

# 酸性二甲基亚砷和碱混液提取土壤胡敏酸效率及其特性的比较研究

代静玉

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

## COMPARISON STUDY ON EXTRACTION OF SOIL HUMIC ACID WITH ACIDIC DMSO AND WITH MIXTURE OF NaOH AND Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>

Dai Jingyu

(College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

关键词 胡敏酸; 酸性二甲基亚砷 (酸性 DMSO); 碱混液; 腐殖化程度

中图分类号 S153.6<sup>+</sup>22 文献标识码 A

土壤中的腐殖物质大多数是同无机成分相结合以复合体形式存在, 大部分不溶于水。为了研究腐殖物质的本质和特征, 需要将腐殖物质同无机成分分离开来。目前最常用的提取剂是 NaOH 和 Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 或其混合液。含强碱的提取剂虽具有提取效率高等优点, 但也存在提取过程中腐殖物质被氧化变性<sup>[1]</sup>, 以及一部分胡敏酸因被分解而造成低分子化<sup>[2]</sup> 的现象。山本等<sup>[3]</sup> 发现利用 NaOH 提取的腐殖物质在加热至沸腾后胡敏酸量减少, 黑色化程度 (E<sub>600</sub>) 上升。非离子性有机溶剂二甲基亚砷 (DMSO) 在酸性条件下可溶解很多种天然高分子有机物质。土壤中的腐殖物质也

能被溶解。本文采用酸性 DMSO 与碱混液 (0.1 mol · L<sup>-1</sup> NaOH Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) 两种溶液提取不同北方土壤的胡敏酸等, 通过研究胡敏酸的性质的差异来讨论酸性 DMSO 作为腐殖物质的提取剂的效果和适用范围。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试土壤

实验用土壤分别采自吉林省中西部的白浆土、草甸黑土、黑土、淡黑钙土、盐碱土和日本三重县的褐色森林土。其一般性质列于表 1。

表 1 土壤的一般性质

土壤	T <sub>C</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	T <sub>N</sub> (g kg <sup>-1</sup> )	pH (H <sub>2</sub> O)	pH (KCl)	砂 (%)	粉砂 (%)	粘土 (%)	盐基饱和度 (cmol(+) kg <sup>-1</sup> )	CEC	粘土矿物 <sup>1)</sup>
草甸黑土	18.0	1.43	6.6	6.0	40.1	30.7	29.2	101.2	21.7	Af Vt, Mi, Kt
黑土	13.2	1.18	6.2	4.9	36.4	31.3	32.1	110.6	19.9	Af Vt, Mi, Kt
白浆土	12.3	1.00	5.5	3.8	34.2	41.2	24.7	69.2	13.3	Ch/Vt, Af Vt, Mi, Kt
淡色黑钙土	7.9	0.95	8.1	7.3	70.4	14.5	15.1	348.3	11.6	Af Vt, Sm, Mi, Kt
盐碱土	6.8	0.66	9.4	7.9	85.5	6.6	8.1	751.0	4.9	Af Vt, Sn, Mi, Kt
褐色森林土	178.0	11.77	3.6	3.0	16.1	44.3	39.6	8.6	19.7	Af Int, Kt

1) Af vt: 含 Al 蛭石; Mi: 云母型粘土型矿物; Kt: 高岭石; Ch/Vt: 绿泥石蛭石中间体; Sm: 蒙脱石; Af Int: 2/1/2 L: 1 中间矿物

作者简介: 代静玉 (1965~), 男, 副教授, 博士, 主要研究领域土壤有机化学、环境化学。E-mail: daijingyu@263.net

收稿日期: 2002-09-10; 收到修改稿日期: 2003-05-20

## 1.2 胡敏酸的提取法及分析法

土壤胡敏酸采用酸性 DMSO 及  $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH-Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  混液提取。酸性 DMSO 的提取方法如下: 称取一定量的土壤, 用稀盐酸洗涤土壤 3 次, 加入  $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  的 DMSO 盐酸溶液 ( $W_{\text{土}}: W_{\text{液}} = 1: 25$ ),  $25^\circ\text{C}$  恒温振荡 16 h, 离心分离, 重复操作直至上清液无色为止。向收集的上清液中加入  $10 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$  至 pH 为 8~10 之间, 沉淀用甲醇洗去残余的 DMSO 并真空干燥除去过剩的甲醇, 即为 DMSO 提取的土壤腐殖质。胡敏酸和富里酸的分离、纯化与用  $\text{NaOH-Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  混液的提取方法相同。

