

# 土壤腐殖物质形成转化与结构特征研究进展\*

窦 森 李 凯 崔俊涛 关 松 张晋京

(吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118)

**摘 要** 土壤有机质 (SOM) 是极为重要和复杂的天然有机物, 从化学本质出发, SOM 包括腐殖物质 (HS) 和非腐殖物质两个主要部分。HS 是土壤 SOM 的主体, 在土壤养分循环和碳截获方面具有重要作用。SOM 的重要性和复杂性共存, 这是激励研究者勇于探索的不竭动力。为了能够更好地了解土壤 HS 本文对 HS 及其组分的形成转化及稳定性 (包括形成顺序、相互转化、驱动因素、同位素分异、热力学稳定性等), 化学组成和结构特征 (包括 HS 组分的提取、分组、纯化、结构表征等), 人为措施响应规律 (包括耕作、施肥、土地利用的影响) 的研究现状进行了回顾和总结, 同时提出今后 HS 研究中要进一步应用先进技术、重新重视 HS 化学分组研究、进一步认识 HS 结构特征, 以及探索 HS 形成转化机制及其与农业措施的关系。

**关键词** 土壤腐殖物质; 形成转化; 化学分组; 结构特征; 耕作施肥

**中图分类号** S153 **文献标识码** A

土壤有机质 (SOM) 是土壤具有结构性和生物性的基本物质, 其既是生命活动的条件, 也是生命活动的产物<sup>[1, 2]</sup>, 对土壤的肥力功能和环境功能均十分重要。同时, SOM 既是释放 CO<sub>2</sub> 的重要来源, 又是截获 CO<sub>2</sub> 的重要载体, 在全球碳循环中具有重要作用<sup>[3]</sup>。

从化学本质上, SOM 可分为腐殖物质 (HS) 和非腐殖物质, 其中 HS 是 SOM 的主体, 占 SOM 的 60%~90%。非腐殖物质是指具有特定的物理化学性质、结构已知的有机化合物, 其中一些是经微生物改变了的植物来源的有机化合物, 而另一些是微生物新合成的有机化合物。HS 是经土壤微生物作用后, 由多酚和多醌类物质聚合而成的含芳香环结构的和脂族特征的、新形成的一系列黑色至棕黑色的非晶形准高分子有机化合物<sup>[4]</sup>。但实际上, 还没有将其与非腐殖物质完全分开的方法<sup>[2]</sup>。

一般将 HS 区分为胡敏酸 (HA)、富里酸 (FA) 和胡敏素 (HM); 最近 HM 又被分为铁结合 HM (HM i)、黏粒结合 HM (HM c) 和不溶性 HM (HM r) 部分<sup>[5, 6]</sup>。自从 1786 年 A chard 用 KOH 溶液提取泥炭中的 HS, 1830 年 Berzelius 对 HS 进行分类以来, 已有 200 多年的研究历史, 人们对 HS 的形成、本性、作用和应用进行了广泛的研究, 发表了大量的资料和论著<sup>[7-12]</sup>。最新统计表明, 外文资料 (1823~

2007 年, Science direct) 中研究 HA、FA 和 HM 的文献分别为 1 028、361 和 39 篇 (按关键词), 1 218、402 和 29 篇 (按题目); 中文资料 (1979~2007 年, CNKI) 研究 HA、FA 和 HM 的文献分别为 1 189、635 和 73 篇 (按关键词), 211、65 和 11 篇 (按题目)。然而, 由于 HS 本身的不均一性和空间变异性, 给研究者带来了极大的难度。致使到目前为止, 仍有许多不清楚之处。例如, HS 的形成转化、化学组成和结构、及其对环境因素和人为措施的响应规律等。

SOM 的重要性和复杂性共存, 这是激励研究者勇于探索的不竭动力。为了能够更好的了解土壤 HS 本文对 HS 的形成转化及稳定性 (包括形成转化途径、驱动因素、热力学稳定性等), 化学组成和结构特征 (包括提取、分组、纯化、结构表征等), 人为措施响应规律 (包括耕作、施肥、土地利用的影响) 的研究现状进行了回顾和总结, 并对今后的 HS 研究进行展望。

## 1 腐殖物质的形成转化

### 1.1 腐殖物质组分的形成顺序

HS 的形成可能有如下几种途径: 糖按缩合学说、多酚学说、起源于木质素的多酚学说、木质素学说、细胞自溶学说和微生物合成学说<sup>[2, 13]</sup>。HS 形成

\* 国家自然科学基金项目 (40271069, 40471076)、高校博士点基金项目 (20040193002) 资助

作者简介: 窦 森 (1959~), 男, 吉林人, 教授, 主要从事土壤有机质研究。E-mail: dousen@tm.com

收稿日期: 2008-06-01; 收到修改稿日期: 2008-07-30

的各种途径均表明了 HS 各组分形成的方向和顺序。例如木质素学说和微生物合成学说, 认为 HA 在植物残体分解中较 FA 先形成; 多酚学说和起源于木质素的多酚学说, 认为在 HS 形成中最先出现的是 FA, FA 再缩合形成 HA<sup>[11]</sup>。但另一种观点认为 HS 组分之间并不遵循特定的形成顺序。理由是: 1) 聚合程度大的 HA, 其相应 FA 的聚合程度小; 聚合程度小的 HA, 其相应 FA 的聚合程度较大。据此, 认为 HA 和 FA 的不同只是表现在它们的分子量和聚合度上, FA 既能成为 HA 的起始物质, 也能成为其降解产物。2) 将从 Mollic Vitrandept 土壤中提取出的 HA、FA 和 HM 分别和土壤水浸液混合后, 在 30e 培养 1 a 每种 HS 组分的分解均会导致其他两种 HS 组分的形成。3) 这些途径可能在所有土壤中运转着, 只是它们的重要程度因环境条件而不同。如在排水不良的土壤和潮湿沉积物中, 木质素途径可能占主要地位; 在某些森林土壤中, 枯枝落叶层淋出液中的多酚对 HS 合成可能相当重要; 在严酷的大陆性气候下, 大陆表层土壤中温度、湿度和光照的经常和尖锐的变化, 可能有利于糖苷缩合途径的进行<sup>[14]</sup>。Duchaufour 发现温带土壤有两个过程是明显的, 一是合成大分子, 二是继承, 结果导致 HS 微生物分子和继承性成分三类物质的形成<sup>[15]</sup>。将不同 C/N 比的植物秸秆加入灭菌后, 接种培养细菌、真菌和放线菌的纯菌株, 探讨其对土壤腐殖质形成的作用, 试验表明, 木霉形成 HS 的 HA/FA 最大; 链霉菌中灰褐类群形成的 FA 量最高; 球孢类群形成 HA 的分子量最大, 芳构化程度最高<sup>[16]</sup>。

### 11.2 腐殖物质组分的相互转化

HA、FA 一旦形成, 就相互转化或单向转化。FA 与 HA 有着发生学的联系, 但联系的实质和转化的机理尚不清楚<sup>[17]</sup>。黑钙土添加草木樨后随培养时间的延长, HS 的 HA/FA 比在 160 d 之前一直下降, 说明在 160 d 以前 FA 的形成或相对积累速度大于 HA。在棕壤添加玉米秸秆培养的第 1 周, FA 的形成速度大于 HA; 第 2 周后, HA 的形成速度大于 FA, HA/FA 比上升至最高点; 以后随培养时间的延长, HA 可分解为 FA 或 FA 的形成多于 HA, 使 HA/FA 比逐渐下降; 6 个月后不再下降, 即 HS 组成已达到平衡态<sup>[18]</sup>。王旭东等对玉米秸秆腐解过程中 HA/FA 比、HA 性质的变化进行研究表明, 在 90~210 d HA/FA 比减小, HA 结构趋于简单; 而在后期 210~360 d HA/FA 比又增大, HA 结构趋于复杂<sup>[19]</sup>。

