

玉米秸秆腐解过程中形成胡敏酸的 组成和结构研究*

吴景贵 王明辉 万忠梅 姜亦梅 吴 江

(吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118)

摘 要 采用化学方法和谱学方法对玉米秸秆腐解生成胡敏酸(CCSR HA)的组成和结构进行了研究。结果表明,CCSR HA 的碳组成可分成三个部分:脂肪族碳、芳香族碳和羧基碳,它们的含量分别为 59.62%、26.94% 和 13.44%。CCSR HA 主要的官能团包括羟基、烷基、羧基、酰胺基、苯环、烷氧基及碳水化合物结构,木质素残体是其骨架,碳水化合物结构或糖类结构及烷基片段是其主要组成单元。其类型属于 R_p 型胡敏酸。未腐解的玉米秸秆本身就含有类胡敏酸物质(OCSR HA),OCSR HA 和 CCSR HA 的官能团组成上有一定差异,后者结构中,甲基、亚甲基、次甲基、醚键官能团和酚羟基的含量降低,而酰胺成分、游离的羧基、甲氧基、碳水化合物组分相对含量升高,脂族性升高,芳香性降低,芳香度由初始的 42.19 降至腐解后的 29.97,并且与无机物质的结合能力增强。就元素组成的变化看,CCSR HA 中 C 和 H 元素的含量趋于降低,而 N 和 O 元素的含量趋于升高。CCSR HA 同土壤胡敏酸相比,糖类结构含量较高,并且以片段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。

关键词 玉米秸秆; 胡敏酸; 腐解过程; 组成和结构

中图分类号 S153.6 文献标识码 A

玉米秸秆和根茬还田作为一项重要的有机培肥技术措施已在许多地区得到推广^[1,2]。研究已经证明,玉米植株残体施入土壤后,能显著提高土壤中各种酶的活性,增加土壤中松结合态腐殖质的含量以及改善一系列土壤的物理和化学性质^[2,3]。然而,由于玉米植株残体在土壤中分解、转化的复杂性,到目前为止,对于玉米植株残体培肥土壤的机制还不完全清楚。胡敏酸和富里酸是一类高分子有机物,是土壤有机质的一个重要组分,是影响土壤肥力状况的主要因素,它的结构性质与土壤形成和肥力特性有密切的关系。因此,研究玉米残体分解过程中形成的胡敏酸和富里酸类物质的结构特征对揭示玉米植株残体培肥土壤的机理将具有重要的意义。吴景贵等已经对玉米秸秆腐解形成的富里酸进行了表征^[4],本试验应用¹H 和¹³C 核磁共振波谱及傅立叶变换红外光谱等谱学方法对玉米秸秆腐解过程中形成胡敏酸的结构进行了研究,旨在为玉米植株残体培肥土壤的机制研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 培养实验

供试的作物残体为成熟玉米植株残体的秸秆,包括茎秆和叶片,按照 Goering 的分析方法^[5]对其进行了化学成分分析,结果为:半纤维素 258.7 g kg⁻¹,纤维素 375.3 g kg⁻¹,木质素 83.8 g kg⁻¹,中性洗涤剂溶解物 250.4 g kg⁻¹,灰分 82.3 g kg⁻¹,C 423.2 g kg⁻¹,H 47.3 g kg⁻¹,N 8.6 g kg⁻¹。将玉米秸秆在鼓风干燥箱中于 75℃ 的温度下干至恒重,然后粉碎过 250 μm 筛。取 2.5 kg 粉碎后的玉米秸秆,放入 20 L 的大塑料桶中,同时加入一定量的尿素将有机物料的碳氮比调节至 20,然后用自来水将桶中有机物料的湿度调节至 60% 左右。设 5 次重复,所有处理皆放置于温室中培养 6 个月。对有机物料的湿度每周调节 2 次,并每隔 30 d 取样 1 次。

* 国家自然科学基金项目(40001012)、吉林省杰出青年基金项目(2002-4-20-17)、吉林省科技厅基础研究课题(吉合字第 20000564)和国家留学基金委项目(22822018)资助

作者简介:吴景贵(1966-),男,吉林舒兰人,教授,博士,博士生导师。主要从事土壤有机培肥及土壤化学研究。E-mail: jgwu68@sohu.com

收稿日期:2005-01-31;收到修改稿日期:2005-07-01

1.2 胡敏酸的提取和纯化

胡敏酸的提取采用 IHSS 方法^[6]。取相当于干重 250 g 的玉米秸秆腐解物放入容积为 10 L 的小口玻璃瓶中,同时加入 6.0 L 的 0.5 mol L^{-1} NaOH,将瓶中充入氮气封盖,然后在室温(约 25°C)于氮气的保护下振荡 24 h。将振荡后的液固混合物用离心机以 $4\,000 \text{ r min}^{-1}$ 的速度离心 15 min。离心出的固体残体依旧按上述的步骤用 $0.5 \text{ L } 0.5 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH 浸提,如此共浸提 5 次。将离心得到的所有上清液合并。用 6 mol L^{-1} HCl 将溶液的酸度调节至 pH1,在室温下放置 24 h。用离心法将上清液的富里酸与沉淀的胡敏酸分离开。得到的胡敏酸采用电渗析法纯化^[2],至无 Cl^- 为止。后将胡敏酸冷冻干燥备用。

1.3 FTIR 光谱和 NMR 波谱的测定

用 KBr 压片法在 Bio-RAD FTS-7 傅立叶变换红外光谱仪上测定。 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 波谱在 Varian UNITY 400 核磁共振仪上测定。以 5 次重复的混合样测定。

