

不同施肥条件土壤胡敏酸级分 变异及性质的研究*

王旭东 张一平

(西北农业大学资环系, 陕西杨陵 712100)

摘要 以17年长期定位试验土壤为材料,在研究土壤有机质氧化稳定性基础上,采用酒精沉淀分级方法,对不同施肥处理土壤胡敏酸的级分及光学性质进行了研究,并对胡敏酸及其级分的类型进行了划分。结果表明长期施用有机肥(堆肥及秸秆),土壤有机质含量明显增加,有机质的氧化稳定系数降低,土壤胡敏酸组成分布中心向高浓度酒精析出的级分偏移,颗粒小的级分比例增大;土壤胡敏酸的 E_4 、 E_6 值减小, E_4/E_6 增大。而单施化肥则有相反趋势。

壤土耕层土壤胡敏酸是由A、P和 R_p 三种类型级分所构成的混合物。施有机肥处理土壤胡敏酸以P型为主, R_p 型也占有很大比例。不施肥或长期单施化肥处理则以A型为主。土壤胡敏酸的类型与其主要级分的类型保持一致。

关键词 胡敏酸,级分变异,酒精沉淀分级,氧化稳定性,类型区分

中图分类号 S153.62

腐殖物质是一种高分子缩聚物,具有高分子所共有的多分散性,同时由于形成条件和腐解物质的多样性,它还具有高度非均质性。即使经过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^[1]。不少研究指出,不同土壤、不同施肥条件土壤胡敏酸的性质、结构、分子量等有所不同^[2,3]。多数学者从功能团、芳构化度等加以解释^[4,5],也有少数资料对土壤胡敏酸的级分进行了探讨^[1,6]。但不同施肥条件下土壤胡敏酸级分及其性状差异的研究尚未见报道。为此本文以长期定位试验土壤样品为材料,采用酒精沉淀分级法,对不同施肥条件下胡敏酸的级分变异及各级分的性质进行了初步研究,并对胡敏酸原样及其级分进行了类型区分。

1 材料和方法

1.1 供试材料

土样采自西北农业大学有机培肥长期定位试验地不同处理耕层(0—20cm)和大田粘化层(60—

* 国家教委博士点基金资助课题部分内容。

收稿日期:1996-10-15;收到修改稿日期:1997-10-27

100cm), 试验地土壤为瘠土, 小区面积为 20cm², 重复 3 次, 一年两熟, 小麦、玉米轮作。采样时定位试验已进行 17 年, 各小区施肥情况和土样基本性质见表 1、表 2。

表1 小区施肥处理(kg/ha)
Table 1 Treatments of the plots

处理 Treatment	玉米秸 Corn Straw	堆肥 Compost	尿素 Urea	过磷酸钙 Superphosphate
无肥	0	0	0	0
化肥	0	0	450	525
秸秆	23250	0	450	525
堆肥	0	41250	450	525

表2 不同处理土壤基本性质
Table 2 Basic properties of the soils under different treatments

处理 Treatment	有机质 (g/ kg) O.M.	全氮 (g/ kg) Total N	全磷 (g/ kg) Total P	pH (H ₂ O)	阳离子交换量 (c mol(+)/ kg) CEC
无肥	11.95	0.81	1.09	8.33	12.38
化肥	13.91	0.83	1.19	8.32	12.88
秸秆	17.67	1.19	1.27	8.21	13.50
堆肥	20.49	1.32	1.47	8.17	14.45

1.2 样品制备和分析方法

1.2.1 胡敏酸样品的制备 采用文启孝介绍的方法^[7], 即以定位试验土样为材料, 用盐酸脱 Ca 至无 Ca²⁺ 反应, 再用 0.1mol / L NaOH 溶液反复提取, 至碱提取液近于无色, 将所分离胡敏酸经渗析、纯化、烘干(50℃)备用。

