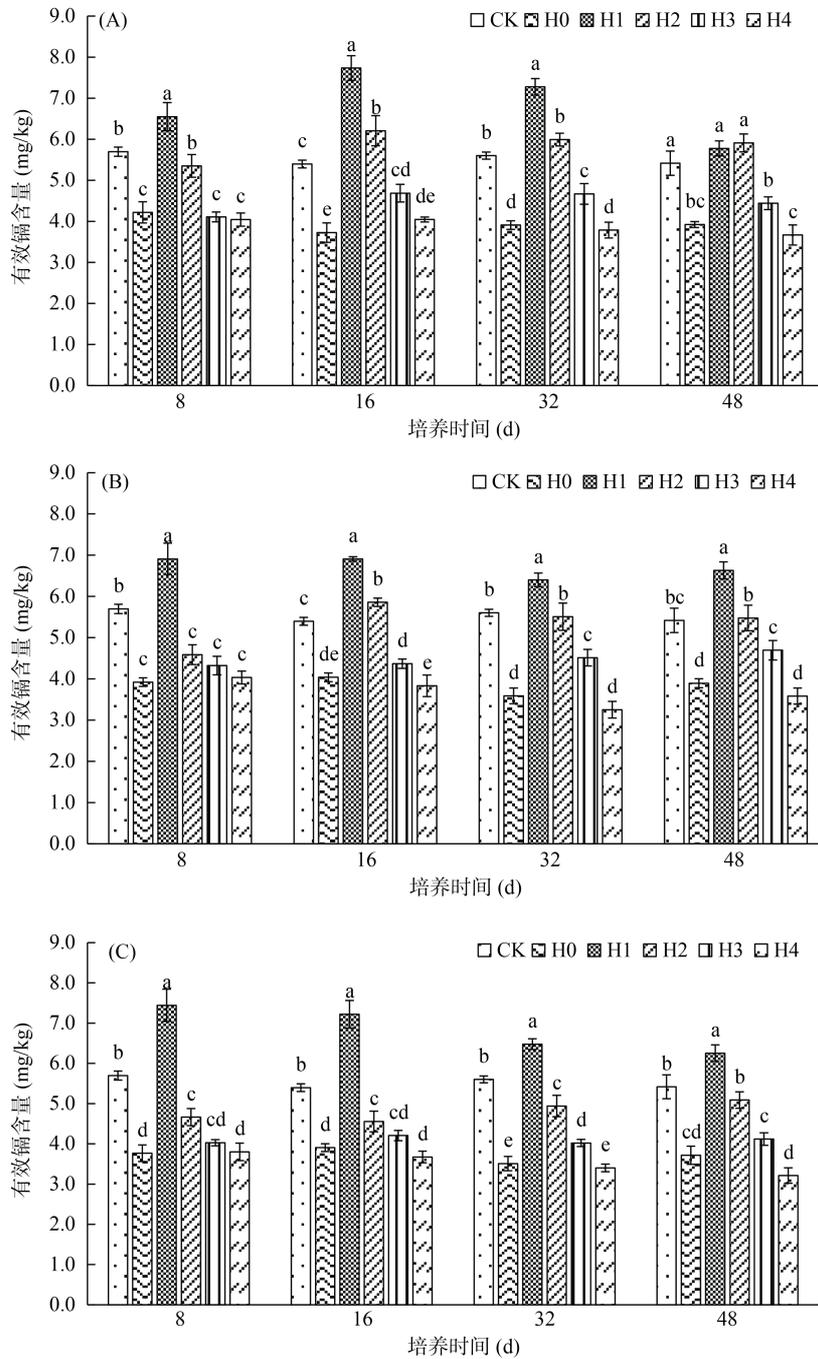
酸, 在组成和结构上也呈现出规律性的差异。 $E_4/E_6$  值通常是表征腐植酸品质或缩合度、芳香化程度的重要指标, 与其芳香性、缩合度和分子量呈负相关<sup>[17-18]</sup>。本研究中除了分子量在 1 kDa 以下的腐植酸  $E_4/E_6$  值显著大于 5, 其他组分均小于 5。表明 1 kDa 以下的腐植酸聚合度、芳香化明显比其他组分低, 更容易被降解。结合红外分析, 小分子量腐植酸分子结构中含有较多的羧基等含氧官能团, 较少脂肪结构, 因此其活性较高。