1.4 元素分析

采用意大利产的 MOD 1106 型元素分析仪进行分析。将冷冻干燥制备的 HA 直接进样分析,其中 C、H、N 元素含量为实测值,O 元素含量采用差减法计算获得。灰分的测定采用干灰化法(550°C , 2 h)。元素和有机组分的分析,按 5 次重复测定,计算平均值。

1.5 数据处理

采用 SAS 软件(SAS Proc Mixed, SAS Institute, 1997)进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 玉米秸秆腐解过程中胡敏酸含量及元素和官能团组成的动态变化

由图 1 可见,未腐解的玉米秸秆中,含有胡敏酸类物质(OCSR HA),并且玉米秸秆腐解过程中浸提胡敏酸(CCSR HA)的绝对含量增加。未腐解的玉米秸秆中,OCSR HA 的含量为 27 g kg^{-1} ,而腐解 180 d 后 CCSR HA 含量达到 278 g kg^{-1} 。由此可见,在玉米秸秆腐解的过程中,有大量的胡敏酸类物质生成,生成量变化最大的时期亦在腐解后的 60 d 内。75 d 后形成的速度慢慢下降。

对 CCSR HA 元素含量的动态变化分析表明(表 1),在腐解过程中 CCSR HA 元素组成略有变化,从变化的趋势看,随着腐解的进行,CCSR HA 中 C 和 H 元素的含量趋于降低,而 N 和 O 元素的含量趋于升高,这与玉米植株残体腐解过程中的元素变化是相一致的^[7]。

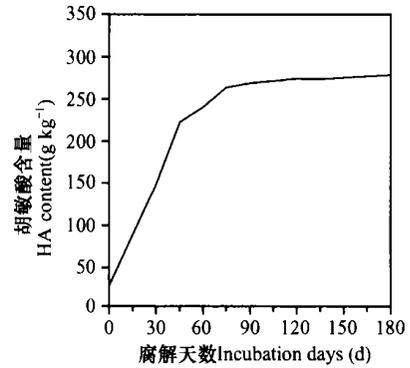


图 1 玉米秸秆残体腐解过程中胡敏酸含量的变化
(胡敏酸含量以玉米秸秆的原始重量计算)

Fig. 1 Changes of HA content extracted from composted corn stalk during composting process
(HA content was calculated by original com stalk weight)

从不同时期腐解的玉米秸秆中提取的 CCSR HA 平均 C 的含量为 571.9 g kg^{-1} (见表 1),显著高于土壤胡敏酸的含量(562 g kg^{-1})^[8],但却低于从泥炭中提取的胡敏酸 C 的含量($580\sim 590 \text{ g kg}^{-1}$)^[9]。H 和 N 元素的平均值也同 C 一样,亦皆高于土壤胡敏酸的平均值,但 O 元素的含量却低于土壤胡敏酸含量,这表明 CCSR HA 的氧化程度较低。

按照 Kumada 对胡敏酸的划分^[10],从“老”到“年轻”胡敏酸可分为 A、B、P 和 R_p 四个类型, A 型是最老的胡敏酸,它的 E₄/E₆ 比最低,而 R_p 型的 E₄/E₆ 比最高。换句话说,胡敏酸越老,它的芳香性越高,脂族性越弱,而越年轻芳香性越低,脂族性越强。因此,胡敏酸的老与年轻,也可以通过胡敏酸芳香度的高低进行区分。研究已经证明,土壤中年轻胡敏酸的增多,大大增强了土壤有机质的活性,并显著改善了一系列土壤的物理和化学性质^[1,2]。

不同的胡敏酸类型可用 H/C 与 O/H 的比值图区分出来^[10]。从表 1 可见,CCSR HA 的 H/C、O/C 和 O/H 比值平均分别为 1.17、0.44 和 0.36,所对应的区域是 R_p 型胡敏酸(H/C = 1.1~1.4, O/C = 0.35~0.50 或 H/C = 1.0~1.3, O/H = 0.3~0.5)^[10],表明玉米秸秆腐解形成的胡敏酸很“年轻”。

CCSR HA 与土壤胡敏酸的主要差异存在于官能团的组成上。土壤胡敏酸的总酸度、酚羟基和羧基的含量一般分别在 $5.6\sim 8.9$ 、 $1.5\sim 5.7$ 、 $2.1\sim 5.7 \text{ mol kg}^{-1}$ 的范围内^[8,9]。而 CCSR HA 的总酸度、酚羟基和羧基的平均含量分别为 3.52 、 1.24 和 2.09 mol kg^{-1} 。同土壤胡

表 1 玉米秸秆腐解过程中形成胡敏酸的元素组成及官能团(不含灰分和水分)

Table 1 Elemental components, atomic ratios and functional group contents of humic acids (HA) extracted from corn stalk residue at various stages of the composting process (ash and water exclusive)

胡敏酸来源 Origin of HA	腐解天数 Incubation days(d)	C H N O				摩尔比 Atomic ratio				COOH	酚 OH Phenol OH	酸度 Acidity
		—(g kg ⁻¹)—				H/C	O/C	N/C	O/H			
玉米秸秆腐解 HA	0	574.1	57.5	38.9	329.5	1.2	0.43	0.058	0.35	1.87	1.23	3.27
HA from composted	30	573.8	57.3	40.8	328.1	1.19	0.43	0.061	0.36	1.96	1.20	3.52
com stalk	60	572.2	57.0	41.1	329.7	1.16	0.44	0.062	0.36	2.31	1.16	3.58
	120	570.3	57.0	41.2	331.5	1.14	0.44	0.062	0.36	2.21	1.14	3.59
	180	569.0	56.8	42.6	332.5	1.14	0.44	0.063	0.37	2.26	1.02	3.63
土壤 HA ^[8]		562	47	32	355	1.00	0.47	0.05	0.47	3.60	3.90	6.70
HA from soil												
畜粪 HA ^[9]		582	55	38	309	1.14	0.40	0.06	0.36	2.04	1.29	3.33
HA from manure												