1.2.2 胡敏酸分级 采用酒精沉淀法^[1,8], 称取胡敏酸 7.5g 溶于 1 升 0.2mol / L NaOH 溶液中, 向溶液中累加入无水酒精, 从 500ml 起, 每次累加后酒精体积分别为 500、650、850、1000、1200、1700、2200ml, 溶液中酒精浓度相应为 33.3、39.4、45.9、50.0、54.5、63.0 和 68.8%。每加一次, 静置过夜, 然后离心(7000 转 / 分), 将沉淀重新溶于 0.1mol / L NaOH 溶液中, 调节 pH 为 8, 渗析、纯化、水浴蒸干(50℃), 得到一个级分样本。每次离心后的溶液按上述体积加入无水酒精再制备第二个级分样本, 直至 7 个样本制备完毕。

1.2.3 分析方法 胡敏酸的色调系数($\Delta\log K$)和相对色度(RF)按 Kumada 法测定^[9], $\Delta\log K = \log K_{400} - \log K_{600}$, K_{400} 和 K_{600} 分别为胡敏酸钠溶液(0.1gHA / L)在波长 400、600nm 处的吸光系数。 $RF = \frac{K_{600} \times 1000}{\text{每 30ml 胡敏酸溶液消耗的 0.1mol / L KMnO}_4 \text{ ml 数}}$ 。有机质氧化稳定系数测定按袁可能所述法^[10]。

E_4 、 E_6 测定按文启孝介绍方法^[7], 样品浓度为 0.136mgHA—C / ml。

2 结果与讨论

2.1 不同施肥条件土壤有机质含量及氧化稳定性

由表 2 看出, 长期不同施肥条件下土壤有机质含量明显不同。施用有机物料(堆肥或

秸秆)可明显增加土壤有机质含量,堆肥与秸秆处理相比,堆肥效果更大。本定位试验显示,长期单施化肥,由于促进作物生长,增加根系和地上残留有机物量。与无肥处理相比,土壤有机质含量虽有所增加,而在本试验条件下,基本维持原土壤有机质水平(试前土壤有机质含量为 14g / kg)。

不同施肥处理,土壤有机质的氧化稳定性不同(见表 3)。易氧化碳含量的高低顺序是堆肥>秸秆>化肥>无肥,且变化幅度较大,堆肥处理是无肥的 2.25 倍。施有机肥也可增加难氧化有机碳的含量,但增加幅度较小。因而土壤有机质的氧化稳定系数(Kos)明显变小,易氧化碳占总碳的比例增加,难氧化碳占总碳比例下降。长期单施化肥,易氧化碳、难氧化碳的绝对数量都有所增加,但占总碳的比例以及 Kos¹⁾值与无肥处理基本一样。袁可能研究指出^[10],土壤有机质的氧化稳定性与土壤肥力呈负相关,因此长期施用有机肥不仅能增加土壤有机质含量,而且可降低土壤有机质的氧化稳定性,利于养分释放,有助于土壤肥力提高;而单施化肥,虽能基本维持土壤有机质水平,但土壤有机质的氧化稳定性并未得到明显改善。

表3 不同处理土壤有机碳含量及氧化稳定性

Table 3 Contents and oxidation stability of organic matter in soils of different treatments

处理	总碳 (g/ kg)	易氧化碳 (g/ kg)	难氧化碳 (g/ kg)	$\frac{\text{易氧化C}}{\text{总碳}} \times 100$	$\frac{\text{难氧化C}}{\text{总碳}} \times 100$	Kos
Treatment	Total C	Readily oxidizable C	Difficultly oxidizable C	$\frac{\text{Readily oxidizable C}}{\text{Total C}} \times 100$	$\frac{\text{Difficultly oxidizable C}}{\text{Total C}} \times 100$	
无肥	6.93	3.61	3.32	52.1	47.9	0.92
化肥	8.07	4.19	3.88	51.9	48.1	0.93
秸秆	10.25	6.52	3.73	63.6	36.4	0.57
堆肥	11.88	8.14	3.75	68.5	31.5	0.46

2.2 不同施肥条件土壤胡敏酸的级分变异

胡敏酸是分子量大小不等的一系列高分子缩聚物^[1,11]。酒精沉淀是根据同一缩聚物中不同分子量组分和极性等的临界沉淀点不同而进行的分级。由于酒精的脱水作用和根据相似相溶原理,在胡敏酸的碱醇体系中颗粒大、芳构化度高、结构复杂的胡敏酸以及少量长链多肽的溶解度将变小或发生絮凝而优先沉淀。随着酒精浓度增大,分子量较小,含脂肪族组分较多,链较短的多肽及含有孤立苯环的多肽也逐渐沉淀。脂肪族组分含量高、及少量与孤立苯环相连的多肽由于在酒精中溶解度最大最后仍留在酒精中^[1]。以该法对长期不同施肥条件的土壤胡敏酸进行分级,所得各级分重量分布见图 1。

