

紫色水稻土胡敏酸的形成

——稻草腐解试验

赵 光¹, 唐晓红^{1,2}, 吕家恪¹, 罗友进¹, 魏朝富¹

(1.西南大学资源环境学院, 重庆 400715; 2.四川农业大学都江堰分校城乡建设学院, 四川 都江堰 611830)

摘 要:土壤腐植酸类物质的形成是土壤固碳的重要过程,但对腐植酸类物质形成过程的了解仍不甚清楚,为了丰富土壤腐植酸类物质形成理论,采用富立叶变换红外光谱和固态交叉极化-魔角旋转¹³C-核磁共振光谱技术分析了紫色水稻土稻草腐解过程中胡敏酸的波谱学特征。结果表明,稻草腐解的前期,胡敏酸的红外光谱所有吸收峰(3 364、2 933、1 653、1 599、1 508、1 461、1 421、1 331、1 225、1 126、1 033 cm⁻¹)强度皆有明显减弱,核磁共振光谱的烷基、多羟基和芳基的共振峰明显减弱且甲氧基的共振峰显著增强,即表明提取的胡敏酸为类胡敏酸的木质素;随着腐解的进行,胡敏酸的红外光谱的吸收峰强度皆显著增强,核磁共振光谱的烷基、芳基和羰基的共振峰增强,即表明此时的胡敏酸已是以木质素残体为核心并结合烷基、酰胺以及糖类物质反应形成的高分子聚合体;稻草腐解的后期,胡敏酸的红外光谱的2 933 cm⁻¹处的吸收峰强度减弱,1 651、1 599、1 508、1 461、1 422 和 1 224 cm⁻¹处的吸收峰小幅增强,核磁共振光谱的烷基共振峰减弱,甲氧基共振峰增强,表明此时的胡敏酸发生脱烷基(主要是甲基)过程。因此,红外光谱吸收峰强度与核磁共振光谱共振峰强度的规律性变化反映了稻草腐解过程紫色水稻土胡敏酸的形成过程具有阶段性,紫色水稻土胡敏酸的形成过程符合木质素学说。

关键词:稻草; 腐解; 胡敏酸; 波谱学

中图分类号:S153.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)12-2596-07

The Formation of Humic Acids in Purple Paddy Soil-Based on Decomposition of Rice Straw

ZHAO Guang¹, TANG Xiao-hong^{1,2}, LV Jia-ke¹, LUO You-jin¹, WEI Chao-fu¹

(1.College of Resource and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2.College of Urban and Rural Construction, Dujiangyan Campus, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China)

Abstract: The formation of humic substances in soils was one important process of carbon sequestration in soil, but until now there was still no detailed understanding on this process. In this paper, spectroscopy technology (Fourier transform infrared spectroscopy, solid-state CP-MAS Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectrometry) were used to study the humic acids in purple paddy soil applied with rice straw residue, in order to enrich the formation theory of soil humic substances. In the first phases of decomposition of rice straw residue, all the FTIR spectra of humic acids absorption peaks intensities which included 3 364, 2 933, 1 653, 1 599, 1 508, 1 461, 1 421, 1 331, 1 225, 1 126 and 1 033 cm⁻¹ weakened obviously; alkyl, polyhydroxy and aryl resonance peaks of 13-C NMR spectra weakened clearly, and that the change of methoxy was opposite, which showed that extractive humic acids were a lignin like class humic acid. With the process of decomposing, all the FTIR spectra of humic acids absorption peaks intensities weakened obviously; alkyl, aryl and carbonyl resonance peaks of 13-C NMR spectra were reinforced, which showed that humic acids at this moment were polymers formed by the reaction based on lignin residues, united with alkyl compounds, amide compounds and carbohydrates. In the final of decomposition, the intensity of FTIR spectra absorption peak that absorption frequency was 2 933 cm⁻¹ of humic acids was lower, as well as the intensity of absorption peaks that absorption frequency were 1 651, 1 599, 1 508, 1 461, 1 422 and 1 224 cm⁻¹ were stronger slightly; alkyl resonance peaks of 13-C NMR spectra was flagging while methoxy resonance peaks were different, which indicated that dealkylation reaction of humic acids occurred. Therefore, the regular changes of the intensity of FTIR spectra absorption peaks and 13-C NMR spectra resonance peaks reflected the formation process of humic acids in purple paddy soil passed through three phases. And the formation process of humic acids in purple paddy soil was accorded with lignin theory.