敏酸相比,CCSR HA 含有的含氧官能团较少,总酸度亦较低,这些官能团的含量值与有机废弃垃圾和畜粪腐解过程中新形成的胡敏酸的数值相似,尤其与牲畜粪便的纤维组分腐解形成的胡敏酸的数值非常接近^[9](表 1)。由此可见,含氧官能团的含量较低是玉米秸秆腐解形成胡敏酸的特征。随着玉米秸秆的腐解,CCSR HA 中羧基的含量从 1.87 mol kg⁻¹增加到 2.26 mol kg⁻¹,酚羟基的含量从 1.23 mol kg⁻¹减少到 1.02 mol kg⁻¹。总酸度也从 3.27 mol kg⁻¹增加到了 3.63 mol kg⁻¹。

2.2 玉米秸秆腐解过程中形成胡敏酸的粗纤维组分的动态变化

表 2 列出了从未腐解的玉米秸秆提取的胡敏酸(OCSR HA)和腐解 180 d 后的玉米秸秆中所提取的CCSR HA 的粗纤维组分的分析结果。由表 2 可见,CCSR HA 中纤维素成分所占比例较低,而主要是木质素成分和酸溶性有机成分,酸溶性有机成分中主要为蛋白质和糖类化合物结构单元等^[9]。CCSR HA 中酸溶性有机成分与 OCSR HA 相比显著降低,从原来的 43.7% 下降到了 32.9%,下降幅度为 24.71%,木质素成分则由初始的 51.6% 增加到 62.1%,增加的幅度也达到了 20% 以上。由此可见,CCSR HA 中,木质素结构是其主要的组成部分。纤维素组分平均含量下降幅度虽然也达到了 21.74%,但其含量仍接近 2% 左右,并且差异不显著。在采用完全相同的提取和纯化方法的前提下,CCSR HA 灰分的含量增加明显。这表明新形成的胡敏酸与无机杂质的结合能力增强了。当这类物质施入土壤后,将更有利于土壤有机无机复合体的形成。

表 2 玉米秸秆腐解过程中形成胡敏酸的粗纤维组分¹⁾

Table 2 Crude fiber components of humic acids extracted from com stalk residue during a 180 day composting process(%)

有机组分 Organic component	不同腐解天数胡敏酸粗纤维组分 Crude fiber components of humic acids at different composting stages		增减幅度 Reduce or increase (%)
	0 d	180 d	
酸溶性有机质 Acid soluble organic matter	43.7a	32.9b	- 24.71
纤维素 Cellulose	2.3a	1.8a	- 21.74
木质素 Lignin	51.6a	62.1b	+ 20.35
灰分 Ash	2.4a	3.2b	+ 33.33

1) 表中不同时期相同组分的字母不同表明二者差异达显著水平($\alpha = 0.05, n = 4$)。In any row, letter superscripts following the data mean significance level in difference ($\alpha = 0.05, n = 4$)

2.3 玉米秸秆腐解过程中形成胡敏酸的红外光谱

从红外光谱可见,OCSR HA 和 CCSR HA 表现出相似的红外特征,这表明玉米秸秆腐解过程中,组成胡敏酸的基本结构单元无大的变化。但一些吸收峰相对强度却出现了差异(图 2),说明这些结构单元含量发生了改变。红外光谱的归属参见文献[9, 11, 12]。470~ 475 cm⁻¹处吸收峰是由 Si-O 变形振动引起,由于玉米秸秆浸提的胡敏酸(CSR HA)中无机硅酸盐灰分的含量在整个腐解过程中无大的变化,因此,将该处的吸收峰作为参比峰。

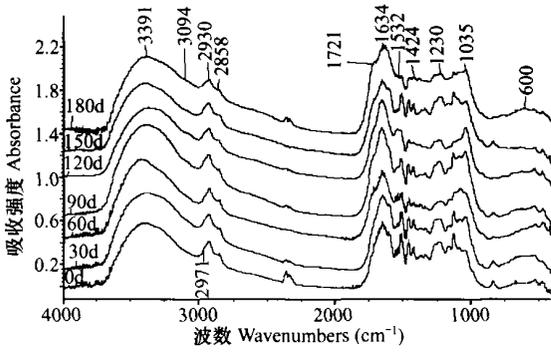


图2 玉米秸秆残体不同腐解时期所提胡敏酸的红外光谱

Fig. 2 Fourier transform infrared spectra of humic acids extracted from corn stalk residue at various stages of the composting process

3 080~ 3 300 cm^{-1} 处吸收带的相对强度增大,其主要是由游离和缔合的酰胺结构中 N-H 的伸缩振动产生,同时,在 1 648 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$)、1 599 cm^{-1} ($\delta\text{N-H}$) 和 1 228 cm^{-1} (C-N) 处的吸收峰的强度皆增加,而这三个吸收峰分别为酰胺 I 带、酰胺 II 带和酰胺 II 带。这表明,随着玉米秸秆残体腐解,形成的 CCSR HA 中酰胺成分增加,元素分析中 N 含量的增加也证明了这一点。2 930 cm^{-1} 处吸收峰归属于 -CH_2 基团 C-H 反对称伸缩振动,2 858 cm^{-1} 处肩峰是由碳甲基及次甲基基团中的 C-H 对称伸缩振动引起,1 460 cm^{-1} 处的吸收峰是由甲基中对称变形振动而引起。随着腐解的进行,所生成的 CCSR HA 在 2 930 cm^{-1} 、2 858 cm^{-1} 以及 1 460 cm^{-1} 处的吸收峰强度均降低,表明 CCSR HA 结构中甲基、亚甲基和次甲基均下降。