应用  $D^3C$  方法研究不同耕作栽培条件下土壤有机质的周转规律, 是最近几年的热点之一<sup>[20~22]</sup>, 在 C3 转为 C4 作物种植的条件下 (0.14~23 a), HA 的更新速度较全土有机质快, HM 更新得最慢<sup>[23]</sup>; 0~50 Lm 颗粒部分中 HS 组分的更新速度为 HA > HM > FA<sup>[21]</sup>。最近有人报道将  $D^3C$  方法用于研究短期培养实验中 SOM 的分解和 HS 形成规律表明, 加入玉米秸秆后, HA、FA 的  $C_4:2C$  和  $C_3:2C$  的数量均下降, 但后者下降的速度较慢。培养初期, FA 的形成速度大于 HA, 随培养时间延长, FA 转化为 HA 或相互转化; 原土有机质中, HA、FA 也发生了相互转化, 但转化速度相对较慢<sup>[24]</sup>, 与沈善敏的观点一致<sup>[25]</sup>。

黏粒中 HA、HM 和不能被  $6 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$  水解的 SOM 的平均存留时间相差不大, 分别为 2 820 ? 45 a、2 495 a、2 455 ? 45 a, 但 HA 和 HM 在 15 a 内的周转速率却较水解残渣分别高 54% 和 30%~59%<sup>[26]</sup>。同一土壤不同 HS 组分的分解速率依次为: HS 的酸提取组分 > FA > HM > HA; HA 和 HM 的酸解组分 > 酸解残渣<sup>[27]</sup>。

### 11.3 环境因素对腐殖物质形成转化的影响

环境因素中对 HS 形成最有意义, 也是最矛盾的是水分 (通气性) 的影响。一种观点认为, 少水有利于 HA 形成, 而多水有利于 FA 形成<sup>[28]</sup>; 另一种观点则认为, 多水有利于 HA 形成, 而少水有利于 FA 形成<sup>[29,30]</sup>。研究表明正常的大气条件下, 15 d 和 180 d 时, PQ 随含水量的增加有降低的趋势, 即多水有利于 FA 形成, 但水分过多 (淹水处理) 反而有利于 HA 的形成。60% 田间持水量时, 从 7~40e, 随温度的增加, PQ 增加, 说明相对低温有利于 FA 的形成。25e 正常含水量条件下, PQ 随  $PO_2$  和  $PCO_2$  的增加而提高 ( $O_2$ : 9%~50% V/V,  $CO_2$ : 0~30% V/V), 说明高的  $PCO_2$  和  $PO_2$  利于 FA 的形成<sup>[31,32]</sup>。Martin 等<sup>[33]</sup> 研究未开垦的温带草原土壤表明, 随降雨量的增加, HA 的稳定游离基和 E4/E6 增加。Ca2 lace 等<sup>[34]</sup> 的研究表明, 模拟酸雨条件下, 土壤中 HA 的含量没有发生变化, 而 FA 的含量增加, 分子量明显下降, 从大于 50 kDa 多数情况下下降到小于 3 kDa。Fujitake 等<sup>[35]</sup> 研究表明, 在中性区提取的 HA 具有较高的腐殖化度, 低 pH 提取的 HAs 含有较高的不饱和键和较高的氧化度。牛灵安等<sup>[36]</sup> 研究表明, 盐渍土熟化过程中 HA/FA 比增大。一般认为蒙脱石的存在有利于 HA 的形成, 但 Dp Aquil 等<sup>[37]</sup> 报道, 经 30 d 培养, 蒙脱石较高岭石中的有机物料分解快,

且主要形成 FA, 而高岭石中的有机物料分解慢, 且主要形成 HA。Grisi等<sup>[38]</sup>研究表明, 热带较温带土壤 HS的腐殖化度高。还有研究者对石灰性母质与土壤腐殖质组成和性质的关系, 新疆地带性土壤腐殖质组成、性质等进行了研究<sup>[39, 40]</sup>。

#### 114 腐殖物质的同位素分异

同一土壤 HS的<sup>13</sup>C分异, 多数情况是 FA 具有较高的 D<sup>13</sup>C值, 一般较相应的 HA 或全土样品高近1个单位即 1j, 这可能与 FA 含有更多的富<sup>13</sup>C碳水化合物有关<sup>[24, 41]</sup>。但与之相反的是, 夏威夷的一个甘蔗田(C<sub>4</sub>作物)中, HA的 D<sup>13</sup>C值较 FA高<sup>[30]</sup>。松结合 HA较稳结合 HA的 D<sup>13</sup>C值高, 说明其更接近 FA。HM黏粒并未由于含有较多的脂类而具有较低的 D<sup>13</sup>C值, 反而较相应的全土高, 这可能与黏粒中包裹植物性有机质有关。小分子 HA(分子量 < 2 000)的 D<sup>13</sup>C值大幅提高, 说明其分子中含有更多富<sup>13</sup>C化合物成分。HA热解产物的 D<sup>13</sup>C值高于热解残渣, 相应的 HA介于两者之间, 说明热解产物富含<sup>13</sup>C的碳水化合物, 而热解残渣可能含有低<sup>13</sup>C的脂类化合物较多; 而 HA的 KOH水解残渣的 D<sup>13</sup>C值低于相应的 HA, 可能是水解除去了富<sup>13</sup>C的碳水化合物所致<sup>[27]</sup>。

#### 115 腐殖物质的热力学稳定性

土壤 HS在组成上有时空连续性, 它们能不断地相互转化、破坏和重新形成。因此, 可以像处理矿物那样, 来处理更复杂的 HS的热力学稳定性问题<sup>[29, 31]</sup>。土壤中的很多因素, 如黏粒含量和类型, 植被和微生物情况, 土壤湿度、温度和空气组成, 土壤溶液的化学组成、浓度、酸度和氧化还原状况等均影响 HS的稳定性。但从热力学角度, 如将温度设为 25e, 可将土壤条件诸因素简化为水活度([H<sub>2</sub>O])、氧分压(P O<sub>2</sub>)和二氧化碳分压(P CO<sub>2</sub>)三个参数, 因为 HS由这三种物质形成, 最终又分解为含有这三种元素 H<sub>2</sub>O和 CO<sub>2</sub>这三种物质。土壤 HS的组成因不同条件而处于该平衡体系的不同阶段, 具有不同的能态。据此, 可用元素组成土壤条件参数法, 即用土壤 HS的元素组成(C, H, O, N)数据和土壤条件参数([H<sub>2</sub>O], P O<sub>2</sub>, P CO<sub>2</sub>), 计算 HS组分的 \$G\_r^0\$ 和 logK<sub>r</sub>, 得出各自的热力学稳定性范围。以黑土为例, FA, HA对 [H<sub>2</sub>O]和 P CO<sub>2</sub>的稳定顺序为 FA > HA; 而对 P O<sub>2</sub>的稳定顺序为 HA > FA<sup>[31, 32]</sup>。

热力学参数能够用来评价 HS的能态、金属 HS复合物的稳定性、HS对金属离子的吸附/络合机制

以及有 HS参与的各种反应进行的可能性等<sup>[42~44]</sup>, 因此是土壤学、HS化学和环境科学等领域中重要的基础性数据。标准状态下, HS的热力学参数主要包括标准生成热(\$H\_b\$)、标准吉布斯自由能(\$G\_b\$)、标准生成熵(\$S\_b\$)和等压热容(C<sub>p</sub>)。