Keywords: rice straw; decomposition; humic acids; spectroscopy

收稿日期: 2009-09-15

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2006BAD05801); 国家自然科学基金资助项目(40231016)

作者简介: 赵 光(1984—), 男, 山东烟台人, 在读硕士, 主要从事土壤有机化学的研究。E-mail: guantousun100@126.com

通讯联系人: 魏朝富 E-mail: weicf@swau.cn

农业生产过程中所产生的农作物秸秆,或被农民焚烧,或被抛弃,既浪费资源又污染环境^[1]。将作物残体腐解堆肥,或直接还田能改良土壤结构性状,提高土壤腐殖质含量和土地肥沃性,增加农作物产量^[2],更重要的是将大气中的游离的 CO_2 固定在土壤中以减少日益严重的温室气体效应^[3]。作物残体腐解转化将影响土壤腐植酸类物质结构与性质。Stevenson^[4]依据作物残体腐解的不同阶段的红外光谱,发现它们有着相同的吸收形态,只是吸收的强度有所不同。植物残体在腐解的过程中,腐殖化程度加深,烷基碳和羰基碳的含量增加,而烷氧碳含量下降,芳碳基本保持稳定^[5]。不同阶段堆肥腐解过程中胡敏酸的脂族性、酸度和主要含氧官能团不同于土壤中胡敏酸^[6]。玉米秸秆腐解的过程中,生成的胡敏酸,同土壤胡敏酸相比,糖类结构含量较高,并且以片断的形式与水解木质素残体相连,羧基含量较低,但以不同的连接方式存在着^[7]。稻草腐解过程中形成的腐植酸类物质随腐解的进行有着显著的变化^[8]。以橄榄渣与谷物秸秆废弃物为原料堆肥,其腐解产物总氮、酸性官能团和酚羟基的含量很高,这可能由于原料的高度腐殖化并形成了缩合度较高的腐植酸复合物,并且在 12 个月后其组成达到稳定^[9]。作物秸秆覆盖显著影响有机质和轻组的特征,增加土壤有机碳和轻组的含量,同时增加富里酸中脂肪族和芳香族含氧官能团的强度^[10]。但是,迄今有关腐植酸类物质的转化生成机理与合成途径的研究,学者们的观点仍存在较大的分歧^[4,11-14]。因此,本研究采用富立叶变换红外光谱和固态交叉极化-魔角旋转 ^{13}C -核磁共振光谱技术对稻草腐解过程中土壤胡敏酸的光谱学特征的动态变化进行了研究,探索腐解过程中胡敏酸的生成机理与合成途径,推动土壤腐植酸类物质的形成过程理论的研究以及碳循环的研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验土壤

供试土壤为紫色水稻土,2004 年 4 月采自重庆市北碚区西南大学试验农场。该场地处东经 $106^{\circ}26'$ 、北纬 $30^{\circ}26'$,海拔 230 m,年平均气温 18.3°C ,年平均降雨量 1 105.4 mm,土壤为中生代侏罗系沙溪庙组灰棕紫色砂泥岩母质上发育的中性紫色水稻土(简育水耕人为土),其基本理化性质为:pH 7.1;有机质 $24.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;全氮 $1.8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;全磷 $0.8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;全钾 $23.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$;碱解氮 $126.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;有效磷 $7.7\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;速效

钾 $71.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;粘粒 $144.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.1.2 培养试验

供试作物残体为成熟的水稻秸秆,其成分见表 1。将粉碎的稻草(稻秆和稻根混合)按照烘干重占烘干土重 3% 的施用量与 12 kg 土壤混合均匀后装入 20 L 的塑料桶中,并设不添加稻草和稻根的对照处理。每个处理都设 3 次重复。所有处理皆放入 25°C 恒温培养室内,并加入适量的尿素,调节 C/N 比为 20 左右,然后加入蒸馏水调节水深为 5 cm 左右。以后,每天对塑料桶内的水量通过添加自来水加以调节,每隔 45 d 取样 1 次,共计培养 135 d。

表 1 还田残体的化学组成

Table 1 Chemical composition of rice straw mulch

物料	C/%	N/%	C/N	组分(占无灰分干物质)/%				
				水溶性物质	半纤维素	纤维素	木质素	粗蛋白
稻根	45.3	1.12	40.4	5.37	29.7	26.3	17.1	7.24
稻秆	42.4	0.64	66.3	11.2	24.3	31.5	12.3	3.61

1.1.3 胡敏酸的提取纯化方法

土壤中的胡敏酸参照国际腐殖质协会(IHSS)推荐的方法进行浸提和纯化^[12]。浸提方法:将采集的土壤样品风干过 2.0 mm 筛,按 1:10(M/V)加入 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl,调至 pH 1~2,室温下振荡 1 h, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,上清液分出 FA(a)。在残留物中按 1:10(m/v)加入 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH,在 N_2 气氛下混合、振荡 4 h,静置过夜, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心,除去残渣,用 $6\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 将提取液调到 pH 为 1 左右,静置 12 h, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心,上清液分出 FA(b),沉淀部分为胡敏酸。配制 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KOH 溶液,然后向其中加入一定量的 KCl,使该溶液同时含有 $0.3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl。将上面的 HA 沉淀重新溶解于少量体积的该混合液中,并在氮气的保护下用离心机以 $7\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度离心 20 min,以去除其中含有的杂质。加 $6\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 调到 pH 为 1 左右,静置 12~16 h, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心,弃去清液,将残留的 HA 用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl+ $0.3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HF 混合液进行纯化处理振荡 16 h 左右,以去除其中含有的灰分物质。然后对经 HCl-HF 混合液处理过的 HA 在去离子水中进行渗析,直至半透膜外用 AgNO_3 溶液检查无 Cl⁻ 存在为止。随后冷冻干燥得到 HA 的粉末备用。