随着腐解进行,1 720~ 1 731 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$) 处肩峰吸收强度增加,表明 CCSR HA 中游离羧基增加,这与前面化学分析结果相一致。1 424 cm^{-1} 处吸收峰相对强度也有所增强,其是羧酸盐或以分子内氢键缔合形式存在的羧基增加的标志,而 1 634 cm^{-1} 处吸收峰的增加也与之相符,也就是说,羧酸盐含量的增加也是导致 1 634 cm^{-1} 处吸收峰相对强度增加的一个原因。将玉米秸秆腐解 180 d 后所提取的 CCSR HA 用稀盐酸进行洗涤,然后用去离子水冲洗并进行透析后得到的胡敏酸在 1 720 cm^{-1} 处的吸收峰显著增强(图 3),而相应 1 649 和 1 424 cm^{-1} 处吸收强度降低,证明了上面谱峰归属是正确的。同时,1 500 cm^{-1} 处吸收强度的降低,表明在 CCSR HA 再进行水解过程中有酰胺类化合物产生。这也说明,CCSR HA 中的一些分子处于亚稳定状态。另外,酸

洗后的 CCSR HA 的红外光谱中,1 605 cm^{-1} 处的吸收强度有所增加,这是由于胡敏酸水解后,一些脂肪族成分从胡敏酸分子中脱离出去,从而使胡敏酸中的芳香成分相对含量升高的缘故。

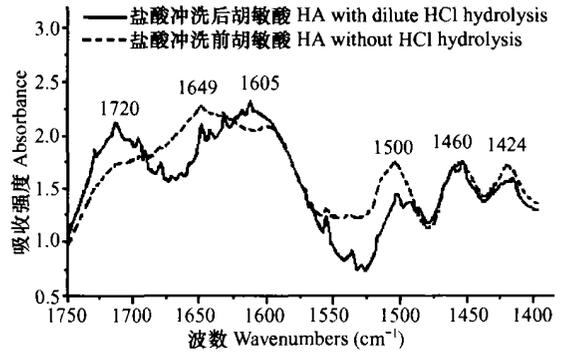


图3 玉米秸秆腐解 180 d 提取的 CCSR HA 用稀盐酸冲洗前后红外光谱

Fig. 3 IR spectra of CCSR HA from corn stalk residues composted for 180 days before and after 0.1 mol L^{-1} HCl hydrolysis

从 3 080 cm^{-1} 处吸收峰相对强度的增加可判断出,CCSR HA 中烯链烷烃结构成分略有增加。1 230~ 1 250 cm^{-1} 为酚类中的 C-O 伸缩振动的特征吸收。1 150~ 1 160 cm^{-1} 为脂肪族化合物和脂肪环中醚键的 C-O-C 的非对称伸缩振动,1 100~ 970 cm^{-1} 为碳水化合物中的 C-O 伸缩振动。由 CSR HA 的红外光谱可见,CCSR HA 中,1 230~ 1 250 cm^{-1} 和 1 150~ 1 160 cm^{-1} 的吸收峰强度显著下降,而 1 100~ 970 cm^{-1} 的强度则显著增加,这表明,同 OCSR HA 相比,CCSR HA 中,醚键官能团含量下降,而碳水化合物成分显著增加。3 430~ 3 380 cm^{-1} 为形成氢键羟基的伸缩振动,这部分羟基为碳水化合物(纤维素、半纤维素、淀粉及其他多糖和单糖等)的成分,其相对强度随着腐解而升高,也证明了 CCSR HA 中碳水化合物成分的增加。

2.4 胡敏酸的 $^1\text{H-NMR}$ 波谱

图 4 为 OCSR HA 和 CCSR HA 的 $^1\text{H-NMR}$ 波谱(溶于稀 NaOH-d₁ 中)。两个谱图非常相似,与红外光谱一样,它表明在玉米秸秆腐解过程中,CSR HA 的基本结构单元无大的变化。谱图中的化学位移包括 5 个区域,即: $\delta=6\sim 8$, $\delta=4.5\sim 6$, $\delta=3\sim 4.5$, $\delta=0.5\sim 2$ 和 $\delta=2\sim 3$, 分别概括地归属于芳香 H (Ar-H)、水 H (H₂O-H)、碳水化合物 H (αCH)、环烷 H (Ring-H) 和烷链 H (Alky-H)^[13,14], 后两者又可合称为烷基 H。

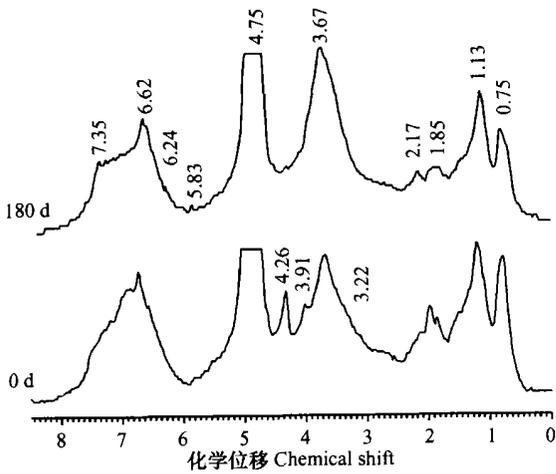


图4 玉米秸秆残体腐解前后所提胡敏酸的¹H NMR 波谱(溶于NaOH d1)

Fig. 4 ¹H NMR spectra of humic acids extracted from corn stalk residue at beginning and at the end of a 180 day composting process (dissolved in NaOH d1)