胡敏酸的元素分析用元素分析仪进行分析。官能团的分析采用米林改进法<sup>[4]</sup>。糖类及氨基酸的分析用酸分解, 采用比色法定量<sup>[5]</sup>。胡敏酸中的木质素用氧化铜还原分解, 分解液经纯化后用高效液相色谱定量<sup>[6]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 两种提取剂的提取效果

在提取土壤腐殖质时, 最重要的是腐殖质的提取效率和非腐殖物质混入量即腐殖化程度问题。表 2 反映出两溶液提取的腐殖质的量和暗色化程度。从两种提取剂提取的土壤腐殖质的量可以看出, 6 种土壤均表现出酸性 DMSO 提取腐殖量少于碱混液, 减少的程度因土壤而各异。黑土减少量较低, 提取量为碱混液提取量的 80% 以上, 褐色森林土减少量较大, 约为碱混液提取量的一半。

从提取的腐殖中胡敏酸的含有率 (PQ 值) 可以看出, 酸性 DMSO 提取的腐殖物质中的胡敏酸的含有率 (PQ 值) 高于碱混液提取的腐殖物质。

表 2 酸性 DMSO 提取腐殖质的组成

土壤	有机碳	腐殖碳 <sup>1)</sup>	胡敏酸碳 <sup>2)</sup>	提取率 <sup>3)</sup>	PQ <sup>4)</sup>	$E_{600}$ <sup>5)</sup>
		(g kg <sup>-1</sup> )		(%)		
草甸黑土	18.0	9.7(0.85)	8.2(0.86)	54.0	84.8(81.3)	38.7(1.01)
黑土	13.2	6.1(0.82)	4.3(0.82)	46.4	70.5(70.3)	34.8(1.02)
白浆土	12.3	4.3(0.81)	2.8(0.87)	35.3	63.8(59.9)	29.8(1.22)
淡色黑钙土	7.9	3.2(0.82)	2.2(0.85)	40.3	67.9(64.9)	30.5(1.42)
盐碱土	6.8	1.4(0.74)	1.1(0.93)	20.9	78.2(62.2)	25.5(1.42)
褐色森林土	178.0	45.6(0.41)	29.3(0.49)	25.6	64.2(53.1)	21.8(1.22)

1) 括号中的数值为酸性 DMSO 与碱混液提取腐殖碳的比值; 2) 括号中的数值为酸性 DMSO 与碱混液提取胡敏酸碳的比值; 3) 提取腐殖酸的含碳量与土壤有机碳的比率; 4) 碱混液提取腐殖质中胡敏酸的比率; 5) 括号中的数值为酸性 DMSO 与碱混液提取胡敏酸  $E_{600}$  的比值

胡敏酸的暗色化程度是反映该土壤腐殖化程度的一项重要指标。这种暗色化程度一般采用 1% 胡敏酸的 NaOH 溶液在 600 nm 的吸光度 ( $E_{600}$  值) 来表示。从表 1 可以看出, 6 种土壤胡敏酸的  $E_{600}$  值都表现为酸性 DMSO 提取均高于碱溶液提取, 前者为后者的 1.01~1.42 倍。两提取剂提取胡敏酸量的比 (DMSO 提取胡敏酸量/碱溶液提取胡敏酸量) 在 0.49~0.93 范围内, 这就意味着能被碱溶液提取而不能被酸性 DMSO 提取的胡敏酸的  $E_{600}$  值非常低。因此可以认为用酸性 DMSO 提取的胡敏酸是暗色化程度较高的部分, 而用碱溶液提取的胡敏酸中存在着大量腐殖化程度低的腐殖质或混入较多的非腐殖