1.2 仪器分析方法

1.2.1 FTIR 光谱的测定

用 KBr 压片法在 BIORAD FTS-7 富立叶变换红外

光谱仪上测定。将待测有机质样品经真空冷冻干燥后,粉碎研细到小于 $2\ \mu\text{m}$,然后分别用微量或半微量天平称取土壤有机质样品和 KBr 粉末,并以样本:KBr=1:200 的比例,在玛瑙研钵中混磨后压片。分别以 $4\ 000$ 、 $2\ 000$ 和 $860\ \text{cm}^{-1}$ 处作为零吸收点,将通过 3 点的直线作为基线,进行吸收强度的测定,并加以比较。测定时,仪器的分辨率设为 $4\ \text{cm}^{-1}$ 。示差光谱的获得同参考文献。

1.2.2 ^{13}C -NMR 光谱的测定

仪器为瑞士 Bruker 公司 AV 400 型。固体 ^{13}C NMR 采用交叉极化-魔角旋转技术(CP-MAS), ^{13}C 的共振频率为 $100.57\ \text{MHz}$,魔角自旋频率为 $5\ \text{kHz}$,样品的接触时间为 $2\ \text{ms}$,循环时间为 $5\ \text{s}$,数据点为 $2\ 048$,参考标准为 $\delta_{\text{ss}}=0.00$ 。

2 结果

2.1 土壤 HA 的红外光谱

图 1 为施入稻草后 45~135 d 提取 HA 的红外光谱图。由光谱可见,施入稻草后,土壤 HA 的红外光谱的吸收峰发生变化的主要为: $3\ 364\ \text{cm}^{-1}$ (碳水化合物中的 -OH 形成的氢键的伸缩振动,也包括氨基酸中的 N-H 伸缩振动的吸收), $2\ 930\sim 2\ 950\ \text{cm}^{-1}$ (脂肪族结构中亚甲基 C-H 伸缩振动), $2\ 850\ \text{cm}^{-1}$ (CH_2 - 的伸缩振动), $1\ 652\ \text{cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动), $1\ 600\sim 1\ 630\ \text{cm}^{-1}$ (酚芳环结构中 $\text{C}=\text{C}$ 伸缩振动), $1\ 508\ \text{cm}^{-1}$ (芳环结构中 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动,氨基酸结构中 N-H 的面内弯曲振动), $1\ 461\ \text{cm}^{-1}$ (脂肪族结构中的 CH_2 、 CH_3 的对称变形振动), $1\ 421\ \text{cm}^{-1}$ (羧基中 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动), $1\ 220\sim 1\ 240\ \text{cm}^{-1}$ (酚、醚、醇、酯中 C-O 伸缩振动,O-H 面内弯曲振动,C-C 伸缩振动), $1\ 033\ \text{cm}^{-1}$ (碳水化合物和多糖结构中的 C-O 伸缩振动硅酸盐矿物中 Si-O 伸缩振动), $836\ \text{cm}^{-1}$ (碳酸盐物质)。红外光谱图各吸收峰的归属参照相关文献土壤 HA 红外光谱图^[4,15-16]。

在稻草施入土壤第 45 d 时的光谱图与初始土壤的光谱图相比,所得示差光谱图相似,在几乎所有的吸收峰 $3\ 364$ 、 $2\ 993$ 、 $1\ 653$ 、 $1\ 599$ 、 $1\ 508$ 、 $1\ 461$ 、 $1\ 421$ 、 $1\ 331$ 、 $1\ 225$ 、 $1\ 126$ 和 $1\ 033\ \text{cm}^{-1}$ 处的强度皆有明显的减弱,并且光谱图具有明显的木质素特征。在稻草施入土壤第 90 d 时的光谱图与第 45 d 的光谱图相比,在 $2\ 933$ 、 $1\ 652$ 、 $1\ 599$ 、 $1\ 508$ 和 $1\ 033\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰皆有所增强。在稻草施入土壤 135 d 时的光谱图与第 90 d 的光谱图相比,在 $2\ 933$ 、 $1\ 651$ 、 $1\ 599$ 、 $1\ 508$ 、 $1\ 461$ 、 $1\ 422$ 、 $1\ 224$ 和 $1\ 033\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰皆增强。