除用元素组成土壤条件参数法外, 获得上述热力学参数还有两种方法: 一是用氧弹量热计直接测定 HS的 Q<sub>b</sub> 然后按 Q<sub>b</sub> by \$H\_b\$ by \$G\_b\$ by \$S\_b\$ by C<sub>p</sub> 的顺序依次计算出其他热力学参数<sup>[45]</sup>; 二是按照近年来由 Vodyanitsky提出的方法, 即首先测定 HS的元素组成, 然后根据元素组成数据计算出 C<sub>p</sub>, 再按 C<sub>p</sub> by \$S\_b\$ by \$G\_b\$ by \$H\_b\$ 的顺序依次计算出各相应的热力学参数<sup>[42]</sup>。上述方法中, 元素组成土壤条件参数法需要测定土壤条件参数, 难度较大; 氧弹量热计方法的计算误差较大; Vodyanitsky的元素组成方法不仅测定比较简单, 而且结果的准确度也较高。

## 2 腐殖物质的提取、分组、纯化

### 2.1 腐殖物质的提取

一些提取方法虽然已经写进教科书, 但并没有一个统一的方法。提取 HS一般用 NaOH 和 Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 主要是由于这些试剂可以从大多数土壤中提取出大量的 HS<sup>[11]</sup>。在 NaOH 提取过程中, 与 SOM键合的 H<sup>+</sup>被 Na<sup>+</sup>代替, 引起 SOM的溶解性增加、有机结构重新构化<sup>[46]</sup>。由于 OH<sup>-</sup>与吸附在矿物表面的 SOM阴离子团的竞争作用, 并通过 pH 诱导官能团解离效应, 使 SOM的解吸能力进一步提高, 可以提取超过 80%的 SOM<sup>[8, 11]</sup>。

NaOH对 SOM、土壤矿物与多价阳离子之间化学键没有影响, 而 Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>对这些键有一定的破坏作用<sup>[47, 48]</sup>。但 Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>的提取效率要低一些, 仅超过 30%。Schnitzer等<sup>[49]</sup>认为用 0.15 mol L<sup>-1</sup> NaOH 能提取更多的 /活性 0 SOM; Cameron等<sup>[50]</sup>、Piccolo等<sup>[51]</sup>认为, 与 pH 7.10时用 Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>提取相比, NaOH 能提取更多的高分子 SOM。但从细土壤颗粒中, Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>能提取更多的 SOM, 表明 Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>能够提取更为 /复杂 0的有机物<sup>[49]</sup>。

提取 HS多用 0.1 mol L<sup>-1</sup> NaOH + 0.1 mol L<sup>-1</sup> Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>混合液, 较在相同 pH 条件下仅用 NaOH 提取的方法早 100年<sup>[20]</sup>。从矿物表面多价离子键和黏土的微观结构 (< 20 Lm)上看, 与仅用 NaOH 提取比较, NaOH/Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>提取似乎使分离的 SOM的

稳定性增加<sup>[52]</sup>。总之,碱提取过程同时影响着几种稳定性机制,这种机制在不同的土壤和土层也不一致。为明确提取过程对 SOM 数量的影响,找出上述稳定性机制之间的差别,对不同质地和矿物的土壤进行系统的研究是非常必要的。

### 212 腐殖物质的分组

由于 HS 的组成、结构复杂,对它的研究一直与分组和组分析相联系。不同原理和手段的采用,产生了不同的分组方法。根据 HS 在酸、碱中的溶解性将其分为 HA、FA 和 HM; 根据不同的提取剂和提取条件分为松结合态、稳结合态和紧结合态的 HS。根据不同的光学性质、在不同溶液中的溶解度等, HA 被划分为很多类型: 如 R<sub>p</sub>、P、B 和 A 型<sup>[53]</sup>。值得注意的是近几年对 HM 的研究取得一定的进展。

HM 是 HS 的一个独立组分,其被定义为在任何 pH 条件下的水溶液中不溶的组分<sup>[54~56]</sup>。HM 与无机矿物紧密结合,因此它的提取和纯化很困难,近年来随着对 HM 特性的研究,国外学者提出了一些分离 HM 的方法,常用的 HCl/HF 处理法是最经典的方法,通过 HCl/HF 反复处理使硅酸盐矿物溶解,可获得 35%~86% 的 HM。酸化的 DMSO(二甲基亚砷)常被认为是土壤 HS 的一个较温和的有效提取剂,能提取的 HM 碳仅占总 HM 碳的 9%~22%<sup>[57]</sup>。A mendros 等采用比重液+超声波方法,得到粗的继承性 HM、可提取的 HM 和不可提取的 HM,其中可提取的 HM 含碳量最低<sup>[58]</sup>。用 MIBK(甲基异丁基甲酮)可以将 HM 分为类脂化合物、结合态脂类、结合态 HA 和不溶性残渣 4 个组分。Pallo 法<sup>[5]</sup>从提取可溶性 HS 后的残渣中分离出 HM,并将 HM 分为铁结合 HM(H<sub>i</sub>)、黏粒结合 HM(H<sub>c</sub>)、继承性 HM(H) 和高度发育 HM(DH),但在操作上(例如酸性条件下热处理)可能会导致化学结构改变,而且提取过程繁琐。研究者在原有 Pallo 法的基础上,对其做了一定的修改,将 HM 分为 HM<sub>i</sub>、HM<sub>c</sub> 和 HM<sub>r</sub>(残余 HM) 3 个组分<sup>[6]</sup>。

### 213 腐殖物质的纯化

HS 纯化是对其进行结构表征和研究的前提。国际腐殖质协会(HSS)推荐的方法,主要用于 HA、FA 和 HM 的定性研究。其优点是除去黏粒的效果最好,HA 灰分一般控制在 0.1% 以下,而且所得数据能与国际参比。但实际上研究者并没有完全使用 HSS 推荐的方法,主要原因可能有:第一,原始方法是提取泥炭用的<sup>[59]</sup>,在用于土壤时不同学者修改后的方法并不相同<sup>[60~64]</sup>。第二,用 HF/HCl 反复处

理提取液,目的是为了除去黏粒,但是对 HA、FA 有破坏作用,会损失少量 HS,使必要的信息丢失<sup>[65,66]</sup>;用 NaOH/HCl 反复溶解沉淀,并高速离心同样可以除去黏粒,HA 样品灰分一般小于 1%<sup>[67]</sup>。第三,用于 FA 纯化的 XAD28 已经停产<sup>[64]</sup>,相似代用品如聚乙烯吡咯烷酮(PVP)不仅价格昂贵,且仍在研究之中。第四,HSS 方法中没有划分出 HM<sub>i</sub> 和 HM<sub>c</sub>。因此国内外仍有很多研究者使用 0.1 mol L<sup>-1</sup> NaOH 或 0.1 mol L<sup>-1</sup> NaOH + 0.1 mol L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 提取 HS 用高速离心和电渗析方法纯化制备 HA 样品,用活性炭吸附制备 FA。但在满足分组要求和条件具备时,尽量使用 HSS 推荐的方法。

## 3 腐殖物质的化学组成与结构特征

人们早已认识到 HS 是一种成分非常复杂的混合物<sup>[68,69]</sup>,可能包含植物碳水化合物和微生物碳水化合物、植物蛋白和微生物蛋白、植物脂和微生物脂等,并与部分降解的木质素和单宁等相混合,与微生物物质如黑色素和其他聚酮类物质相混合,并没有一个唯一的、具体的结构式<sup>[70]</sup>。1970 年以来提出的 HS 结构模式<sup>[11,71~73]</sup>,由于测定方法或对 HS 理解不同而相差很大,其实这些模式在土壤中并不一定存在。几十年来,科学家一直想说明的 HS 结构,主要是根据 HA、FA,或整个 SOM 的化学降解或热解产物或核磁共振(NMR)分析结果,然后将这些结果综合起来设想为其主要结构。这可能还存在一些问题,如不同结构模式差异太大,并无法在植物和动物中找到,以往这被解释为 HS 的/特异性<sup>[70]</sup>。