物质性成分。

### 2.2 两溶液提取胡敏酸的元素组成及官能团的组成

胡敏酸的元素组成、官能团组成是指示土壤有机质腐殖化程度的重要指标。表 3 和表 4 是两溶液提取的胡敏酸的元素组成、原子数比和官能团组成。从表 3 可以看出, 6 种土壤 DMSO 提取的胡敏酸的碳素含量在 52.2%~59.8%、氢含量在 3.0%~5.0% 范围内, 碱混液提取胡敏酸的碳素含量在 52.2%~57.0%、氢含量在 3.49%~6.02% 范围内, 与碱溶液提取的胡敏酸相比, 有 DMSO 提取胡敏酸的碳素含量较高, 而氢的含量较低的趋势, 这说明酸性 DMSO 提取胡敏酸比碱混液提取的胡敏酸不饱和程度高。

表3 酸性 DMSO 提取胡敏酸的元素组成

土壤	C	H	N	O	原子数比	
					H/C	O/C
	(%)					
草甸黑土	58.5(1.03)	3.0(0.86)	3.1(0.87)	35.5(0.98)	0.62(0.84)	0.46(0.96)
黑土	56.6(1.00)	3.5(0.95)	3.3(0.86)	36.5(1.01)	0.74(0.94)	0.48(1.00)
白浆土	59.8(1.11)	4.2(0.97)	2.8(0.64)	33.3(0.88)	0.84(0.88)	0.42(0.79)
淡色黑钙土	58.5(1.12)	4.4(0.96)	3.8(0.76)	33.3(0.88)	0.90(0.86)	0.43(0.80)
盐碱土	52.2(0.99)	4.7(0.88)	3.4(0.62)	39.8(1.09)	1.07(0.88)	0.57(1.10)
褐色森林土	53.2(0.97)	5.0(0.87)	2.3(0.65)	39.6(1.10)	1.12(0.90)	0.56(1.14)

注: 括号中的数值为酸性 DMSO 与碱混液提取胡敏酸的各项指标的比值

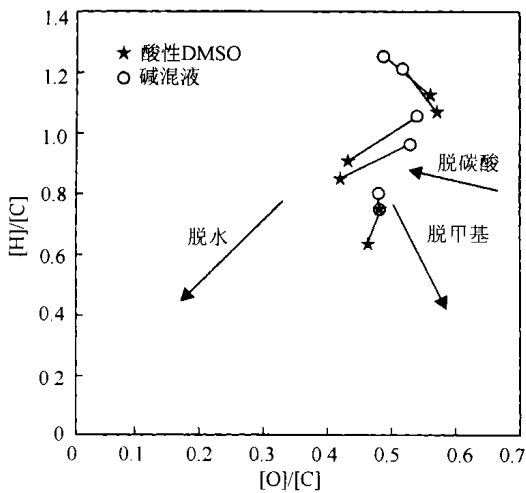


图1 两溶剂提取胡敏酸的元素组成变化及指示的反应过程

Van Krevelen<sup>[7]</sup>利用 H/C 与 O/C 原子数比间的关系, 来指示植物残体的腐殖化过程及煤炭化过程中有机物元素组成的变化。用这种方法可以将有机物质的脱水、脱甲基、脱碳酸的反应过程直线化表现出来。这种方法也同样适用于胡敏酸、富里酸的元素组成的比较(Yonebayashi<sup>[8]</sup>, Tsutsuki<sup>[9]</sup>), 图1是利用胡敏酸的 H/C 和 O/C 的原子数比的关系来表示两溶液提取胡敏酸的元素组成的差别。黑土、淡黑钙土、白浆土 DMSO 提取胡敏酸的 H/C 和 O/C 低于碱溶液提取胡敏酸, 根据图中显示的反应过程可以推断, 酸性 DMSO 与碱混液相比提取的胡敏酸中受到比较强的脱水反应的胡敏酸所占比例较大, 盐碱土、褐色森林土的酸性 DMSO 比碱溶液提取胡敏酸的 H/C 低、O/C 略高, 说明酸性 DMSO 提取的胡敏酸主要是受到脱甲基反应的部分所占比例较大。