在 $\delta=4.5\sim 6$ 区域中强的共振信号是由水引起的^[13],由于其信号非常强,掩盖了此区域范围内的其他信号峰,因此,无法对本区域共振信号作以讨论。为了比较玉米秸秆及其腐解的不同时期提取的CSR HA在其他区域质子含量的相对变化,在进行质子含量计算时,我们将此区域信号峰面积的积分值设为零,因此,所计算出的各类型质子的含量(图5)只是一个相对值,并不代表绝对的含量,其仅为腐解前后CSR HA(OCSR HA和CCSR HA)的相互比较作参考。

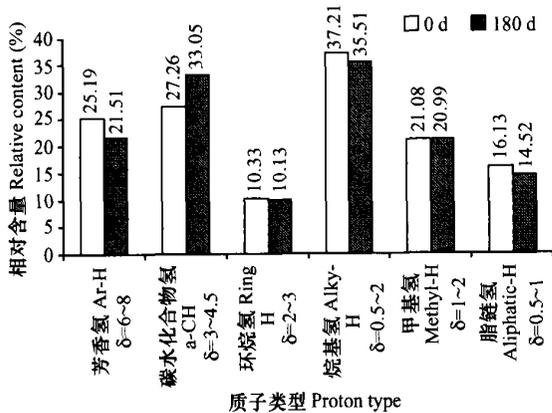


图5 玉米秸秆不同腐解时期所提胡敏酸中质子的相对含量

Fig. 5 The relative contents of various protons in humic acids from corn stalk residue at various stages of a 180 day composting process

可见,在 $\delta=6\sim 8$ 的宽信号带,是各芳香环(Ar)上所连H和连氧H的贡献^[14],并且这个谱带在 $\delta=6$ 左右仍有共振信号($\delta=6.24$),表明CCSR HA中包含有类酚结构^[15]。 $\delta=6.62$ 和 $\delta=7.35$ 处的两个比较明显的信号,分别为与OH或OR等取代基邻、对位的Ar-H和与上述取代基间位的Ar-H。在 $\delta=5.8$ 处也有一个可见的共振信号峰,它产生于烯烃结构中的H^[13]。在 $\delta=3\sim 4.5$ 区域是一个宽而强的吸收带。其主要的峰位于 $\delta=3.67$,归属于连氧的 α -C上的H,是类糖结构或碳水化合物结构引起^[13,14,16]。这个峰的积分面积很大,表明碳水化合物结构在CCSR HA中占较大比例。但前面化学分析的结果表明,胡敏酸中60%左右的成分为木质素,因此,这些碳水化合物结构是与水解木质素片段相连的,有些可能连接得非常紧密,否则,木质素的化学测定值不会如此高。在 $\delta=0.7\sim 3.0$ 区域包含有强度不同的信号,其中 $\delta=0.75$ 和 $\delta=1.13$ 分别归属于烷基链烃中末端甲基和聚亚甲基H^[14],另外,后者还包含有与苯环相连的 β -C原子上所连H的贡献^[16]。在 $\delta=1.85$ 处的吸收信号来自于与苯环相连的甲基或亚甲基萘满和奈满上的 β -CH^[14], $\delta=1.90\sim 3.0$ 处的各化学位移则由环烷H(Ring-H)及与芳香环、羰基相连的 α 甲基或亚甲基H引起^[14,15],这几个共振信号峰皆较弱,表明上述结构成分在CCSR HA中并不是主要成分。由此可见,在CCSR HA中,木质素残体是其骨架,碳水化合物结构或类糖结构及烷基片段是其主要组成单元,同时还包含有羧基、芳香环等。

值得一提的是,所测的CCSR HA的¹H-NMR谱图及后面将要讨论的¹³C-NMR谱图的信号峰皆较宽,且很平滑,这表明,CCSR HA是以缔合或胶束的状态存在。从前面红外光谱的分析已知,其中游离的羧基含量很少,羧基皆以羧酸盐或分子内氢键缔合的形式存在,这也说明了CCSR HA是以缔合或胶束状态存在的。并且其中的一部分是以多价金属离子作键桥。

与CCSR HA相比较,OCSR HA的谱图中有一些尖峰($\delta=4.26$, $\delta=3.91$, $\delta=3.22$),这可能是由于其缔合程度较低,因而一些取代基团的共振信号显示出来。但该谱图中, $\delta=4.26$ 处的共振信号较强,且在CCSR HA中不存在这个信号峰,这是由OCSR HA中存在的游离羟基产生的^[14],并且这些羟基存在于醇类化合物的结构片段中。经过腐解后,这些结构片段发生了转化,并不再存在于CCSR HA的分子

中,因此,该共振信号在腐解 180d 后消失。从不同类型的质子的相对含量的变化可见(图 5),随着腐解的进行,CCSR HA 中的芳香 H 含量减少,烷基 H 和环烷氢的相对含量也有所下降,但碳水化合物 H 含量显著增加,其中芳香 H 含量减少了 14.61%,烷基 H 的含量下降了 4.57%,环烷氢下降了 1.94%,碳水化合物 H 的含量增加了 21.24%。由此可见,玉米秸秆腐解过程中形成的胡敏酸,碳水化合物的结构成分显著增加,而芳香性成分则显著下降了,因此,CCSR HA 脂族成分的升高,主要是碳水化合物结构成分的贡献。同时, $^1\text{H-NMR}$ 谱图中 $\delta=1\sim 2$ 和 $\delta=0.5\sim 1$ 区域积分面积之比从 1.31 增加到 1.45,表明腐解后形成的 CCSR HA 中烷基支链变少,长度增加。另外,腐解 180 d 所提 CSR HA 的 $^1\text{H-NMR}$ 波谱中,在 δ 为 5.8 处出现了一个小的信号峰,而 OCSR HA 中无此峰存在,这一变化表明,CCSR HA 中出