另一方面,尽管 HS 的结构可能会随时间和空间变化,但是大量的 <sup>13</sup>C NMR 研究结果表明,不同地带土壤 HS 之间具有相似性。这并不奇怪,因为生命过程本身就是相似的<sup>[70]</sup>。这说明,由于微生物的作用,HS 就象同一种树的树叶一样,一方面每个树叶均不相同;另一方面,各个树叶又有相似的特征<sup>[2]</sup>。基于这种思考,我们既没有必要追求 HS 具体的、完美的组成或结构,但又不能对其结构特征(Structural characteristics)及环境因素对其的影响视而不见。对已经研究过的 HS 结构特征总结如下:

### 311 分子量

Piccolo 提出,HA 本身是一种超分子结构体,HS 分子大小主要取决于疏水键(范德华力、P<sub>2</sub>P 键和 CH<sub>2</sub>P 键)和氢键的强弱。随 pH 的增加,疏水键所

起的作用更为明显<sup>[74]</sup>。在不同报道中 HS 的分子量差距很大, 可以是几百至几十万道尔顿之间<sup>[9-12]</sup>。但用蒸汽压渗透 (VPO) 法测定的东北土壤表层、泥炭和猪粪 HA 的数均分子量一般在 5 kDa 以下, FA 更低一些<sup>[75]</sup>。对不同分子量 HA (> 300 kDa, 100~300 kDa, 30~100 kDa 和 10~30 kDa) 的研究表明: 小分子 HA 含更多芳香碳, 而大分子 HA 含更多脂族碳。小分子 HA 与 FA 的化学组成不同, 前者含有更多的芳香碳和较少的脂族碳<sup>[76]</sup>。

### 312 元素组成与含氧官能团含量

HA 和 HM 的元素含量范围大致相同, 但 FA 的碳含量低于 HA, 氧含量高于 HA, 导致其 C/H 比值 (缩合度) 低而 O/C 比值 (氧化度) 高; FA 与 HA 相比, 总酸度和羧基含量较高<sup>[9-12]</sup>。一般 HM 分子结构较 HA、FA 复杂, 烷基碳比例高; HM 的含氧功能团主要是羧基、酚羟基、羰基和甲氧基, 其中羧基和羰基的含量较高, 而甲氧基含量较低, 无论那种来源的 HM 均有着与同一种来源 HA 相似的基团组成<sup>[77]</sup>。

不同 HM 组分相比, HMc 一般较 HMi 结构复杂, 体现在烷基碳含量高、氧化程度低、脂族性强方面, 但 HMc 的芳香度和缩合度 (C/H) 反而较 HMi 低。这说明不能总是用芳香度和缩合度来代表 HS 的分子复杂程度, 对 HM 组分尤为如此。由此推断, HM 与 HA 可能完全不同, 其既可以有微生物来源的 HS 也可以有被黏粒固定或包裹的植物性残体, 前者可能芳香度和缩合度较高, 后者则烷基碳含量高、氧化程度低、脂族性强。但两者均可以抵抗微生物分解, 因为前者可能是微生物/吃剩下的垃圾, 并被黏粒固定; 后者的烷基碳不具有亲水性, 同时也被黏粒物理保护。应该说这是一个发现, 也是一个大胆的推断。为今后对 HM 的物理保护与化学保护的区分、植物性与微生物性 HM 的区分进行更深入的研究提供了新思路<sup>(1)</sup>。

### 313 活化度

参考测定 SOM 或 SOM 氧化稳定性的方法<sup>[78, 79]</sup>, 窦森提出 HS 活化度的测定方法, 用 0.102 mol/L<sup>-1</sup> KMnO<sub>4</sub> 氧化的碳占丘林法氧化碳的百分数来表示。尽管活化度与氧化稳定系数 (K<sub>os</sub>) 或活性 SOM 的意义相似, 但 KMnO<sub>4</sub> 一般条件下不能氧化苯环, 只能氧化脂族侧链, 所以, HS 的活化度可大致上反映其脂族结构与芳香结构的比例, 但较 NMR 方

法节约费用。FA 的活化度一般高于相应的 HA, 松结合态 HA 活化度高于稳结合态 HA<sup>[80]</sup>。

### 314 化学降解

用 5 mol/L<sup>-1</sup> KOH MeOH、70e 条件对 HA 进行温和水解, 适合于切开 C-O 键, 除去吸附态的脂族化合物和含氮化合物<sup>[47]</sup>, 可得到 2218~4116 mg g<sup>-1</sup> 的水解产物, 对研究烷烯烃和醇类化合物非常有利<sup>[81-83]</sup>。烷烯烃类以 C<sub>31</sub> 含量较高, 从 C<sub>26</sub> 到 C<sub>37</sub>, 呈倒 V 字型分布; 从 C<sub>14</sub> 到 C<sub>25</sub>, C<sub>2n</sub> 较 C<sub>2n+1</sub> 含量高。饱和醇主要是偶数碳, 从 C<sub>12</sub> 到 C<sub>30</sub>, 占 90%, 平均相对含量 > 10% 的是 C<sub>12</sub>、C<sub>16</sub>、C<sub>18</sub>、C<sub>22</sub>、C<sub>26</sub> 和 C<sub>28</sub>, 与植物叶中的饱和醇类分布基本一致。非饱和和线性醇主要有 C<sub>18</sub>、C<sub>19</sub>、C<sub>20</sub> 和 C<sub>21</sub> 四类 13 种, 非饱和双键 (P 键) 为 1~6 个, 主要是 C<sub>20AclP</sub>、C<sub>20Ac3P</sub> 和 C<sub>19Ac4P</sub>。还鉴定出胆甾醇、菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、B<sub>2</sub> 甾醇、胆甾烷醇、菜油甾烷醇、豆甾烷醇、豆甾烯醇、B<sub>2</sub> 香树素、A<sub>2</sub> 香树素等 11 种甾族化合物, 其中 B<sub>2</sub> 香树素和 A<sub>2</sub> 香树素是该条件下首次发现<sup>[83]</sup>。

### 315 光学和光谱学性质

光学性质主要是指溶解的 HS 在可见或紫外区的吸光值, 如 E<sub>2</sub> 或 E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub>, 主要用于估计 HS 的分子复杂程度或腐殖化程度。265~280 nm 处的吸收可以判断木质素特征的强弱。HS 的荧光激发光谱 (E<sub>x</sub>) 的最大吸收波长 (K<sub>ex</sub>) 处的吸光值 (E<sub>x,max</sub>) 和发射光谱 (E<sub>m</sub>) 最大吸收波长 (K<sub>em</sub>) 处的吸光值 (E<sub>m,max</sub>), 大致反映了 HS 分子结构的共轭度和复杂程度。HA 的 E<sub>x</sub> 通常具有双峰现象, 而 FA 的 E<sub>x</sub> 和 E<sub>m</sub> 均为单峰曲线; FA 的 K<sub>ex</sub> 和 K<sub>em</sub> 分别为 347~375 nm 和 477 nm, 较相应 HA 的约低 100 nm 和 170 nm; FA 的 E<sub>x</sub> 和 E<sub>m</sub> 基本上是镜像关系, 而 HA 由于其分子结构复杂达不到镜像关系。HA 和 FA 的 R 光谱大致相似, 主要区别是: HA 的 2920 cm<sup>-1</sup> / 1720 cm<sup>-1</sup> 比值在 1101~3153, 而 FA 在 0103~0123, 说明 FA 的碳水化合物含量高、芳香度低、脂族链烃含量少, 分子结构较 HA 的简单<sup>[84]</sup>。

### 316 热分解特性和 X 光电子能谱 (XPS)

研究 HS 热分解特性的方法很多, 主要有热重法 (TG)、微商热重法 (DTG)、差热分析法 (DTA)、等温加热法 (Isothermal heating) 和 Minifour 热解等。土壤 HA 具有相似的热分解特性, 反映了其结构特征的相似性<sup>[75, 85]</sup>。HA 的 Minifour 热解产物在 300e (3 min) 和 300~650e (每分钟升温 25e) 的