未施用稻草土壤 HA 的红外光谱如图 2 所示,主要的吸收带为: $3\ 362\ \text{cm}^{-1}$ (碳水化合物中的 -OH 形成的氢键伸缩振动,也包括氨基酸中 N-H 伸缩振动), $2\ 934\ \text{cm}^{-1}$ (脂肪族结构中亚甲基 C-H 伸缩振动), $1\ 655\ \text{cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动), $1\ 600\ \text{cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{C}$ 伸缩振动), $1\ 509\ \text{cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动的肩吸收), $1\ 461\ \text{cm}^{-1}$ (脂肪族结构中的 CH_2 、 CH_3 的对称变形振动), $1\ 421\ \text{cm}^{-1}$ (羧基), $1\ 224\ \text{cm}^{-1}$ (酚、醚、醇、酯中 C-O 伸缩振动,O-H 面内弯曲振动,C-C 伸缩振动), $1\ 034\ \text{cm}^{-1}$ (碳水化合物和多糖结构中的 C-O 伸缩振动,硅酸盐矿物中 Si-O 伸缩振动)。45、90 与 135 d 的红外光谱图的性状一致,各吸收峰的强度基本保持不变。

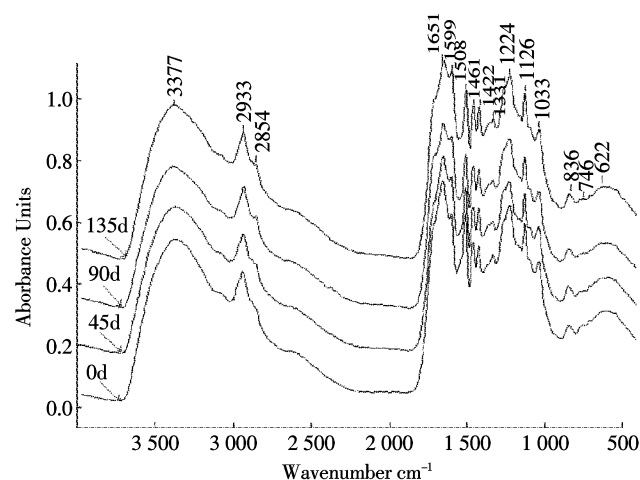


图 1 施用稻草对水稻土 HA 红外光谱的影响

Figure 1 FTIR spectra of humic acids extracted from the soil applied with straw residue

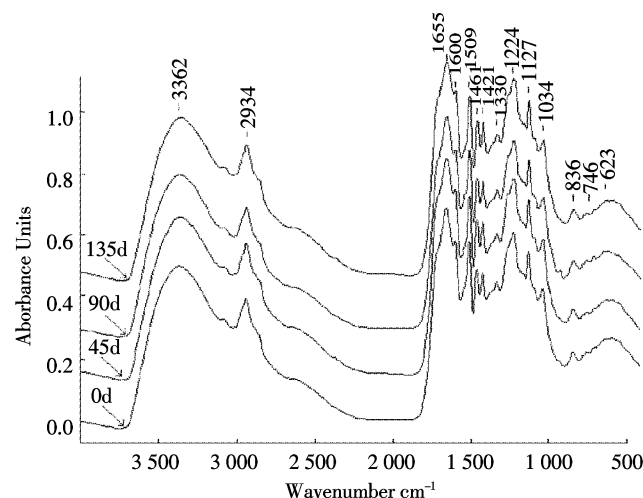


图 2 未施用稻草对水稻土 HA 红外光谱的影响

Figure 2 FTIR spectra of humic acids extracted from the soil without straw residue

2.2 土壤 HA 的核磁共振光谱

图3和图4为施用稻草后及相应的对照土壤3个不同时期所提取的HA的solid-state CP-MAS ^{13}C NMR光谱。所得光谱图按化学位移(单位为ppm)皆可清晰地区分为4个共振区域,它们分别为0~50 ppm(烷基C),50~110 ppm(烷氧C),110~160 ppm(芳香C),160~220 ppm(羧基C)。对不同的信号峰归属参照土壤HA有关文献^[11,15,17]。

施用稻草后土壤HA的solid-state CP-MAS ^{13}C

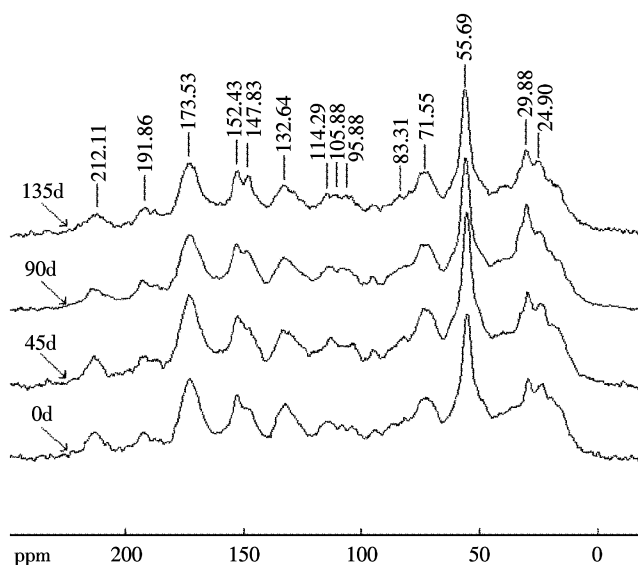


图3 施用稻草对水稻土HA Solid-state CPMAS- ^{13}C NMR的影响

Figure 3 Solid-state CP-MAS- ^{13}C NMR spectra of humic acids extracted from the soil applied with straw residue