现了烯烃成分。但其含量很低,表明烯烃结构并不是 CCSR HA 的主要构成单元。

2.5 CSR HA 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 波谱

从玉米秸秆本身所含的 OCSR HA 和腐解形成的 CCSR HA 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 波谱可见(图 6),CSR HA 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 波谱按照化学位移可分成三个区域^[17~19]:脂肪族碳区域($\delta=10\sim 110$),芳香碳和烯烃碳区域($\delta=110\sim 165$)和羰基碳区域($\delta=165\sim 216$)。通过对氢谱的分析已知,CSR HA 中烯烃碳的含量很少,所以,在 $\delta=110\sim 165$ 区域的信号主要产生于芳香碳。同时,脂族碳区域还可以继续分为碳水化合物碳区域($\delta=60\sim 110$ 也称为连氧碳区域)、氨基碳区域和烷基碳区域($\delta=10\sim 60$),芳香碳区域可分为芳环碳区域($\delta=110\sim 145$)和酚氧碳区域($\delta=145\sim 165$),羰基碳区域分为羧基碳区域($\delta=165\sim 190$)和纯羰基碳区域($\delta=190\sim 220$)^[14,20]。

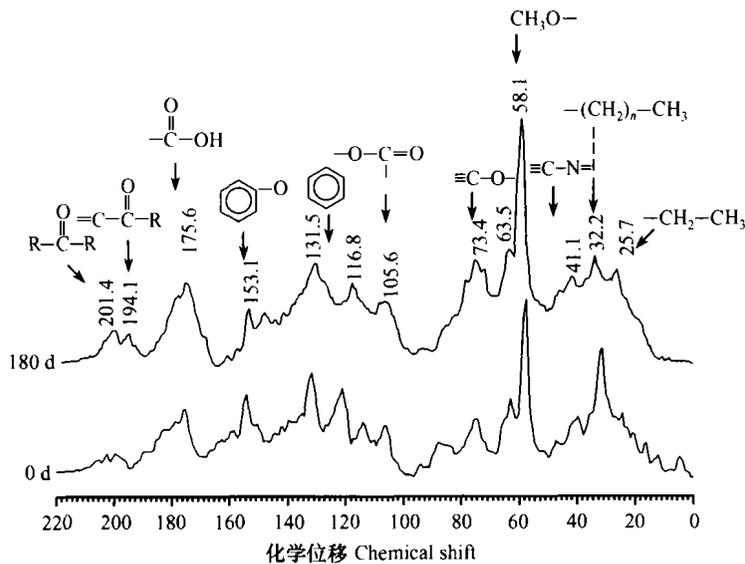


图 6 玉米秸秆残体腐解前后所提胡敏酸的 ^{13}C NMR 波谱(溶于 NaOH d1)

Fig. 6 $^{13}\text{C-NMR}$ spectra of humic acids extracted from corn stalk residue at beginning and at the end of a 180 d composting process (dissolved in NaOH d1)

进一步对各区域出现的位移信号进行分析表明,在脂肪族区域的主要特征是在化学位移 $\delta=58$ 的共振信号峰,其产生于甲氧基($-\text{OCH}_3$)中的碳,是木质素结构的主要成分^[9]。在烷基碳区域出现的共振吸收峰是以 $\delta=32$ 为中心的宽吸收带,这些共振信号产生于直链烷烃、支链烷烃、环烷烃及紫草酸结构中的 CH_3 、 CH_2 和 CH 基团^[18]。其中 $\delta=32$ 是长链烷烃或环烷烃结构中的亚甲基 C 的化学位移,而 $\delta=25$ 化学位移峰值的存在,标示着 CSR HA 中含有

与末端碳原子相连的亚甲基基团。 $\delta=40\sim 50$ 间的信号峰来自于氨基酸和多肽结构中 N 相连的甲基或亚甲基,碳水化合物中的某些连氧碳也可能在此引起共振吸收^[17]。碳水化合物结构中或类糖结构中 OH 基团相连接碳的共振信号的化学位移出现于 $\delta=63.5$ 、 $\delta=71.3$ 、 $\delta=73.4$ 和 $\delta=75.7$ 处^[9,14],同前面分析的结果一样,这些碳水化合物结构片段连接在木质素残体分子上,构成木质素的侧链,由于结合方式和碳水化合物成分的差异,因此,在这一区

域内出现了若干的信号峰。

化学位移为 $\delta=105.6$ 处的吸收信号, 来自于类单宁结构中的 C 及类糖结构中的半缩醛 C^[9], 也可能产生于丁香木质素结构中的 C₂和 C₆原子^[18,19]。芳香 C 区域中, $\delta=116.8$ 的信号归属于与 O、N 等取代基邻、对位的连 H 芳香环上的 C^[9,19,21], 而 $\delta=131.5$ 处的信号归属于与 O、N 等取代基间位的未被取代的芳香环 C^[9,18]。这两个共振信号与¹H NMR 波谱中的 $\delta=6.7$ 和 $\delta=7.1$ 处的共振信号相对应。在 $\delta=147.8$ 和 $\delta=153.1$ 位移处信号分别归属于甲氧基取代或羟基取代苯酚中的碳和被氧取代的芳香碳^[19,21], 有人将这一区域称作酚氧碳区域^[21]。在 $\delta=175.6$ 、 $\delta=180.2$ 和 $\delta=181.7$ 的位移信号则来源于羰基和酯类化合物结构^[9,19], 在这个区域, 还同时存在有许多小的共振峰, 这表明, 在 CSR HA 中有许多不同连接方式的羰基存在着。羰基碳的存在则由 $\delta=190\sim 215$ 区域的宽峰显示出来^[9,19,21], 这些信号峰的强度相对较弱, 表明其存在的量较低。