(1) 窦森. 土壤胡敏素的形成转化与稳定性研究. 国家自然科学基金结题报告, 吉林农业大学, 2008

产率分别为  $5\sim 15\text{ mg g}^{-1}$  和  $35\sim 55\text{ mg g}^{-1}$ [27]。

XPS在研究 FA 金属配合物和比较土壤 HA 与人工合成 HA、FA 的同异等方面有少量报道,土壤 HA 在  $28712\text{ eV}$ (可能为  $2\text{OCH}_3$ )、 $28615\text{ eV}$ (可能为与  $2\text{OCH}_3$ 或  $2\text{OH}$  相连的芳香碳),  $28916\text{ eV}$ (可能为  $2\text{COOH}$ )有信号;猪粪 HA 在  $289\text{ eV}$ (可能为  $\text{O}=\text{C}=\text{O}$ )的信号最明显[75]。

### 3.1.7 电子自旋共振 (ESR)和核磁共振 (NMR)

ESR波谱多用来研究金属 HA 或金属 FA 复合物中(顺磁性)金属离子的特性(对称现象和配位作用),同时,根据 ESR 波谱得出样品的自旋浓度。NMR 波谱可研究液态 HA 和 FA、固态 HS(包括 HM)和原位土壤;既能定性给出 C、H、N、P 等元素的类型,又能大致给出它们的含量。HA 的  $^1\text{H NMR}$  研究表明,  $(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$  为其主要成分(达  $30\%$ )<sup>[86]</sup>;  $^{13}\text{C NMR}$  的研究表明, HS 可能不是具有分支结构的大分子,而是一些化合物的团聚体<sup>[69 87]</sup>, HS 的芳化度通常为  $10\%\sim 49\%$ ,较化学方法测定值低,脂族碳成为主要成分<sup>[88 89]</sup>。

## 4 耕作施肥对腐殖物质组成和结构特征的影响

补充 SOM 的途径,一是作物根茎和根系分泌物及地上部残落物,主要是通过作物本身的轮作和栽培进行(土壤自肥);二是施用有机物料或肥料来培肥土壤,可称之为土壤有机培肥 (Improving Soil Fertility by Organic Material) 简称 ISFCM)。研究表明,免耕与多施作物残体能明显降低 HS 的 HA/FA 比值,而种植方式影响较小<sup>[90 91]</sup>。耕作增加了小分子 HS 的比例, HA/FA 下降<sup>[92]</sup>,但也有相反的结果<sup>[93]</sup>。玉米连作增加 HA/FA<sup>[91 94]</sup>。

ISFCM 一般会增加 HS 的含量,但是研究的重点越来越转向对 HS 品质的研究<sup>[19 95 96]</sup>,结果表明, ISFCM 后 HA 基本上是数均分子量减小,芳香度、缩合度、氧化度及分子复杂程度下降,脂族结构特别是烷基碳和烷氧碳的含量明显增加,向着脂族化、年轻化和简单化的方向发展。P laza 等在田间施用猪粪浆后的第一年,土壤 HA 的 C、S、C/N 比、羧基含量和脂族性增加<sup>[95]</sup>。FA 在不同土壤上反应不同,在棕壤上是数均分子量增大,缩合度和分子复杂程度提高;而在黑土上 FA 的分子结构则变得更

为简单<sup>(2)</sup>。

## 5 展 望

土壤有机质化学是土壤学研究中的基础性分支领域,非常感谢国家自然科学基金委员会的资助,但由于在其他部门和地方很难申请到经费,导致我国真正从事土壤有机质,特别是腐殖物质研究的队伍萎缩,与国外的差距在逐渐拉大。实际上我国的土壤有机质研究有较好的基础,特别是在土壤有机质化学、土壤有机培肥机理研究方面做过很好的研究工作。目前,国外对天然有机质 (NOM),特别是腐殖物质的研究较为深入,在国际土壤学大会和每两年一次的国际腐殖物质学术会议上均有体现。今后在土壤有机质研究中应注意以下几个问题:

(1) 应用先进技术。由于土壤有机质的复杂性,要不断探索新技术的应用。NMR 和  $\text{D}^3\text{C}$  技术的应用已经让我们对腐殖物质结构和形成转化特点有了不同于以往的认识。PyGCMS、HyGCMS、RMS、XPS、同步辐射等技术的应用,也可能带来像 NMR 和  $\text{D}^3\text{C}$  技术那样令人瞩目的进展。

(2) 传统的土壤有机质化学分组不能被冷落,要全面研究腐殖物质组分。近年对各种形式的中溶性有机质 (DOM) 和颗粒有机质 (POM) 或轻组有机质 (LFOM) 的研究日趋活跃,因为它们对环境条件和人为措施反应较为敏感。但是目前研究较多的是它们的数量,而对其化学组成和结构特征研究较少。应在物理分组的基础上,进一步探讨 POM 的化学分组,从物理保护与化学保护相结合的角度,探讨 SOM 的稳定性的机制。以往对 HA 研究较多,但对较 HA 更加活泼的 FA 和含量更多的 HM 却研究较少。要通过对化学组成和结构特征的系统对比研究,特别是从土壤肥力和土壤固碳的角度,区分不同的 HS 组分的化学稳定性,区分其对肥力或固碳的贡献率。

(3) 开展微团聚体中土壤有机质化学研究。微团聚体是土壤中能够发挥肥力和环境功能的、独立和普遍存在的最小的结构单位(相当于土壤中的细胞)。我们知道,不是所有土壤均有显著数量的水稳性团粒结构体,但微团聚体却是普遍存在的;有机无机复合体虽然普遍存在于土壤中,但由于表面

(2) 张晋京. 施用有机物料对土壤 FA 结构特征的影响. 吉林农业大学硕士学位论文, 1993

自由能太高,最终还是形成微团聚体。因此,微团聚体是土壤固碳的物理场所,不同的场所可能对固碳产生影响。目前对微团聚体中有机碳数量研究较多,但对不同大小团聚体中 SOM 或 HS 化学组成和结构特征研究不够。

(4) 研究腐殖物质形成转化的微生物学过程。HS 形成是土壤固碳的重要过程,微生物应该是最主要的劳动者。但是目前尚不清楚植物材料形成的 HS 究竟是微生物/吃剩下的垃圾 O, 还是微生物/重新合成的产物 O, 或两者兼有? 不同微生物形成的 HS 化学特征和稳定性是否有区别? 这是和/场所 O 同样重要的腐殖物质形成机理,也是土壤固碳机理的核心问题。

(5) 更加重视农业措施的影响。重视施用有机肥和对土壤进行高强度利用是我国农业的特点。依赖于长期定位试验和模拟实验,研究长期施用有机肥(土壤有机培肥)对 SOM 的化学特征的影响,已经有较好的研究基础,但要得出一致的规律,还需要更深入系统的研究。高强度利用条件下 SOM 数量和质量的规律还有待于深入研究,应尽快设计有关的长期定位试验。

(6) 重视土壤腐殖物质与重金属和有机污染物的相互作用研究。土壤腐殖物质对重金属和有机污染物的作用机理是近年来的研究热点并取得进展,但反过来对重金属和有机污染物存在条件下土壤腐殖物质的形成特点和结构变化目前了解的还不多,可以想象重金属和有机污染物通过影响微生物会影响到土壤腐殖物质的形成和转化,甚至结构特征的变化。

## 参考文献

[ 1 ] Singer M J, Munns D N. *Soils: An Introduction*. 4th Ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc., 1999

[ 2 ] 李学垣主编. 土壤化学. 北京: 高等教育出版社, 2001. 1~56, 406. Li X Y. *Soil Chemistry* (In Chinese). Beijing: Higher Education Press, 2001. 1~56, 406