表4 酸性 DMSO 提取胡敏酸的官能团组成

土壤	羧基	酚羟基	醇羟基
草甸黑土	6.2(0.98)	1.0(0.89)	1.3(0.25)
黑土	6.7(1.10)	0.9(0.58)	2.2(0.50)
白浆土	6.1(1.22)	1.0(0.69)	6.3(0.73)
淡色黑钙土	5.8(1.47)	1.1(0.56)	3.6(0.57)
盐碱土	4.1(1.01)	1.5(0.98)	2.4(0.37)
褐色森林土	4.0(1.06)	1.0(1.18)	6.2(0.57)

注: 括号中的数值为酸性 DMSO 与碱混液提取胡敏酸的各项指标的比值

土壤腐殖质不同于其它天然有机混合物, 它的一个重要特征是具有大量的含氧的官能团。官能团的组成、含量等在一定程度上也反映了腐殖质的腐殖化程度。从胡敏酸的羧基、酚羟基和醇羟基的含量可以看出: 酸性 DMSO 提取的胡敏酸中的羧基量是碱混液的 1.01~ 1.47 倍(除草甸黑土外), 而醇羟基量仅为 0.25~ 0.73 倍。这说明酸性 DMSO 更倾向于提取羧基较多和醇羟基较少的腐殖酸分子。这是因为酸性 DMSO 之所以能提取土壤腐殖酸是由于质子化的亚砷基与胡敏酸的羧基或酚羟基等形成氢键、腐殖酸被溶解出来从而达到提取腐殖质的目的。

### 2.3 两种溶液提取胡敏酸中的非腐殖物质性成分(糖、氨基酸、木质素)

不同溶剂提取的腐殖物质中的非腐殖性成分含量也是衡量提取剂的优劣的一个指标。表5列出了用两种溶剂提取的胡敏酸用硫酸水解得到的中性糖(五碳糖、六碳糖), 用盐酸水解得到的氨基酸及用碱/

氧化铜水解得到的酚类成分(用来表示木质素)的量。碱溶液提取的胡敏酸中的六碳糖、五碳糖的碳素量分别在 $6\sim 10.2\text{ g kg}^{-1}$ 和 $2\sim 3.5\text{ g kg}^{-1}$ 范围内,酸性 DMSO 提取的胡敏酸在 $4.8\sim 8.5\text{ g kg}^{-1}$ 和 $1.3\sim 2.4\text{ g kg}^{-1}$ 之间。除草甸黑土、黑土以外其它土壤的酸性 DMSO 提取的胡敏酸中的五碳糖、六碳糖量均低于碱溶液提取的胡敏酸,特别是褐色森林土非常明显。草甸黑土和淡色黑钙土,酸性 DMSO 提取的胡敏酸中氨基酸氮量低于碱溶液提取的胡敏

酸。同样,木质素含量低于碱溶液提取。从上述分析结果来看,与碱溶液相比酸性 DMSO 提取的胡敏酸具有非腐殖物混入少的特点。这是由于中性糖、蛋白质的天然高分子有机物质在酸性、碱性 DMSO 溶液中都具有可溶性的特征。即酸性 DMSO 提取的腐殖物质在利用加碱中和时沉淀,而非腐殖物质在碱性 DMSO 溶液中溶解,腐殖物质同非腐殖物质分离(并不是完全分离),从而能获得非腐殖物质混入少的胡敏酸。

表 5 敏酸中的中性糖、氨基酸和来源于木质素的酚类物质的含量

提取剂	土壤	六碳糖		五碳糖		氨基酸		酚类物质	
		(C, $\text{g kg}^{-1}\text{HA}$ )		(C, $\text{g kg}^{-1}\text{HA}$ )		(N, $\text{g kg}^{-1}\text{HA}$ )		(g $\text{kg}^{-1}\text{HA}$ )	
酸性 DMSO	草甸黑土	6.6	2.4	9.8	0.1				
	黑土	7.0	2.0	11.7	2.6				
	白浆土	8.5	1.3	9.0	3.3				
	淡色黑钙土	4.8	2.0	11.3	5.2				
	盐碱土	7.9	2.3	12.4	3.2				
	褐色森林土	5.8	1.6	7.3	5.5				
碱混液	草甸黑土	6.9	2.4	14.8	2.2				
	黑土	8.6	2.8	13.6	4.6				
	白浆土	8.3	2.9	20.9	6.7				
	淡色黑钙土	9.6	3.5	6.4	10.7				
	盐碱土	10.2	2.3	13.9	6.1				
	褐色森林土	8.7	2.2	24.0	7.4				