#### 3.2 腐植酸所含官能团对重金属的吸附和生物有效性

吸附、络合等作用可降低重金属的暴露风险, 或是通过氧化还原作用使变价金属转化为毒性和迁移性更小的价态, 将土壤重金属由较为活跃的形态向较为稳定的形态转化<sup>[19]</sup>。研究证明, 腐植酸含酸性官能团数量越多, 对重金属的吸附络合作用越强<sup>[20]</sup>。本研究中各分子量腐植酸均不同程度地增强了供试土壤对 Cd 的吸附作用, 但添加小分子量腐植酸 (<1 kDa) 的土壤对重金属 Cd 的吸附能力最强, 添加大分子量腐植酸 (>50 kDa) 的吸附能力最弱, 这与前人的研究结果<sup>[21-23]</sup>类似。表明小分子有机酸、腐植酸以及富里酸等含酸性官能团丰富, 对土壤重金属的吸附络合能力更强, 可以降低土壤对 Cd 的吸持能力, 提高其移动性和生物有效性。此外, 大量研究表明腐植酸对土壤重金属有钝化作用<sup>[24-26]</sup>, 但也有一些研究表明腐植酸对于土壤重金属有活化作用<sup>[27-29]</sup>。本研究中小分子量腐植酸显著提高了土壤有效 Cd 的含量, 大分子量腐植酸则明显降低了土壤有效 Cd 的含量, 且降镉率最高达到了 40.70%。这说明腐植酸影响土壤重金属的效应与机理十分复杂, 其来源及分子组成上的差异性会导致研究结果不尽一致, 因此, 对于腐植酸组成性质与结构效应的关系, 值得深入探讨。

### 4 结论

本研究发现褐煤腐植酸经超滤分级获得的分子量在 50 kDa 以上的腐植酸和分子量在 1 kDa 以下的腐植酸共占 96.73%, 对腐植酸的主要理化性质和功能起决定作用。1 kDa 以下的小分子量腐植酸含氧官能团含量显著大于其他组分, 活性较高; 此外, 腐植酸的分子量越大, 其芳香化程度、缩合度、脂构化程度越大,  $E_4/E_6$  值与含氧官能团含量越小。1 kDa 以下的小分子量腐植酸酸性含氧官能团含量丰富, 对土壤 Cd 的吸附络合能力更强, 但吸附强度较弱, 可以降



(A. 0.4 g/盆, B. 1.2 g/盆, C. 2.0 g/盆; 同一培养时间图柱上方小写字母不同表示处理间差异显著(P<0.05))

图 5 盆栽试验施用不同分子量腐植酸土壤有效 Cd 含量

Fig. 5 Available Cd contents in soils with humic acid of different molecular weights

低土壤对 Cd 的吸持能力, 提高其移动性, 对土壤 Cd 起到活化作用, 从而显著提高土壤有效 Cd 的含量。50 kDa 以上的大分子量腐植酸主要对土壤 Cd 起吸持和固定作用, 降低其移动性, 从而显著降低土壤有效 Cd 的含量, 对土壤有效 Cd 起到钝化作用。

参考文献:

[1] 全国土壤污染状况调查公报[EB/OL]. (2014-04-17).

[http://www.zhb.gov.cn/gkml/hbb/qt/2014\\_04/t20140417270670.htm](http://www.zhb.gov.cn/gkml/hbb/qt/2014_04/t20140417270670.htm).

[2] Tang X, Li Q, Wu M, et al. Review of remediation practices regarding cadmium-enriched farmland soil with particular reference to China[J]. Journal of Environmental Management, 2016, 181: 646–662.

[3] Zhu T T, Li L Y, Duan Q X, et al. Progress in our understanding of plant responses to the stress of heavy metal cadmium[J]. Plant Signaling & Behavior, 2021, 16(1): 1836884.