图 1 显示,不同施肥处理胡敏酸的级分分布特点明显不同。各级分的重量分布大致反映了胡敏酸组成中颗粒由大到小的分布情况。无肥处理,土壤胡敏酸以级分 4 为最多,占胡敏酸原样的 40.15%,其次是级分 3 占 25.12%,其它级分所占比例较小;级分 1 到 3 累计占胡敏酸原样的 30.19%,级分 4 到 7 累计占 44.66%,7 个级分之之和占 74.85%。秸秆处理也以级分 4 为主,占胡敏酸原样的 42.43%,但和无肥相比,级分 3 明显减少(占 8.56%),级分

1) Kos = $\frac{\text{难氧化碳}}{\text{易氧化碳}}$

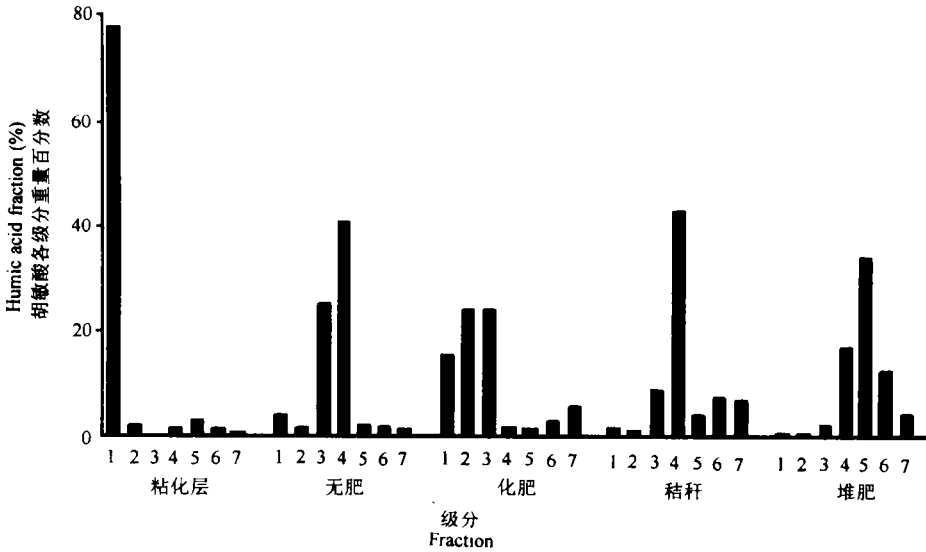


图1 不同处理土壤胡敏酸各级分重量分布(级分1到7占原样的重量百分数)

Fig.1 Weight distribution of the fractions of Humic acids extracted from the soil with different treatments (Percentage of fraction 1 to 7 in original humic acid)

5、6、7却明显增多,级分1到3累计占胡敏酸原样的11.10%,级分4到7累计占60.64%,7个级分之之和占71.74%。而堆肥处理以级分5为最多(占胡敏酸原样的33.38%),其次是级分4(占16.38%),级分6、7占有较大的比例,级分1到3累计占胡敏酸原样的3.4%,级分4到7占66.05%,7个级分之之和占69.45%。无肥、秸秆、堆肥三个处理相比,级分1到3之和所占比例大小顺序是无肥>秸秆>堆肥,而级分4到7累计所占比例大小顺序是堆肥>秸秆>无肥。因此长期施用堆肥和秸秆,胡敏酸的组成分布中心向级分数大的方向发生偏移。这说明施用有机肥后胡敏酸的脂肪性加强,芳构化度降低,分子颗粒由大变小。化肥处理,土壤胡敏酸以级分2、3居多,分别占胡敏酸原样的23.78%和23.68%,级分1的含量也占到15.03%,级分1到3累计占62.48%,级分4到7累计占10.86%,7个级分之之和占73.34%。因此,长期单施化肥,胡敏酸的组成分布中心向级分数小的方向移动。这说明长期单施化肥,胡敏酸组成中芳构化度高、颗粒大的级分比例大,胡敏酸仍保留着芳化度较高的特征。上述施用有机肥和单施化肥土壤胡敏酸性状差异与田间试验定位4年、10年所取土样运用土壤胡敏酸能态研究的结论^[12、13]相吻合,佐证了本研究结论的真实性。