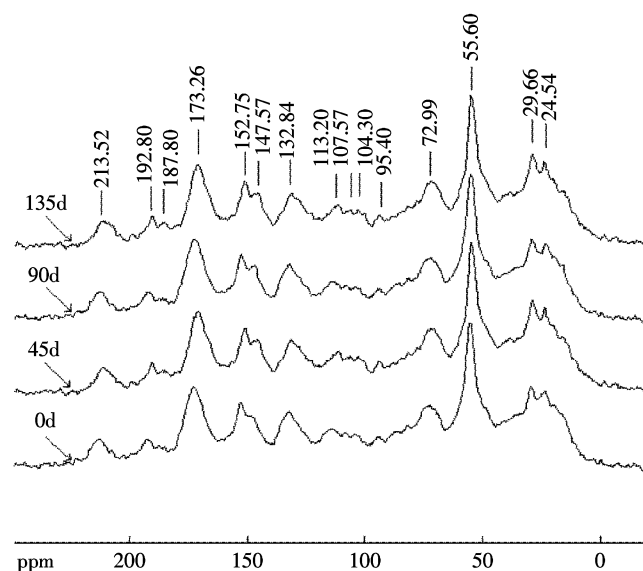


图4 未施用稻草对水稻土HA Solid-state CPMAS ^{13}C -NMR的影响

Figure 4 Solid-state CP-MAS- ^{13}C NMR spectra of humic acids extracted from the soil without straw residue

NMR光谱显示:主要的脂肪族共振峰在24、29、55、71、83、95和105 ppm,芳香碳在114、132、147和152 ppm,羧基在173 ppm,羰基在191和212 ppm左右(图3)。稻草腐解的前期,在71和83 ppm出现较强的共振峰。随着培养时间的延长,土壤HA的solid-state CP-MAS ^{13}C NMR光谱提供的信息越来越丰富。90 d时在105、147和191 ppm出较强共振峰,135 d时在147 ppm出较强共振峰。

未施用稻草土壤HA的solid-state CP-MAS ^{13}C NMR光谱显示:主要的脂肪族共振峰在24、29、55、72、95、104和107 ppm。芳香碳在113、132和152 ppm,羧基强峰在173 ppm,羰基在212 ppm附近(图4)。在整个稻草腐解的过程中,所得到的光谱形状基本相似,各共振峰的强度变化不大,但是72、147和187 ppm处的共振峰小幅持续稳步增强。

表2是由solid-state CP-MAS ^{13}C NMR光谱计算的土壤HA不同官能团碳的相对含量的变化。由表中计算结果可见,施用稻草与对照土壤提取的HA碳类型主要为烷氧碳,为34%~36%;其次为烷基碳和芳香碳,分别为21%~24%和21%~23%;含量最低的为羰基碳,仅为18%~19%。因此,培养试验土壤HA以脂肪族化合物为主,添加稻草处理为58%~59%,对照基本上都为59%。所以添加稻草影响紫色水稻土HA碳类型分布。

施用稻草后,随着腐解的进行,土壤HA的烷基碳先降低9.17%,后增加了8.96%,最后减小3.94%;烷氧碳先增加6.91%,后降低8.52%,最后增加4.58%;芳香碳含量先降低4.52%,后增加5.90%,最后基本保持稳定;羧基碳基本保持稳定,含量变化不大。其中烷氧碳变化组分主要为甲氧基碳的变化(先增加4.57%,后降低12.33%,最后增加8.06%),以及多羟基碳表现为从45 d的15.30%降低到135 d的14.17%。芳香碳中的芳基含量先减少6.83%、后增加6.18%、直至135 d含量基本不变,而O-芳基含量在从45 d到90 d时变化明显增加5.55%。羧基碳中的羧基和羰基的变化趋势相反。这与前面的分析结果基本一致。

烷基碳/烷氧碳比率常被用作腐殖化程度的指标。随着腐解的进行,甲氧基是先增加、后大幅度降低、最后又增加;烷基碳/烷氧碳比率与芳香度的变化一致,都是先大幅度增加、后急剧降低、最后又降低;极性碳比例(POC=烷基碳+O-芳基碳+羧基碳+羰基碳)与甲氧基的变化趋势相同:先急剧增加、后大幅度