- [4] 赵方杰, 谢婉滢, 汪鹏. 土壤与人体健康[J]. 土壤学报, 2020, 57(1): 1–11.
- [5] 黄占斌, 张博伦, 田原宇, 等. 腐植酸在土壤改良中的研究与应用[J]. 腐植酸, 2017(5): 1–4, 25.
- [6] Xu M M, Zhao Z J, Shi M, et al. Effect of humic acid on the stabilization of cadmium in soil by coprecipitating with ferrihydrite[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(26): 27330–27337.
- [7] 牟海燕, 黄武, 万娟, 等. 不同分子量胡敏酸对蒙脱石吸附镉的影响及作用机制[J]. 工程科学与技术, 2021, 53(5): 207–213.
- [8] 李士凤, 周杨, 姚淑华, 等. 腐植酸中不同分子量组分与 As(III)的络合性能[J]. 中国环境科学, 2020, 40(10): 4395–4401.
- [9] 吴洪燕, 吴钦泉, 杨越超, 等. 不同分子量腐植酸组分对小麦幼苗和油菜生长的影响[J]. 腐植酸, 2020(6): 51–55.
- [10] 中华人民共和国农业部. 土壤质量 重金属测定 水回流消解原子吸收法: NY/T 1613—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 土壤质量有效态铅和镉的测定 原子吸收法: GB/T 23739—2009[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [12] 牛育华, 李仲谨, 郝明德, 等. 腐殖酸的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(11): 4638–4639, 4651.
- [13] 郭雅妮, 马畅柠, 惠璠, 等. 风化煤中腐殖酸的提取及其性能表征[J]. 环境工程学报, 2017, 11(5): 3153–3160.
- [14] 胡一奇, 张强, 杨治平, 等. 超声波-KOH 联合提取腐植酸工艺研究[J]. 山西农业科学, 2019, 47(2): 235–238.
- [15] Maris K, Oskars P, 韩征, 等. 雨养沼泽泥炭腐植酸的性质和结构[J]. 腐植酸, 2014(4): 53–65.
- [16] 卜贵军, 于静, 邸慧慧, 等. 红外光谱结合二维相关分析研究堆肥过程腐殖酸演化规律[J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(2): 362–366.
- [17] Pantano G, Santos A, Bisinoti M C, 等. 甘蔗栽培地沉积物中分离出的腐殖质的光谱表征[J]. 腐植酸, 2015(1): 30–32.
- [18] 陈广银, 王德汉, 吴艳, 等. 落叶堆肥过程中有机物的动态变化[J]. 华南农业大学学报, 2007, 28(2): 1–4.
- [19] 常春英, 曹浩轩, 陶亮, 等. 固化/稳定化修复后土壤重金属稳定性及再活化研究进展[J]. 土壤, 2021, 53(4): 682–691.
- [20] 李士凤, 周杨, 姚淑华, 等. 腐植酸中不同分子量组分与 As(III)的络合性能[J]. 中国环境科学, 2020, 40(10): 4395–4401.
- [21] 于波, 何江, 吕昌伟, 等. 基于水生植物分区的湖泊 DOM 与重金属离子的结合特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(12): 2343–2348.
- [22] Sun J, Yin L, Huang K, et al. Removal of cadmium from a citrate-bearing solution by floatable micro-sized garlic peel[J]. RSC Adv, 2018, 8(50): 28284–28292.
- [23] Ni L, Su L, Li S, et al. The characterization of dissolved organic matter extracted from different sources and their influence on cadmium uptake by *Microcystis aeruginosa*[J]. Environ Toxicol Chem, 2017, 36(7): 1856–1863.
- [24] 钟世霞, 徐玉新, 骆洪义, 等. 超声波活化风化煤腐植酸对小白菜吸收 Pb、Cd 和土壤酶活性影响[J]. 水土保持学报, 2012, 26(6): 185–189, 193.
- [25] 侯月卿, 赵立欣, 孟海波, 等. 生物炭和腐植酸类对猪粪堆肥重金属的钝化效果[J]. 农业工程学报, 2014, 30(11): 205–215.
- [26] 向霄. 褐煤、泥炭、草木灰组合对农田土壤中重金属的钝化效果研究[J]. 腐植酸, 2019(3): 42–47.
- [27] 柏佳, 谭长银, 曹雪莹, 等. 3 种有机酸对伴矿景天修复效率及土壤微生物数量的影响[J]. 水土保持学报, 2020, 34(2): 318–324.
- [28] 刘黄诚. 有机物对重金属污染耕地土壤的稳定化修复研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
- [29] 倪幸, 李雅倩, 白珊, 等. 活化剂联合柳树对重金属 Cd 污染土壤的修复效果研究[J]. 水土保持学报, 2019, 33(3): 365–371.