[ 3 ] Klavins M, Serzane J. Use of humic substances in remediation of contaminated environments. *Conference of Bioremediation of Contaminated Soils*. New York: Marcel Dekker, 2000. 217~236

[ 4 ] 黄昌勇. 土壤学. 北京: 中国农业出版社, 2000. Huang C Y. *Soil Science* (In Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2000

[ 5 ] Pallo F J P. Evolution of organic matter in some soils under shifting cultivation practices in Burkina Faso. In: Mulongoy K, Merckx R. Eds. *Soil Organic Matter Dynamics and Sustainability of Tropical Agriculture*. Chichester, U. K.: John Wiley and Sons

1993. 77~88

[ 6 ] 窦森, 肖彦春, 张晋京. 土壤胡敏素各组分数量及结构特征初步研究. *土壤学报*, 2006, 43(6): 934~940. Dou S, Xiao Y C, Zhang J J. Quantities and structural characteristics of various fractions of soil humin (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(6): 934~940

[ 7 ] Achard F K. *Chemische Untersuchung des Torfs*. *Ceell s Chem. Ann.*, 1786. 2: 391~403

[ 8 ] Kononova M M. *Soil organic matter*. Elmsford, New York: Pergamon Press, 1966

[ 9 ] Schnitzer M, Khan S U. *Soil organic matter*. Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier Scientific Publishing Company, 1978

[ 10 ] MacCarthy P. *The principles of humic substances*. *Soil Science*, 2001, 166: 738~751

[ 11 ] Stevenson F J. *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reaction*. New York: Wiley-Interscience Publication, 1982

[ 12 ] Aiken G R, Boran D, Breger I A, et al. *Humic substances in soil, sediment and water (Section N, O, O)*. New York: Wiley-Interscience Publication, 1985

[ 13 ] Sylvia D M, Fuhrmann J J, Hartel P G, et al. *Principles and applications of soil microbiology*. New Jersey: Prentice-Hall Inc., 1998

[ 14 ] 窦森. 土壤腐殖物质形成转化及其微生物学机理研究进展. *吉林农业大学学报*, 2008, 30(4): 421~426. Dou S. A review of formation and transformation and its microbiological mechanism on soil humic substances (In Chinese). *Journal of Jilin Agricultural University*, 2008, 30(4): 421~426

[ 15 ] Duchaufour P. New findings on humification in forest soils under temperate conditions. *Pochvovedeni*, 1998(7): 883~889

[ 16 ] 米航线, 程丽娟, 王中科. 几种微生物对土壤腐殖质形成的作用. *西北农业大学学报*, 1997, 25(6): 79~82. Lai H X, Cheng L J, Wang Z K. Effect of several microorganisms on the formation of soil humus (In Chinese). *Journal of Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry*, 1997, 25(6): 79~82

[ 17 ] Ponomareva B B, Plobnikava T A 著. 魏开涓译. 腐殖质和土壤形成. 北京: 农业出版社, 1987. Ponomareva B B, Plobnikava T A. eds. Wei K M. trans. *Humus and Soil Formation* (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1987

[ 18 ] 姜岩, 窦森. 土壤施用有机物料后重组有机质变化规律的探讨. *土壤学报*, 1987, 24(2): 98~104. Jiang Y, Dou S. Effect of application of organic materials on the properties of humic substances in organo-mineral complexes of soils (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1987, 24(2): 98~104

[ 19 ] 王旭东, 关文玲, 殷开强. 玉米秸秆腐解过程物质组成以及胡敏酸的动态变化))) 胡敏酸性质及组成变异. *干旱地区农业研究*, 2001, 19(4): 11~15. Wang X D, Guan W L, Yin X Q. Dynamic change of chemical composition of corn straw and humic acid during different decomposition period. Change of humic acid properties and fractions (In Chinese). *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2001, 19(4): 11~15

[ 20 ] Balesdent J. The turnover of soil organic fractions estimated by radiocarbon dating. *The Science of the Total Environment*, 1987,

- 62 405~408
- [21] Balesdent J. The significance of organic separates to carbon dynamics and its modelling in some cultivated soils. *European Journal of Soil Science*, 1996, 47: 485~493
- [22] Schwizer M, Cadisch G, Fear J. Isotopic ( $^{13}\text{C}$ ) fractionation during plant residue decomposition and its implications for soil organic matter studies. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1999, 13(13): 1284~1290
- [23] Lichtfouse E, Dou S, Girard C, et al. Unexpected  $^{13}\text{C}$  enrichment of organic components from wheat crop soils. Evidence for the in situ origin of soil organic matter. *Org Geochem*, 1995, 23: 865~868
- [24] 窦森, 张晋京, Lichtfouse E, 等. 用  $\text{D}^{13}\text{C}$  方法研究玉米秸秆分解期间土壤有机质数量动态变化. *土壤学报*, 2003, 40(3): 328~334. Dou S, Zhang J J, Lichtfouse E, et al. Study on dynamic change of soil organic matter during corn stalk decomposition by  $\text{D}^{13}\text{C}$  method (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(3): 328~334
- [25] 沈善敏. 中国土壤肥力. 北京: 中国农业出版社, 1998. Shen SM. *Soil Fertility of China* (In Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 1998
- [26] Anderson D W, Paul E A. Organic-mineral complexes and the study by radiocarbon dating. *Soil Sci Soc Am J*, 1984, 48: 298~301
- [27] 窦森, Lichtfouse E, Mariotti A.  $\text{C}_3$  和  $\text{C}_4$  植物条件下土壤 HA 的水解、热解和 GCMS、 $\text{D}^{13}\text{C}$ 、 $\text{D}^{15}\text{N}$  研究. *土壤通报*, 1995, 26(6): 271~273. Dou S, Lichtfouse E, Mariotti A. Study on hydrolysis and pyrolysis of soil HA and GCMS,  $\text{D}^{13}\text{C}$ ,  $\text{D}^{15}\text{N}$  under the conditions of  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  plant (In Chinese). *Chinese Journal of Soil Science*, 1995, 26(6): 271~273
- [28] Banerjee SH, Chakraborty A K. Distribution and nature of soil organic matter in the surface soils of West Bengal. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 1977, 25: 18~22
- [29] Tardy Y R, Schaul J, Duplay. Domaines de stabilité thermodynamiques des humus de la microflore et des plantes. *C R Acad Sci Paris*, 1997, t 324, Série 0 a 969~976
- [30] Nissenbaum A, Shallinger K M. The distribution of the stable carbon isotope ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) in fractions of soil organic matter. *Geoderma*, 1974, 11: 137~145
- [31] 窦森, 张晋京, 于水强, 等. 土壤 HA 和 FA 热力学稳定性初步研究. 中国科技论文在线, <http://www.paper.edu.cn>, 2007-02-01
- [32] 窦森. 土壤有机质热力学稳定性研究方法. 见: 农业资源与环境可持续发展的探讨. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1998. 94~100. Dou S. Study on thermodynamical stability of soil organic matter. In: *Discussion on Agricultural Resource and the Development of Environment* (In Chinese). Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1998. 94~100
- [33] Martin N L, Rosell R, Sposito G. Correlation of spectroscopic indicators of humification with mean annual rainfall along a temperate grassland climosequence. *Geoderma*, 1998, 81: 305~311
- [34] Calace N F, Fiorentini B M, Petronio M P. Effects of acid rain on soil humic compounds. *Talanta*, 2001, 54(5): 837~846
- [35] Fujitake N, Kusumoto A, Tsukamoto M, et al. Properties of soil humic substances in fractions obtained by sequential extraction with pyrophosphate solutions at different pHs. II. Elemental composition and UV-VIS spectra of humic acids. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1999, 45(2): 349~358
- [36] 牛灵安, 郝晋珉, 李吉进. 盐渍土熟化过程中腐殖质特性的研究. *土壤学报*, 2001, 38(1): 114~122. Ni L A, Hao J M, Li J J. Characteristics of humus in maturing salt affected soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2001, 38(1): 114~122
- [37] D'Acqui L P, Daniele E, Fomasier F, et al. Interaction between clay microstructure, decomposition of plant residues and humification. *European Journal of Soil Science*, 1998, 49(4): 579~587
- [38] Gris B, Grace C, Brookes P C, et al. Temperature effects on organic matter and microbial biomass dynamics in temperate and tropical soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(10/11): 1309~1315
- [39] 赵斌军, 文启孝. 石灰性母质对土壤腐殖质组成和性质的影响. *土壤学报*, 1988, 25(3): 243~251. Zhao B J, Wen Q X. Effect of calcareous parent materials on the composition and characteristics of soil humus (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1988, 25(3): 243~251
- [40] 刘立诚. 新疆地带性土壤腐殖质组成、性质及其分布规律. *新疆大学学报(自然科学版)*, 1995, 12(3): 85~90. Liu L C. The composition and nature of zonal soils humus in Xinjiang and their distributional regularity (In Chinese). *Journal of Xinjiang University (Natural Science Edition)*, 1995, 12(3): 85~90
- [41] Liang B C, Gregorich E G, MacKenzie A F. Short-term mineralization of maize residues in soils as determined by carbon-213 natural abundance. *Plant and Soil*, 1999, 208(2): 227~232
- [42] Vodyanitsky Y N. The thermodynamic parameters of soil humus. *Russian Agricultural Sciences*, 1999, 8: 22~27
- [43] Naud R, Raman K V. Free energy change during complexation of metals with humic and FA. *Clay Research*, 1988, 7: 54~56
- [44] 杨亚提, 张一平, 白锦麟, 等. 土壤胡敏酸与铜离子络合反应及吸附过程热力学特征的研究. *土壤学报*, 1997, 34(4): 375~381. Yang Y T, Zhang Y P, Bai J L, et al. Study on the thermodynamic characteristics of complexation and adsorption of copper ion by different soil humic acids (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1997, 34(4): 375~381
- [45] Ponomarev D G. *Dynamics of Soil Processes and Fertility of Irrigated Soils*. Volgograd, 1990. 36~45
- [46] Piccolo A. The supramolecular structure of humic substances. A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Advances in Agronomy*, 2002, 75: 57~134
- [47] Schnitzer M. Humic substances. Chemistry and reactions. In: Khan S U, ed. *Soil Organic Matter*. New York: Elsevier Scientific Publishing Company, 1978. 1~64
- [48] Alexandrowa L N. The use of sodium pyrophosphate for isolating free humic substances and their organic-mineral compounds from soil. *Soviet Soil Science*, 1960, 2: 190~197