降低、最后又增加。

相应的对照土壤在 135 d 中烷基碳、烷氧碳、芳香碳和羧基碳的含量都基本保持不变。但是其中烷氧碳组分中甲氧基碳含量相应增加 0.59%、0.52% 和 0.69%; 多羟基碳含量变化表现为增加 1.30%、3.43% 和 2.35%; 而双氧碳含量变化表现为降低 3.84%、5.74% 和 24.07%。芳香碳中的芳基和 O-芳基变化趋势相反,芳基含量降低 4.07%、3.92% 和 3.68%,O-芳基含量增加 1.22%、3.28% 和 2.12%;羧基碳中的羧基含量先降低 4.63%,后分别增加 1.70% 和 7.12%;羰基的含量先增加 14.03%,后分别降低 4.62% 和 4.52%。烷基碳/烷氧碳比率小幅增加,芳香度持续降低,极性碳比例持续小幅增加,这说明土壤胡敏酸的腐殖化程度稳步增加。

3 讨论

红外光谱和核磁共振光谱表明,稻草腐解的 45 d 时所提取的土壤 HA 带有明显的木质素特征,与稻草秸秆的 HA 具有很高的相似性,可以推断此时提取类胡敏酸的木质素^[8]。而稻草腐解第 90 d 时提取的 HA 红外光谱的烷基、酰胺和糖类的相应吸收峰显著增强,说明此时提取的 HA 结构中有烷基化合物成分、酰胺成分和糖类化合物,而进入到提取的 HA 结构中的烷基化合物成分、酰胺成分和糖类化合物正是在稻草的腐解过程所产生的^[9];此时的核磁共振光谱,烷基、芳基、羰基含量增加和芳香度增加,都表明在稻草腐解 90 d 时 HA 已经是以木质素残体为核心,与烷基化合物成分、酰胺成分和糖类化合物相作用形成的^[11]。在稻草腐解第 135 d 时提取的 HA 红外光谱的烷基、

羧基和酰胺的吸收峰小幅增强,说明提取的 HA 的烷基化合物、羧基和酰胺成分有小幅的增加;此时的核磁共振光谱,烷基含量减少,烷氧碳含量增加,芳香碳与羧基碳含量基本保持不变。这一现象的出现主要是由于前一腐解时期,烷基化合物成分、酰胺成分和糖类化合物等成分进入到 HA 的结构中,形成新的 HA 结构体发生脱烷基(主要是甲基)过程^[4]。该结构体的易分解成分——糖类的烷基等被微生物所分解造成的。

稻草施入土壤后,对土壤 HA 具有显著的影响,土壤胡敏酸的结构与组成具有明显的变化性。国内外针对 C₄ 植物甘蔗、玉米的秸秆在腐解过程中的变化研究比较多^[7,9,20],而针对水稻小麦等 C₃ 植物秸秆腐解的研究相对较少^[8]。但不论是 C₃ 植物,还是 C₄ 植物,其腐解的过程是极其相似的。在稻草的施入初期,主要是以秸秆 HA 为基础,腐解产物发生聚合作用形成新的 HA,并且所新形成的 HA 与秸秆 HA 有相似的光谱特征^[18]。随着时间的推移,稻草秸秆中难于分解的木质素类物质开始进入快速分解期,植物体内易于微生物分解的糖类、蛋白质、半纤维素、纤维素大部分能够比较容易地被分解成 CO₂、H₂O 和 NH₃,小部分作为微生物的代谢产物(烷基化合物成分、酰胺成分和糖类化合物)残留下来,稻草剩余的蜡、树脂和木质素则难以被分解,芳香环结构会残留下来^[11]。微生物利用这些残渣,经过长时间的反应就形成了芳香性的难分解的高分子化合物,这就是腐植酸类物质。也就是说,烷基化合物成分、酰胺化合物和碳水化合物等以分解的木质素残体为核心发生聚合作用形成新的 HA,从而使土壤 HA 光谱和波谱特征发生显著的变

表 2 稻草腐解后土壤 HA 不同官能团碳的相对含量的变化

Table 2 The relative contents of various carbon types calculated by Solid-state CP-MAS ¹³C NMR spectra of humic acids extracted from the soil applied with straw residue and without straw residue

