

EGCG溶液浓度与酸碱度对黄壤Al、Fe和Mn形态的影响*

张俊思 袁大刚[†] 付宏阳 翁倩 王昌全

(四川农业大学资源学院, 成都 611130)

摘要 植物多酚可通过络合作用改变元素的存在形态。采用双因素完全随机试验设计, 通过浸提试验研究表没食子儿茶素没食子酸脂(EGCG)溶液浓度、酸碱度、浓度与酸碱度互作对黄壤可溶态、游离态、无定形态和络合态铝(Al)、铁(Fe)和锰(Mn)的影响。结果表明: EGCG溶液浓度对黄壤可溶态和络合态Al、Fe、Mn及无定形态Al、Fe均产生极显著影响, EGCG溶液酸碱度对黄壤可溶态及无定形态Al、Fe、Mn均产生显著或极显著影响, EGCG溶液浓度与酸碱度对黄壤可溶态Al、Fe、Mn, 无定形态和络合态Al也有极显著或显著的互作效应。相关分析结果显示, 土壤中3种元素的无定形态氧化物含量与对应的可溶态氧化物含量呈显著或极显著负相关, 表明EGCG溶液主要通过改变氧化物形态, 特别是无定形态氧化物含量, 影响元素活化, 进而改变其可溶态含量; Al和Mn的活化会使土壤滤液pH降低, 在pH降低幅度较大时, 可能导致土壤酸化。本试验一方面为研究酸性茶园土壤酸化的来源提供了方向, 另一方面也可作为植物Al/Mn毒害的防治提供参考, 但在利用植物多酚类物质防治土壤Al/Mn毒害的同时要处理好土壤酸化与治理毒害的关系。

关键词 表没食子儿茶素没食子酸脂(EGCG); 浓度; 酸碱度; 矿质元素; 黄壤

中图分类号 S156.4 **文献标识码** A

铝(Al)、铁(Fe)、锰(Mn)是土壤中重要的矿质元素, 其中, Fe、Mn是植物必需的微量营养元素。土壤Al、Fe、Mn主要以水溶态、交换态、矿物态(硅酸盐和氧化物, 氧化物又可以分为结晶态和无定形态)和有机络合态等形态存在。尽管土壤 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 在强还原环境中常见, 但在强酸性土壤中, 大量的Fe、Mn也能以低价态的 Fe^{2+} 、 Mn^{2+} 存在, 植物容易受到毒害^[1]; Al为非变价元素, 离子态Al, 即 Al^{3+} 的积累也容易导致Al毒的发生^[2]。

植物多酚是一类广泛存在于植物叶、根、果等器官中的重要次生代谢产物, 可以以根系分泌或枯枝落叶分解等形式进入土壤系统^[3]。茶树是多酚含量较高的一种植物, 茶叶中的多酚含量占总干物质的18%~36%^[4]。中国是茶树原产地, 在

全国二十多个省(市、自治区)均有种植。截至2015年, 中国茶园面积已达 2.73×10^4 hm^2 , 茶叶产量 2.25×10^4 t, 均已位居世界第一。伴随茶树的生长发育, 茶多酚(茶树体内代谢产生的多酚)在土壤中积累^[5]。茶园土壤总酚含量在1009~3730 $mg\ kg^{-1}$ 之间^[6]; 在茶多酚组分中, 以儿茶素类最多, 占总量的70%~80%, 儿茶素类中又以表没食子儿茶素没食子酸脂(EGCG)含量最高^[7]。茶多酚及其组分易于分离提纯, 有利于开展多酚-金属相互作用的研究, 其含量最高、活化能力较强的组分——EGCG可以当“模式”多酚^[3]。EGCG含有的邻位酚羟基能与许多金属离子在酸解离位点上发生配位作用而形成络合物^[4, 8]; EGCG的络合作用可促进质子的不断解离, 从而促进质子作用的发生^[4]; EGCG除与Al、Fe、Mn发生质子作

* 国家自然科学基金项目(41371230)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.41371230)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail: 690654034@qq.com

作者简介: 张俊思(1990—), 女, 四川成都人, 硕士, 主要从事土壤资源可持续利用研究。E-mail: 1158016014@qq.com

收稿日期: 2016-12-01; 收到修改稿日期: 2017-01-15; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-02-20

用和络合作用外,还可使高价的Fe、Mn发生还原溶解^[7, 9-10],这些作用影响土壤Al、Fe、Mn的活化和迁移,从而对植物生物有效性或毒性产生影响。

研究表明,EGCG溶液浓度和酸碱度影响土壤Al、Fe的活化量,它们均随EGCG浓度的升高而增加,同时随EGCG溶液pH的升高呈现不同程度地增加^[7];EGCG与土壤Al、Fe络合计量比也对其活化产生影响^[3]。此外,EGCG溶液酸碱度对元素的影响还体现在络合物组成上,如Al³⁺与EGCG在不同pH的溶液中可形成络合比为1:1、2:1或3:1的络合物^[11]。然而,这些报道仅仅研究了单一因素对Al、Fe、Mn活化的影响,缺乏多因素互作效应研究;目前的研究也缺乏多因素互作对土壤Al、Fe、Mn氧化物形态转化影响的探讨。鉴于此,本文采用双因素完全随机试验设计,通过土壤浸提试验,研究EGCG浓度与酸碱度互作对黄壤Al、Fe、Mn的影响,为有效控制Al/Mn毒害等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试试剂:EGCG,购买于湖州荣凯植物提取公司,纯度大于98%。