胡敏酸的脱水反应则意味着缩合,而脱甲基反应则意味着脂肪族的侧链变短。假设用酸性 DMSO 提取的胡敏酸都能被碱混液提取出来,则 6 种土壤用两种溶液提取的胡敏酸性质与土壤间的关系可以用以下的模式图(图 2)形象地表示出来。

草甸黑土、黑土用两种提取剂提取的胡敏酸均表现出,黑色化程度、缩合度高,羧基含量多,脂肪族的侧链短的特征,盐碱土、褐色森林土的胡敏酸具有黑色化程度、缩合度低,羧基含量少,酸性 DMSO 提取的胡敏酸处于脂肪族变短的阶段,淡色黑钙土、白浆土处于上述两种土壤的中间,酸性 DMSO 提取的胡敏酸属于缩合度增加的部分。

### 3 结 论

对于供试土壤,用两种溶剂提取腐殖物质、胡敏酸的提取率、1% 吸光度、元素组成、官能基组成和非腐殖性成分含量等,可以认为,与碱混液相比,酸性 DMSO 提取出来的胡敏酸具有暗色化程度高、不饱和度高、羧基含量多以及非腐殖性成分少等特征。即具有腐殖化程度高的特征,因此,这种提取法在研究有机质在土壤中的腐殖化过程以及形成的稳定胡敏酸的化学性质时,可能是一种取代碱性溶液的较好的腐殖质提取剂。

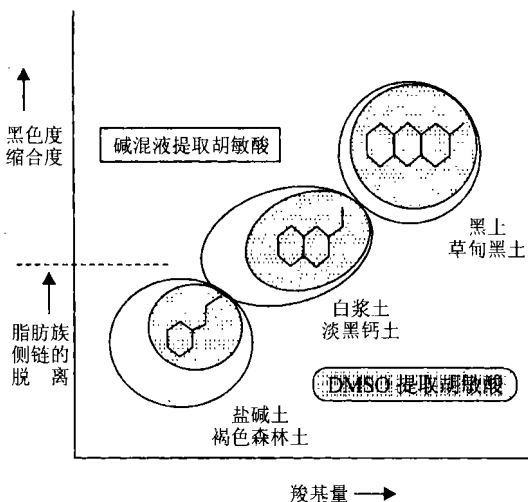


图 2 两种溶剂提取的胡敏酸性质的模拟图

## 参考文献

- [ 1 ] Bremner J.M. Some observation on the oxidation of soil organic matter in the presence of alkali. *J. Soil Sci.*, 1950, 1: 198~ 204
- [ 2 ] Swift R S, Posner A M. Autooxidation of humic acid under alkaline conditions. *J. Soil Sci.*, 1972, 23: 381~ 392
- [ 3 ] 山本定博, 本名俊正, 佐南谷信龙, 等. 抽出温度が稀水酸化ナトリウム抽出腐殖の特徴に及ぼす影响(2), 加熱処理による室温抽出腐殖の特徴変化. *ペドロジスト*, 1994, 38: 75~ 82
- [ 4 ] Yonebayashi K, Hattori T. Nonaqueous titration of functional groups in humic acid. *Org. Geochem.*, 1985, 8: 47~ 54
- [ 5 ] 小山忠四郎, 半田暢彦, 杉村行勇. 湖水-海水の分析. 東京: 讲谈社サイエンフィク, 1972. 81~ 85
- [ 6 ] Nambu K, Yonebayashi K. Role of dissolved organic layer materials in coniferous and broad leaf forests. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1999, 45: 307~ 319
- [ 7 ] Van krevelen D W. Graphical statistical method for the study of structure and reaction processes of coal. *Fuel*, 1950, 29: 269~ 284
- [ 8 ] Yonebayashi K, Hattori T. Chemical and biological studies on environmental humic acids I. Composition of elemental and functional groups of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1988, 34: 571~ 584
- [ 9 ] Tsutsuki K, Kuwatsuka S. Chemical studies on soil humic acids IV. Amino acid, phenol, and sugar composition in the acid hydrolysable fraction of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1979, 25: 29~ 38