为验证不同施肥条件对土壤胡敏酸组成的影响以及酒精沉淀分级法的可信性,本研究曾对垆土粘化层土壤胡敏酸进行了沉淀分级。发现粘化层土壤胡敏酸的级分1占有绝对优势(占胡敏酸原样的78.00%),其它级分含量都较少,最高不超过4%。以前研究证明^[14],粘化层土壤胡敏酸是埋藏很久、缩合度高的胡酸酸。因此,粘化层土壤胡敏酸以级分1占绝对优势的特征,一方面证实了沉淀分级方法的可信性,另一方面说明垆土耕层胡敏酸的缩合度相对较小和支持上述各施肥处理对胡敏酸不同影响的结论。

同时,各处理土壤胡敏酸酒精沉淀的总回收率(7个级分之之和)呈现无肥>化肥>秸秆>堆肥的顺序,表明胡敏酸结构愈复杂、芳构化度愈高,其总回收率也愈高。相反,随胡敏

酸结构由复杂到简单,回收率下降。说明结构简单的胡敏酸中脂肪族组含量多,能够溶于酒精的成分相应增多。

2.3 不同施肥条件土壤胡敏酸原样及其级分的光密度变化

腐殖酸的光密度取决于它们的发色基因,与其共轭双键、含氧、氮、硫功能团有密切关系^[7]。E₄(465mμ)、E₆(665mμ)以及 E₄ / E₆ 值已被许多资料成功地用来判断腐殖质芳构化程度高低和颗粒分子量的大小, E₄、E₆ 值与分子大小成正相关, E₄ / E₆ 值与分子大小成反相关^[15]。不同施肥处理土壤胡敏酸及其级分的光密度(表 4)表明,土壤胡敏酸原样的 E₄、E₆ 值呈现化肥>无肥>秸秆>堆肥的顺序,而 E₄ / E₆ 的大小顺序与此相反,这佐证了前述施用有机肥能使胡敏酸分子结构简单化,施用化肥则使胡敏酸芳构化度较高特征的结论。

表4 胡敏酸及其级分的 E₄、E₆ 及 E₄ / E₆ 比值¹⁾

Table 4 E₄, E₆ and E₄ / E₆ values of humic acid and its fractions

处理 Treatment	项目 Item	原样 Original	级 分 Fraction						
			1	2	3	4	5	6	7
无肥	E ₄	0.79	0.91	—	0.87	0.87	0.73	—	0.26
	E ₆	0.17	0.23	—	0.20	0.19	0.14	—	0.03
	E ₄ / E ₆	4.65	3.96	—	4.35	4.58	5.21	—	8.67
化肥	E ₄	0.81	0.91	—	0.88	—	0.75	—	0.27
	E ₆	0.19	0.23	—	0.21	—	0.15	—	0.03
	E ₄ / E ₆	4.26	3.96	—	4.19	—	5.00	—	9.00
秸秆	E ₄	0.71	0.99	—	0.96	0.88	—	0.43	0.32
	E ₆	0.15	0.22	—	0.21	0.19	—	0.05	0.03
	E ₄ / E ₆	4.80	4.50	—	4.57	4.63	—	8.60	10.67
堆肥	E ₄	0.71	—	0.74	—	0.60	0.69	0.35	0.26
	E ₆	0.14	—	0.17	—	0.13	0.15	0.05	0.03
	E ₄ / E ₆	5.07	—	4.35	—	4.62	4.60	7.00	8.67