- [49] Schnitzer M, Schuppli P. Method for the sequential extraction of organic matter from soils and soil fractions. *Soil Sci Soc Am J*, 1989, 53: 1418~1424
- [50] Cameron R S, Thomson B K, Swift R S, et al. Molecular weight and shape of humic acid from sedimentation and diffusion measurements on fractional extracts. *Journal of Soil Science*, 1972, 23: 394~408
- [51] Piccolo A, Mirabella A. Molecular weight distribution of peat humic substances extracted with different inorganic and organic solutions. *The Science of the Total Environment*, 1987, 62: 39~46
- [52] Oades J M. Soil organic matter and structural stability. Mechanisms and implications for management. *Plant and Soil*, 1984, 76: 319~337
- [53] Kumada K, Sato O, Ohsumi Y, et al. Humus composition of main soil in central Japan with special reference to the distribution of P type humic acid. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1967, 13: 151~158
- [54] Rice J A. Humic. A review. *Soil Science*, 2001, 166: 848~857
- [55] Rice J A, MacCarthy P. A model of humic. *Environ Sci Technol*, 1990, 24(12): 1875~1877
- [56] Preston C M, Newman R H. Demonstration of spatial heterogeneity in the organic matter of deashed humic samples by solid state  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR. *Can. J Soil Sci*, 1992, 72: 13~19
- [57] Tsutsuki K, Kuwatsuka. Characterization of humic metal complexes in a buried volcanic ash soil profile and a peat soil. *Soil Sci Plant Nutr*, 1992, 38: 297~306
- [58] Ahmendros G, Gonzalez Vilaf J. Degradative studies on a soil humic fraction. sequential degradation of inherited humic. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19: 513~520
- [59] Ceppi S B, Velasco M J, Fetsch D, et al. Fingerprints of humic acids by capillary zone electrophoresis. *Sociedad Chilena de Quimica*, 1999, 44(4): 139~146
- [60] Andelković T, Andelković D, Perović J, et al. Decrease of oxygen interference on humic acid structure alteration during isolation. *Physics Chemistry and Technology*, 2001, 2(3): 163~171
- [61] Peuravuori J, Hämäläinen P, Pihlaja K, et al. Multimethod lake aquatic humic matter isolated with sorbing solid and tangential membrane filtration. 2001, 55: 733~742
- [62] Watanabe A, Kuwatsuka S. Fractionation of soil fulvic acids using polyvinylpyrrolidone and their ionization difference spectra. *Soil Sci Plant Nutr*, 1991, 37: 611~617
- [63] Watanabe A, Kuwatsuka S. Chemical characteristics of soil fulvic acids fractionated using polyvinylpyrrolidone (PVP). *Soil Sci Plant Nutr*, 1992, 38: 31~41
- [64] Fukushima M, Kikuchi A, Tatsumi K, et al. Separation of fulvic acid from soil extracts based on ion pair formation with a cationic surfactant. *Analytical Sciences* February, 2006, 22: 229~233
- [65] Swift R S, Malcolm R L. Isolation of humic substances from soil using aqueous extracts of different pH and XAD resins and their characterization by  $^{13}\text{C}$  NMR. In: Clapp C E, Hayes M H, B. Senesi N, et al. eds. *Humic Substances and Organic Matter in Soil and Water Environments*. Proceeding of 7th International Conference. International Humic Substance Society, University of Minnesota, St. Paul, MN: International Humic Substance Society Press, 1996: 13~24
- [66] Hayes M H B, Tseng T S, Wang M K. Chemistry of soil organic matter. *Taiwan J For Sci*, 2007, 22(3): 215~226
- [67] 窦森, 陈恩凤, 须湘成, 等. 土壤有机培肥后胡敏酸结构特征变化规律的探讨. 胡敏酸的化学性质和热性质. *土壤学报*, 1992, 29(2): 199~207. Dou S, Chen E F, Xu X C, et al. Effect of improving soil fertility by organic material application (sifma) on structural characteristics of humic acids in soils (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1992, 29(2): 199~207
- [68] Hayes M H B, MacCarthy R L, Malcolm R L, et al. Humic substances. In search of structure. New York: Wiley-Interscience Publication, 1989
- [69] Hayes M H B, Clapp C E. Humic substances. Considerations of compositions, aspects of structure, and environmental influences. *Soil Science*, 2001, 166: 723~737
- [70] Burdon J. Are the traditional concepts of the structures of humic substances realistic? *Soil Sci*, 2001, 166: 752~769
- [71] Stein L T S, Kolla J M, Vamum G, et al. Conformational modeling of a proposed building block of humic acid. Searching chirally undefined conformational space. In: Drozd J, Gonet S, Senesi N, et al. eds. *The Role of Humic Substances in the Ecosystems and in Environmental Protection*. PTSH2 Polish Society of Humic Substances, 1997: 73~77
- [72] Buffle J. Les substances humiques et leur interaction avec les ions minéraux. In: Conference Proceedings of la Commission d'Hydrologie Appliquée de l'A. G. H. T. M. L'Université d'Orsay, 1997: 3~10
- [73] Schulten H R, Schnitzer M. Chemical model structures for soil organic matter and soils. *Soil Sci*, 1997, 162: 115~130
- [74] Piccolo A. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Sci*, 2001, 166: 810~832
- [75] 窦森, 陈恩凤, 谭世文, 等. 不同来源胡敏酸的结构表征. *吉林农业大学学报*, 1989, 11(2): 50~56. Dou S, Chen E F, Tan S W, et al. Characterization of humic acids from different origin (In Chinese). *Journal of Jilin Agricultural University*, 1989, 11(2): 50~56
- [76] Christl T H, Knicker I, Kogel-Knabner, et al. Chemical heterogeneity of humic substances. Characterization of size fractions obtained by hollow fibre ultrafiltration. *European Journal of Soil Science*, 2000, 51(4): 617~625
- [77] Arshad M A, Rimmer J A, Schnitzer M. Attempts to improve solid state  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of whole mineral soils. *Can. J Soil Sci*, 1988, 68: 593~602
- [78] 熊田恭一著. 李庆荣, 等译. 土壤有机质的化学. 北京: 农业出版社, 1984. Xiong Tian G Y, ed. Li Q R, et al. *trans. Chemical of Soil Organic Matter* (In Chinese). Beijing: Agricultural Science Press, 1984