处理	取样 时间/d	烷基碳 0~50 mg·kg ⁻¹	烷氧碳 50~110 mg·kg ⁻¹				芳香碳 110~160 mg·kg ⁻¹			羧基碳 160~200			脂肪族	烷基碳/ 烷氧碳	芳香 度 *	POC
			甲氧基 50~60 mg·kg ⁻¹	多羟基 60~100 mg·kg ⁻¹	双氧 100~110 mg·kg ⁻¹	烷氧碳 50~110 mg·kg ⁻¹	芳基 110~140 mg·kg ⁻¹	O-芳基 140~160 mg·kg ⁻¹	芳香碳 110~160 mg·kg ⁻¹	羧基 160~190 mg·kg ⁻¹	羰基 190~220 mg·kg ⁻¹	羧基碳 160~220 mg·kg ⁻¹				
			mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹				
稻草	0	24.09	17.06	13.80	4.17	35.03	13.03	9.84	22.87	12.31	5.70	18.01	59.12	0.68	27.89	62.88
	45	21.88	17.84	15.30	4.30	37.45	12.14	9.72	21.86	12.04	6.76	18.81	59.33	0.58	26.92	65.18
	90	23.84	15.64	14.34	4.28	34.26	12.89	10.26	23.15	11.17	7.58	18.75	58.10	0.70	28.49	63.26
	135	22.90	16.90	14.17	4.76	35.83	12.81	10.10	22.90	11.99	6.37	18.36	58.73	0.64	28.05	64.29
对照 CK	45	24.04	17.16	13.98	4.01	35.15	12.50	10.07	22.57	11.74	6.50	18.24	59.19	0.68	27.60	63.46
	90	24.21	17.25	14.46	3.78	35.24	12.01	10.40	22.42	11.94	6.20	18.13	59.45	0.69	27.39	63.77
	135	24.09	17.37	14.80	2.87	35.03	11.55	10.62	22.17	12.79	5.92	18.71	59.12	0.69	27.27	64.36

注: * 芳香度=芳香碳×100/(烷基碳+烷氧碳+芳香碳)。Aromaticity=(110-160)ppm×100/(1-160)ppm。

化,并具有显著的木质素特征。值得注意的是,新生成的腐植酸类物质与土壤中已存在的腐植酸类物质相比,能够被微生物利用、分解的部分较多。新生成的腐植酸类物质和土壤中已存在的腐植酸类物质中对容易被分解的那一部分再次被微生物分解,生成 CO_2 和 H_2O , 另一部分则作为微生物的代谢产物残存下来,通过聚合反应生成更难分解的化合物^[22]。此过程在土壤中不断的循环进行。正如 Inbar 等^[21]的研究结果,有机肥腐解形成 HA 的显著特征就是以木质素的残体为核心,HA 的结构中保留有明显植物残体的结构特征,本试验的研究结果也证明了这一点。

在稻田长期淹水的条件下,厌氧微生物在腐植酸的形成过程中起了非常重要的作用,植物残体的木质素未被降解木质素的霉类所消耗,改变的木质素是稻田土壤腐植酸类物质的主要贡献者。排水不良或渍水有利于胡敏酸的积累,不利于 HA 芳化度增大^[4,13]。并且在稻草腐解的过程中,最能代表木质素途径的特征是甲氧基的丢失,酚羟基暴露出来,和末端侧链氧化而形成羧基^[4]。表 2 所列的甲氧基、酚羟基和羧基含量数据阐明了稻草腐解生成胡敏酸的过程符合木质素途径。Stevenson 等^[4]也认为在排水不良土壤和潮湿沉积物(积水沼泽等)中,木质素途径可能占主要地位。

土壤 HA 和 FA 与自然界广泛存在的腐植酸类物质一样,其形成亦应该是个复杂的过程,这个过程既不可能在刚开始腐解的数个小时的时间内“高速”完成^[9],也不可能在实验室培养的几个月时间内完成。Yonebayashi 等^[23]利用 FTIR 研究了不同开垦年限的泥炭土的有机质变化,多聚糖、丹宁、半纤维素和纤维素等易分解的有机组分在开垦后 5 a 内被分解并转化为腐植酸类物质,此腐植酸类物质在随后的 10 a 内腐殖化程度不断增加,再后其腐殖化程度开始下降。稻草施入土壤后,在其腐解过程中新生成的腐植酸类物质与土壤中的无机成分相结合,形成有机无机复合物质,该物质具有了抵抗微生物分解的能力。但是有机无机复合体在整个碳循环过程中大部分最终又被分解为 CO_2 和 H_2O , 而保留在土壤中的腐植酸类物质含量与施入的稻草相比要少得多。

如何减少稻草的分解损失,并增加 HA 的生成量,增加土壤碳固定的有效率,应该是提高稻草培肥土壤效率必须要考虑的问题。如何增加土壤有机质含量这一问题,还要在以后的研究与无机黏土矿物、气候、土壤、耕作措施等因素联系考虑。

参考文献:

- [1] 孙育峰,刘应宗,丰成学,等. 农作物秸秆利用管理研究概论[J]. 中国农机化, 2009(1): 59-62.
SUN Yu-feng, LIU Ying-zong, FENG Cheng-xue, et al. Introduction of study on the management of crop residues utilization [J]. *Chinese Agricultural Mechanization*, 2009(1): 59-62.
- [2] 李小刚,崔志军,王玲英. 施用秸秆对土壤有机碳组成和结构稳定性的影响[J]. 土壤学报, 2002, 39(3): 421-428.
LI Xiao-gang, CUI Zhi-jun, WANG Ling-ying. Effect of straw on soil organic carbon constitution and structural [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(3): 421-428.
- [3] 李凤博,徐春春,周锡跃,等. 稻田生态补偿理论与模式研究[J]. 农业现代化研究, 2009, 30(1): 102-105.
LI Feng-bo, XU Chun-chun, ZHOU Xi-yue, et al. On theory and model of eco-compensation for paddy field [J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2009, 30(1): 102-105.
- [4] Stevenson F J. 腐殖质化学[M]. 北京:北京农业大学出版社, 1992.
Stevenson F J. Humus chemistry genesis, composition, reactions [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 1992.
- [5] Zibilske L M, Materon L A. Biochemical properties of decomposing cotton and corn stem and root residues[J]. *Soil Science Society of America and Journal*, 2005, 69: 378-386.
- [6] Paola Campitelli, Silvia Ceppi. Effects of composting technologies on the chemical and physicochemical properties of humic acids[J]. *Geoderma*, 2008, 144: 325-333.
- [7] 吴景贵,王明辉,万忠梅,等. 玉米秸秆腐解过程中形成胡敏酸的组成和结构研究[J]. 土壤学报, 2003, 43(3): 443-451.
WU Jing-gui, WANG Ming-hui, WAN Zhong-mei, et al. Chemical composition and structure of humic acid form composted corn stalk residue [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 43(3): 443-451.
- [8] Eneji A E, Honna T, Yamamoto S, et al. Changes in humic substances and phosphorus fractions during composting[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2003, 34(15-16): 2303-2314.
- [9] Ghita Ait Baddi, Mohamed Hafidi, Juan Cegarra, et al. Characterization of fulvic acids by elemental and spectroscopic (FTIR and ^{13}C -NMR) analyses during composting of olive mill wastes plus straw [J]. *Bioresour Technol*, 2004, 93(3): 285-290.
- [10] Ding G W, Liu X B, Herbert S, et al. Effect of cover crop management on soil organic matter [J]. *Geoderma*, 2006, 130: 229-239.
- [11] Hofrichter M, Steinbuchel A. 生物高分子 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
Hofrichter M, Steinbuchel A. Biopolymers [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004.
- [12] 成绍鑫. 腐植酸类物质概论[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
CHENG Shao Xin. Humic substances introduction [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [13] 窦森. 土壤腐殖物质形成转化及其微生物学机理研究进展[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4): 538-547.
DOU Sen. Review of formation and transformation of soil humic substance and its microbiologic mechanism [J]. *Journal of Jilin Agricultural*

- University, 2008, 30(4):538-547.
- [14] 窦 森, 李 凯, 崔俊涛, 等. 土壤腐殖物质形成转化与结构特征研究进展[J]. 土壤学报, 2008, 45(6):1145-1158.
- DOU Sen, LI Kai, CUI Jun-tao, et al. Advancement in the study on formation, transformation and structural characteristics of soil humic substances[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(6):1145-1158.
- [15] 李善祥. 腐植酸产品分析及标准[M]. 北京:化学工业出版社, 2007.
- [16] Ellerbrock R H, Gerke H H. Characterizing organic matter of soil aggregate coatings and biopores by fourier transform infrared spectroscopy[J]. *European Journal of Soil Science*, 2004, 55:219-228.
- [17] 窦 森, 华士英, 朱 涛. 土壤胡敏酸的 ^{13}C 核磁共振研究 [J]. 高等学校化学学报, 1990, 11(7):768-770.
- DOU Sen, HUA Shi-ying, ZHU Tao. ^{13}C NMR studies of humic acids from soil[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 1990, 11(7):768-770.
- [18] 吴景贵, 吕 岩, 王明辉, 等. 有机肥腐解过程的红外光谱研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(3):259-266.
- WU Jing-gui, LV Yan, WANG Ming-hui, et al. Study on decomposition of organic fertilizers by FTIR [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2004, 10(3):259-266.
- [19] 吴景贵, 王明辉, 姜亦梅, 等. 玉米秸秆还田后土壤胡敏酸变化的谱学研究[J]. 中国农业科学, 2005, 38(7):1394-1400.
- WU Jing-gui, WANG Ming-hui, JIANG Yi-mei, et al. Study on humic acids in the soil applied with corn stalk by spectroscopy measurements [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(7):1394-1400.
- [20] 王旭东, 关文玲, 殷宪强. 玉米秸秆腐解过程物质组成以及胡敏酸的动态变化[J]. 干旱地区农业研究, 2001, 19(4):11-15.
- WANG Xu-dong, GUAN Wen-ling, YIN Xian-qiang. Dynamic change of chemical composition of corn straw and humic acid during different decomposition period [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2001, 19(4):11-15.
- [21] Inber Y, Chen Y, Hadar Y. Humic substances formed during the composting of organic matter[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1990, 54:1316-1323.
- [22] 文启孝. 土壤有机质的组成形成和分解[J]. 土壤, 1984(4):1-10.
- WEN Qi-xiao. Soil organic matter composition, formation and decomposition[J]. *Soil*, 1984(4):1-10.
- [23] Yonebayashi K, Pechaypisit J, Vijarnson P, et al. Soil sci[J]. *Plant Nutr*, 1994.