1) E₄、E₆分别为465mμ、665mμ下的光密度。

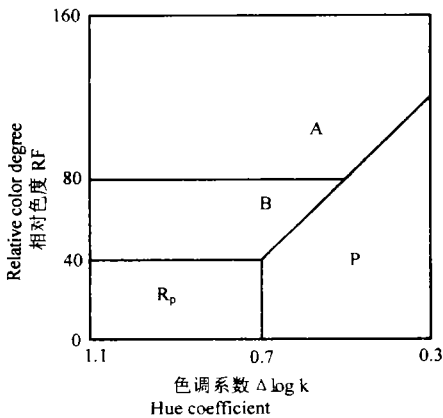


图2 胡敏酸分类坐标图
Fig.2 Coordinate picture of humic acid classification

同一处理土壤胡敏酸不同级分的光密度呈现有规律变化。从级分 1 到级分 7, E₄、E₆ 逐渐变小,而 E₄ / E₆ 值逐渐变大。说明随级分数增大,其芳构化度降低,分子复杂程度减小。

2.4 不同施肥条件土壤胡敏酸原样及其级分的类型变化

暗色是腐殖物质的重要特征之一。Kumada^[9]根据与颜色有关的指标色调系数(Δlog K)和相对色度(RF)将胡敏酸分为 A、B、P、R_p 四种类型,建立了腐殖物质分类坐标图(见图 2)。并指出从 R_p 到 B,或从 B 到 A,或 P 到 A,腐殖物质分子结构趋于复杂。长期不同施肥条件土壤胡敏酸及其级分的类型变化

表5 不同处理土壤胡敏酸原样及其各级分的类型区分

Table 5 Types of original humic acid and its fractions in soils of different treatments

处理 Treatment	项目 Item	原样 Original	组分 Fraction						
			1	2	3	4	5	6	7
无 肥	$\Delta \log K$	0.60	0.55	0.57	0.58	0.59	0.60	0.67	0.88
	RF	89	131	105	88	83	53	42	34
	类型	A	A	A	A	A	P	P	R_p
化 肥	$\Delta \log K$	0.60	0.54	0.56	0.58	0.58	0.60	0.66	0.88
	RF	92	138	107	90	86	60	45	38
	类型	A	A	A	A	A	P	P	R_p
秸 秆	$\Delta \log K$	0.68	0.60	0.60	0.61	0.62	0.64	0.77	0.87
	RF	92	123	95	86	55	49	38	29
	类型	P	A	A	A	P	P	R_p	R_p
堆 肥	$\Delta \log K$	0.67	0.59	0.60	0.61	0.63	0.64	0.88	0.96
	RF	51	121	89	82	53	45	35	27
	类型	P	A	A	A	P	P	R_p	R_p
粘化层	$\Delta \log K$	0.45	0.40	0.44	0.46	0.48	0.50	0.52	0.55
	RF	145	165	125	110	102	95	89	78
	类型	A	A	A	A	A	A	A	B

(表5)表明,无肥处理土壤胡敏酸为A型,化肥处理亦为A型,但和无肥相比, RF 有所增大。堆肥和秸秆处理使胡敏酸的 $\Delta \log K$ 值增大, RF 减小,由A型胡敏酸(无肥、化肥)转为P型。这也佐证了长期施用堆肥和秸秆使胡敏酸结构趋于简单,而单施化肥胡敏酸仍为芳化度高的A型胡敏酸。胡敏酸各级分的类型变化表明,瘠土耕层土壤胡敏酸不是由单一类型级分构成,而是由A、P和 R_p 三种类型级分构成的混合物。无肥和化肥处理,级分1到4为A型,级分5、6为P型,级分7为 R_p 型。堆肥和秸秆处理,级分1到3为A型,级分4、5为P型,级分6、7为 R_p 型。粘化层土壤胡敏酸只有级分7为B型,其它均为A型。结合各级分的重量分布(图1)可看出胡敏酸原样与其主要级分的类型保持一致,P型胡敏酸中除P型级分为主外, R_p 型级分也占相当大的比例。 R_p 型胡敏酸被认为是植物残体新形成的胡敏酸,主要存在于植物残体的腐烂物质当中,内含木质素成份较多^[1]。堆肥和秸秆处理的胡敏酸中含 R_p 型级分较多,除堆肥和秸秆更新是 R_p 型胡敏酸的直接来源外,可能还与植物生长旺盛,根系等枯枝落叶较多有关。这也说明堆肥和秸秆处理,起着有机肥更新土壤腐殖质的作用,促使胡敏酸向着芳化度较小,分子结构简单化的方向发展。