- [ 79 ] 袁可能, 张友金. 土壤腐殖质氧化稳定性的研究. 浙江农业科学, 1964, 7: 345~ 349. Yuan K N, Zhang Y J. The Study on oxidative stability of soil humus ( In Chinese). Journal of Agricultural Science of Zhejiang, 1964, 7: 345~ 349.
- [ 80 ] Dou S, Chen E F, Xu X C, et al. Effect of organic manure application on physical properties and humus characteristics of paddy soil. *Pedosphere*, 1994, 4(2): 127~ 135.
- [ 81 ] Lichtfouse E, Abrecht P, Bhar F, et al. A molecular isotopic study of the organic matter from the Paris Basin, France. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1994, 58: 209~ 221.
- [ 82 ] 窦森, Lichtfouse E, Mariotti A. 土壤胡敏酸的温和水解及分组研究. 土壤胡敏酸的水解和分组方法. 土壤通报, 1998, 29(5): 206~ 208. Dou S, Lichtfouse E, Mariotti A. Mild hydrolysis and alcohol compounds of humic acids. Hydrolysis and method of packet ( In Chinese). *Chinese Journal of Soil Science*, 1998, 29(5): 206~ 208.
- [ 83 ] 窦森, Lichtfouse E, Mariotti A. 土壤胡敏酸的温和水解及分组研究. 胡敏酸水解产物中的醇类化合物. 土壤通报, 2002, 33(1): 17~ 20. Dou S, Lichtfouse E, Mariotti A. Mild hydrolysis and alcohol compounds of humic acids. Alcohols in hydrolyzed products of humic acids ( In Chinese). *Chinese Journal of Soil Science*, 2002, 33(1): 17~ 20.
- [ 84 ] 窦森, 陈恩凤, 须相成, 等. 施用有机肥料对土壤胡敏酸结构特征的影响. 胡敏酸的光学性质. 土壤学报, 1995, 32(1): 41~ 49. Dou S, Chen E F, Xu X C, et al. Effect of application of organic manures on the structural characteristics of humic acids in soils. The optical properties of HAs ( In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1995, 32(1): 41~ 49.
- [ 85 ] 赵高侠, 张一平, 白锦麟, 等. 不同施肥条件与年限对胡敏酸能态及热分解特性的影响. 土壤学报, 1995, 32(3): 284~ 291. Zhao G X, Zhang Y P, Bai J L, et al. Effect of different fertilization conditions and years on energy state and pyrolytic characteristics of soil humic acid ( In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1995, 32(3): 284~ 291.
- [ 86 ] 窦森, 华士英. 施用有机肥料对土壤胡敏酸结构特征的影响. 胡敏酸的<sup>1</sup>H核磁共振波谱. 土壤学报, 1997, 34(3): 225~ 234. Dou S, Hua S Y. Effect of organic manure application on structural characteristics of humic acids. <sup>1</sup>H NMR spectra of humic acids ( In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1997, 34(3): 225~ 234.
- [ 87 ] Simpson A J, Kingery W, Spraul M, et al. Separation of structural components in soil organic matter by diffusion ordered spectroscopy. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35: 4421~ 4425.
- [ 88 ] 窦森. 核磁共振波谱在土壤有机质研究中的应用. 土壤通报, 1988, 19(5): 237~ 239. Dou S. Application of NMR spectroscopy in research of humic materials ( In Chinese). *Chinese Journal of Soil Science*, 1988, 19(5): 237~ 239.
- [ 89 ] Dou S, Zhang J J, Li K. Effect of organic matter applications on <sup>13</sup>C NMR spectra of humic acids of soil. *European Journal of Soil Science*, 2008, 59: 532~ 539.
- [ 90 ] Bayer C, Martin N et al, Michalcuk J et al. Tillage and cropping system effects on soil humic acid characteristics as determined by electron spin resonance and fluorescence spectroscopies. *Geoderma*, 2002, 105(1/2): 81~ 92.
- [ 91 ] Howard P J A, Howard D M, Lowe L E. Effects of tree species and soil physicochemical conditions on the nature of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(3): 285~ 297.
- [ 92 ] Novotny E H, Blum W E H, Gerzabek M H. Soil management system effects on size fractionated humic substances. *Geoderma*, 1999, 92(1/2): 87~ 109.
- [ 93 ] Pereverzev V N, Sveystup T E, Strelkova M S, et al. The effect of cultivation on the chemical composition and agrochemical properties of podzolic soils in Muzhayskaya oblast and northern Novaya Zemlya. *Agrokhimiya*, 1998(7): 21~ 26.
- [ 94 ] McCallister D L, Chen W. Organic carbon quantity and forms as influenced by tillage and cropping sequence. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2000, 31(3/4): 465~ 479.
- [ 95 ] Plaza C, Senesi N, Garcia Gil J C, et al. Effects of pig slurry application on soils and soil humic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(17): 4867~ 4874.
- [ 96 ] 刘小虎, 邹德乙, 康笑峰, 等. 长期轮作施肥对棕壤腐殖酸动态变化的影响. 土壤通报, 1999, 30(2): 68~ 70. Liu X H, Zhou D Y, Kang X F, et al. Effect of long-term rotated fertilization on dynamic change of soil humic acid in brown soil ( In Chinese). *Chinese Journal of Soil Science*, 1999, 30(2): 68~ 70.

## ADVANCEMENT IN THE STUDY ON FORMATION, TRANSFORMATION AND STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF SOIL HUMIC SUBSTANCES

Dou Sen, Li Kai, Cui Juntao, Guan Song, Zhang Jinjing

(College of Resources and Environmental Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract** Soil organic matter (SOM) is a kind of natural organic matter, extremely complex in composition and important in soil chemistry. In terms of its chemical nature, SOM consists of two main portions, that is, humic substances (HS) and non-humic substances. HS is the principal body of SOM, and plays a vital role in soil nutrient recycling and carbon sequestration. SOM attracts numerous scientists for its importance and complexity. To better understand soil HS

and find new research area. This review sums up status quo of the study on formation-transformation and its stability (including formation sequences of humic fractions, inter-transformation, driving factors, isotope discrimination and thermodynamic stability, etc.), chemical composition and structural characteristics (including extraction, purification and structure characterization, etc.) of soil HS and its response to human factors (including the effects of tillage, fertilization and land use, etc.) and puts forth suggestions that further efforts should be made to apply advanced technology to the study and resume the study of chemical fractionation and structural characteristics of HS and relationship between HS formation-transformation and agricultural practices.

**Key words** Soil humic substances; Formation-transformation; Chemical fractionation; Structural characteristics; Tillage and fertilization