通过比较 OCSR HA 和 CCSR HA 可见, 二者的谱图也非常相似, 因为二者毕竟是同源、同类的有机聚合物。但两个谱图相比较而言, OCSR HA 谱图中的尖峰较多, 首先是由于 OCSR HA 是在作物体内形成的, 因此, 其与 CCSR HA 相比, 形成的途径有本质区别, 在物质组成上必定会有所不同。其次, 这可能由 OCSR HA 缔合程度较低引起。由于未能找到分离和提纯 CSR HA 的方法, 因此无法制得单一组分的 CSR HA, 所以, 对于 OCSR HA 和 CCSR HA 组成和结构的精确差异, 仍无法测定出来。只能测算出它们的大致组成。通过计算每个区域峰面积占总面积的百分比, 可得出 CSR HA 中各种碳的百分比组成如图 7 所示。从图 7 可见, CSR HA 主要是由脂肪族成分构成, 其中 OCSR HA 中脂肪族碳含量为 50.57%, 玉米秸秆经过 180 天腐解后, CCSR HA 中脂肪族碳含量增加, 达到 59.62%。其中, 烷基 C 降低了 2.38%, 甲氧基 C 增加了 22.72%, 碳水化合物碳增加了 44.29%, 这与前面红外光谱分析结果是一致的。同时羰基碳含量也有所增加, 由初始的 12.52% 增加到 13.44%, 其中羰基碳增加了 8.31%, 而纯羰基 C 增加了 5.08%。羰基增加的幅度较大, 这与化学分析结果相符。而芳香碳含量则显著下降, 由初始的 36.91% 降至腐解后的 26.94%。其中芳环 C 下降了 7.58%, 酚氧 C 下降了 59.48%, 以后者的下降幅度为大, 这表明, OCSR HA 芳香性成分中, 酚氧碳所占比例较大。CCSR HA 芳香度也显著

下降, 由初始的 42.19% 降至腐解后的 29.97%。由此可见, CCSR HA 同 OCSR HA 相比, 芳香性降低, 而脂族性升高。

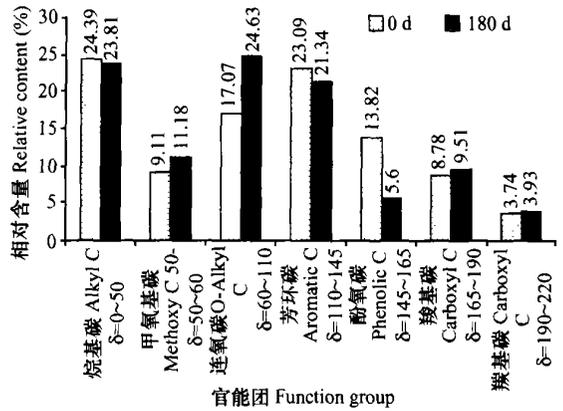


图 7 玉米秸秆在不同腐解时期形成胡敏酸中各组分的含量

Fig 7 Content of various carbons in humic acids extracted from the corn stalk residue at different stages

3 小结

由上述分析可见, 玉米秸秆腐解形成的胡敏酸 (CCSR HA) 的碳组成可分成三个部分: 脂肪族碳、芳香族碳和羰基碳, 它们的含量分别为 59.62%、26.94% 和 13.44%。CCSR HA 主要的官能团包括羟基、烷基、羰基、酰胺基、苯环、烷氧基及碳水化合物结构, 木质素残体是其骨架, 碳水化合物结构或类糖结构及烷基片段是其主要组成单元。其类型属于 R_p 型胡敏酸。未腐解的玉米秸秆本身就含有类胡敏酸物质 (OCSR HA), OCSR HA 和 CCSR HA 的官能团组成上有一定差异, 后者结构中, 甲基、亚甲基、次甲基、醚键官能团和酚羟基的含量降低, 而酰胺成分、游离的羰基、甲氧基、碳水化合物组分相对含量升高, 脂族性升高, 芳香性降低, 芳香度由初始的 42.19 降至腐解后的 29.97, 并且与无机物质的结合能力增强。就元素组成的变化看, CCSR HA 中 C 和 H 元素的含量趋于降低, 而 N 和 O 元素的含量趋于升高。玉米秸秆腐解生成的胡敏酸, 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。羰基含量较低, 但以不同的连接方式存在着。