上述不同施肥处理土壤胡敏酸组成,光密度以及类型变化特征均显示,化肥、无肥处理土壤胡敏酸分子缩合度较高;腐殖化程度较大;而有机肥处理,新型的胡敏酸分子缩合度相对较小。因而前述不同施肥处理土壤有机质氧化稳定性的差异显然与此有关。施有机肥土壤胡敏酸分子缩合度较小,氧化稳定性相应减弱。

参 考 文 献

1. 卓苏能、文启孝. 胡敏酸的酒精分级沉淀法分级. 土壤学报, 1994, 31(3): 251—258
2. 罗贤安. 黄土区土壤腐殖物质的化学性质及其与成土条件的关系. 土壤学报, 1981, 18(4): 351—359
3. 窦森, 陈恩凤, 须湘成等. 施用有机肥对土壤胡敏酸结构特征的影响. 土壤学报, 1995, 32(1): 41—49
4. 窦森. 土壤有机培肥后胡敏酸结构特征变化规律探讨, I 胡敏酸的化学性质和热性质. 土壤学报, 1992, 29(2): 199—207
5. Stephen A, Boyd Lee E, Sommers Darrellw Nelson. Changes in the humic acid fraction of soil resulting from sludge application. Soil Sci. Soc. Am. J., 1980, 44: 1179—1186
6. Kyoichi Kumada, Yukio kawamura, On the fractionation of humic acids by a fractional precipitation technique. Soil Sci. plant Nutri., 1986, 14(5): 198—200
7. 文启孝编著. 土壤有机质研究法. 北京: 农业出版社, 1984, 112—123, 107—111
8. Kazutake Kyuma. A fractional precipitation technique applied to soil humic substances. Soil Sci. and Plant Nutri., 1963, 10(1): 33—35
9. Kyoichi kumada, Osamu Sato, Yasuo ohsumi 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
10. 袁可能, 张友全. 土壤腐殖质氧化稳定性的研究. 浙江农业科学, 1967(7): 345—349
11. 熊田恭一著. 土壤有机质的化学. 北京: 科学出版社, 1984, 6—7, 82—84
12. 张一平, 白锦麟, 赵高侠等. 不同施肥条件土壤胡敏酸能态的初步研究. 土壤学报, 1985, 22(1): 104—107
13. 赵高侠, 张一平, 白锦麟等. 施肥条件与年限对土壤胡敏酸能态及热分解特性的影响. 土壤学报, 1995, 32(3): 284—290
14. 白锦麟, 张一平, 赵高侠等. 陕西省几种主要土壤胡敏酸能态及热分解特性的研究. 土壤学报, 1990, 27(2): 151—157
15. Chen L, Senesi N, Schnitzer M. Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1977, 41: 352—358

VARIATIONS AND PROPERTIES OF SOIL HUMIC ACID FRACTIONS UNDER DIFFERENT FERTILIZATION CONDITION

Wang Xu-dong Zhang Yi-ping

(Northwestern Agricultural University, Shaanxi Yangling 712100)

Summary

Soil samples from a long-term spot experiment (17 years) with different treatments were used for studying the oxidation stability of soil organic matter and humic acid fractions by the alcohol precipitation technique, and the optical properties of humic acid and its fractions. Types of humic acid and its fractions were also classified.

With applying organic materials (compost or corn straw) for a long time, soil organic matter content increased obviously, its oxidation stability decreased; the distribution center of soil humic acid fractions moved to the fraction precipitated by alcohol with a high concentration, and the proportion of fractions with a smaller particle size rose; E_4 and E_6 values of humic acid decreased and E_4 / E_6 increased. Application of chemical fertilizer resulted in a contrary result.

Soil humic acid from loess soil in the cultivated horizon was a complex composed of A, P and R_p fractions. With application of organic material, the soil consisted mainly of type P though type R_p accounted for a certain proportion. In case of no fertilizer application or application with only chemical fertilizer, type A occupied a primary portion. The type of soil humic acid was the same as that of its primary fraction.

Key words Humic acid, Fraction distribution, Alcohol precipitation technique, Oxidation stability, Type classification.