参考文献

- [1] Hooker B A, Morris T F, Peters R, *et al.* Long term effects of

- tillage and corn stalk return on soil carbon dynamics. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 2005, 69: 188~ 196
- [2] 吴景贵, 席时权, 姜岩, 等. 玉米植株残体还田后土壤胡敏酸理化性质变化的动态研究. *中国农业科学*, 1999, 32(1): 63~ 68. Wu J G, Xi S Q, Jiang Y, *et al.* Dynamic changes of physical and chemical properties of humic acid in soil applied with com plant residues (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 1999, 32(1): 63~ 68
- [3] 关连珠, 张佰泉, 颜丽, 等. 有机肥料配施化肥对土壤有机质组分及生物活性影响的研究. *土壤通报*, 1990, 21(4): 180~ 184. Guan L Z, Zhang B Q, Yan L, *et al.* Effects of application of organic manure reinforced by chemical fertilizers on composition of organic matter and biological activity in soil (In Chinese). *Chinese Journal of Soil Science*, 1990, 21(4): 180~ 184
- [4] 吴景贵, 景风英, 汪冬梅, 等. 玉米秸秆堆腐过程中形成富里酸的结构分析. *分析化学*, 1999, 27(8): 933~ 937. Wu J G, Jing F Y, Wang D M, *et al.* Study on the structure of the fulvic acids extracted from composted corn stalk residue (In Chinese). *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 1999, 27(8): 933~ 937
- [5] Goering H K, van Soest P S. *Forage Fiber Analysis*. USDA-ARS Agric. Handbook, U. S. Washington, D C: Gov. Print. Office, 1971. 387~ 598
- [6] Kuwatsuka S, Watanabe A, Itoh K, *et al.* Comparison of two methods of preparation of humic and fulvic acids, IHSS method and NAGOYA method. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1992, 38(1): 23~ 30
- [7] 吴景贵, 陈丽荣, 王明辉, 等. 玉米植株残体腐解过程的化学分析. *吉林农业大学学报*, 2000, 22(3): 61~ 66. Wu J G, Chen L R, Wang M H, *et al.* Chemical analysis of corn plant residues during decomposition (In Chinese). *Journal of Jilin Agricultural University*, 2000, 22(3): 61~ 66
- [8] Schnitzer M. Humic substances: Chemistry and reactions. *In*: Schnitzer M, Llan S U. eds. *Soil Organic Matter*. Amsterdam: Elsevier, 1978. 1~ 64
- [9] Inbar Y, Chen Y, Hadar Y. Humic substances formed during the composting of organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1990, 54(5): 1316~ 1323
- [10] Kumada K. *Chemistry of Soil Organic Matter*. Amsterdam: Elsevier, 1987. 241
- [11] 吴景贵, 席时权, 曾广斌, 等. 玉米秸秆腐解过程的红外光谱研究. *土壤学报*, 1999, 36(1): 91~ 99. Wu J G, Xi S Q, Zeng G F, *et al.* Study on decomposed com straw residue by Fourier transform infrared spectroscopy (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1999, 36(1): 91~ 99
- [12] Dai X Y, Ping C L, Candler R, *et al.* Characterization of soil organic matter fractions of Tundra soil in arctic Alaska by carbon 13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 2001, 65(1): 87~ 93
- [13] Grant D. Chemical structure of humic substance. *Nature*, 1977, 270: 709~ 717
- [14] Wilson M A. Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy to the study of the structure of soil organic matter. *J. Soil Sci.*, 1981, 32: 167~ 186
- [15] Wilson M A, Collin P J, Tate K R. ^1H nuclear magnetic resonance study of a soil humic acid. *J. Soil Sci.* 1983, 34: 297~ 304
- [16] Ruggiero P, Interesse F S, Sciacovelli O. ^1H NMR evidence of exchangeable aromatic protons in fulvic and humic acids. *Soil Biol. Biochem.*, 1980, 12: 297~ 299
- [17] Zech W, Johansson M B, Haumaier L, *et al.* CPMAS ^{13}C -NMR and IR spectra of spruce and pine litter and of kalson lignin fraction at different stages of decomposition. *Z. Pflanzenmaehr. Bodenkd.*, 1987, 150: 262~ 265
- [18] Inbar Y, Chen Y, Hadar Y. Carbon 13 CPMAS NMR and FTIR spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of solid wastes from wineries. *Soil Sci.*, 1991, 152(4): 272~ 282
- [19] Inbar Y, Chen Y, Hadar Y. Solid state carbon 13 nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy of composted organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1989, 53: 1695~ 1700
- [20] Preston C M, Newman R H, Rother P. Using ^{13}C CPMAS NMR to assess effects of cultivation on the organic matter of particle size fractions in a grassland soil. *Soil Sci.*, 1994, 157(1): 26~ 35
- [21] Schnitzer M, Preston C M. Analysis of humic acids by solution and solid state carbon 13 nuclear magnetic resonance. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1986, 50(2): 326~ 331

CHEMICAL COMPOSITION AND STRUCTURE OF HUMIC ACID FROM COMPOSTED CORN STALK RESIDUE

Wu Jinggui Wang Minghui Wan Zhongmei Jiang Yimei Wu Jiang

(Faculty of Resource and Environment Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract Chemical composition and structure of humic acids extracted from composted corn stalk residue (CSR) were studied with the aid of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$) spectroscopy and chemical analysis. The carbons in Humic acid from composted CSR (CCSR HA) can be mainly divided into three groups: aliphatic-C, aromatic-C and carbonyl-C, accounting for 59.62%, 26.94% and 13.44% of the total C, respectively. The major functional groups in the CCSR HA include hydroxyl, alkyl, carboxyl, amide, benzene ring, methoxyl, carbonyl and carbohydrate, with residual lignins being their skeleton and carbohydrates, and long chain aliphatic structural groups their basic composition units. CCSA HA is of the Rp type of humic acids. In uncomposted corn stalks per se humic acids (OCSR HA) can be found and it is somewhat different from CCSR HA in composition of functional groups. The latter is relatively lower in methyl, methylene, ether and phenol hydroxyl but higher in amide, free carboxyl, methoxyl and carbohydrate. Aromaticity of CCSR HA is 29.97, and significantly lower than that, 42.19, of OCSR, but the capacity of CCSR HA combining with inorganic matters becomes stronger. As far as variation of the elemental composition is concerned, the contents of C and H are lower and the contents of N and O are higher in CCSR HA as compared to what is in OCSR HA. Compared with soil HA, CCSR HA is significantly lower in aromaticity, but much higher in content of sugar-like components, which are not present as free carbohydrate, and instead are incorporated into structures such as hydrolyzable lignins. CCSR HA is also comparatively lower in content of carboxyl groups, which exist in different forms.

Key words Humic acid; Corn stalk residue; Composting process; Composition and structure