供试土壤:黄壤,采集于四川省雅安市名山区,地理位置为30°07'19.7" N, 103°09'08.6" E,海拔794 m,发育于第四纪更新统冰水沉积物母质。为了减少土壤有机质及多酚对研究的影响,样品采集时选择非茶园土壤,采集深度为30~50 cm,其基本化学性质见表1。

1.2 试验设计

本试验将EGCG溶液设置成4个浓度水平和4个酸碱度水平,浓度分别为0.00、0.25、1.00和5.00 mmol L⁻¹,记为A1、A2、A3、A4;pH分别为3.5、4.5、5.5和对照CK(去离子水,其pH为7.2),记作B1、B2、B3、B4。采用双因素完全随机试验设计,共16个处理(表2),每个处理重复3次。

表1 供试土壤的基本性质

Table 1 Basic properties of tested soil

土壤类型 Soil type	pH	有机质 OM (g kg ⁻¹)	矿质全量元素 Total contents of elements (g kg ⁻¹)			游离氧化物 Free oxides (g kg ⁻¹)			无定形氧化物 Amorphous oxides (g kg ⁻¹)			络合态氧化物 Complex oxides (g kg ⁻¹)		
			Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MnO
			黄壤 Yellow soil	4.26	11.07	128.72	76.64	0.32	10.68	52.65	0.13	3.30	2.62	0.08

具体操作步骤:(1)配置浓度分别为0.00、0.25、1.00和5.00 mmol L⁻¹的EGCG溶液。(2)参照Li等^[12]的方法配置不同浓度和酸碱度组合的浸提液:先在500 ml容量瓶中加入10 mL 0.5 mol L⁻¹的醋酸/醋酸钠缓冲溶液,再分别加入上述不同浓度EGCG溶液,接近刻度时,用1:1 HNO₃和5.0 mol L⁻¹ NaOH分别调节pH至3.5、4.5和5.5,最后定容。(3)准确称取48份10 g过10目筛的风干土样于250 ml聚乙烯塑料瓶中,用分液器按1:10的土液比^[13]分别加入100 ml上述浸提液和未调过pH的不同浓度的EGCG溶液,即CK系列(表2),用恒温振荡器在室温(25℃)下振荡24 h^[14],过滤,测定滤液中Al、Fe、Mn含量(此含量即为本文中

提到的可溶态Al、Fe、Mn含量,记为Al_s、Fe_s、Mn_s)。将过滤后的土样在60℃^[15]的烘箱中烘干48 h,用玛瑙研钵研磨,过60目筛,以备测定土壤中游离态、无定形态和络合态Al、Fe、Mn。所有操作条件均相同。

1.3 指标及分析方法

参照文献[16]测定以下基本指标:土壤pH采用电位法测定;有机质采用K₂Cr₂O₇-H₂SO₄消化法测定;土壤全量Al、Fe、Mn提取液采用HF-HClO₄法消煮得到;土壤游离态Al、Fe、Mn提取液用柠檬酸钠—连二亚硫酸钠—重碳酸钠(DCB)法浸提获得,记作Al_d、Fe_d、Mn_d;土壤无定形态Al、Fe、Mn提取液用H₂C₂O₄-(NH₄)₂C₂O₄溶液在

表2 EGCG浓度和酸碱度设置情况

Table 2 Combinations of concentration and pH of EGCG solution

EGCG浓度 Concentrations of EGCG solution (mmol L ⁻¹)	EGCG溶液pH The pH of EGCG solution			
	3.5	4.5	5.5	CK
0.00	A1B1	A1B2	A1B3	A1B4
0.25	A2B1	A2B2	A2B3	A2B4
1.00	A3B1	A3B2	A3B3	A3B4
5.00	A4B1	A4B2	A4B3	A4B4

注: A1、A2、A3、A4表示EGCG浓度分别为0.00、0.25、1.00、5.00 mmol L⁻¹; B1、B2、B3表示EGCG溶液pH分别为3.5、4.5、5.5, B4为CK, 是去离子水自身的pH, 为7.2 Note: A1, A2, A3 and A4 stands for the concentrations of EGCG, 0.00, 0.25, 1.00 and 5.00 mmol L⁻¹, respectively; B1, B2 and B3 stands for pH of EGCG, 3.5, 4.5 and 5.5, respectively; and B4 represents for pH of deionized water, which is 7.2

避光条件下震荡2 h后过滤得到, 记作Al_o、Fe_o、Mn_o; 土壤络合态Al、Fe、Mn提取液采用pH=10的Na₄P₂O₇溶液提取, 记作Al_p、Fe_p和Mn_p。用电感耦合等离子发射光谱仪(ICP-AES)测定以上提取液中各形态Al、Fe、Mn的含量。土壤滤液中的Al_s、Fe_s和Mn_s含量也采用ICP-AES测定。

1.4 数据处理

采用SPSS20.0软件对试验数据进行分析, 其中, 双因素方差分析与多重比较采用最小显著差数法(LSD)法在0.05水平下进行, 相关分析为Pearson分析。

2 结果

2.1 EGCG浓度与酸碱度对黄壤Al的影响

Al_s 据表3, EGCG浓度对黄壤Al_s含量有极显著影响, 随EGCG浓度的升高, 黄壤Al_s含量随之增加, 表现为A4 > A3 > A2 ≈ A1; EGCG溶液酸碱度对黄壤Al_s含量也有极显著影响, 表现为B1的含量显著高于其他pH条件的含量; EGCG浓度 × 酸碱度对黄壤Al_s含量的互作效应极显著, 高浓度低pH利于提高其含量, 表现为A4B1处理含量最高, 显著高于其他处理的Al_s含量。

Al_d 尽管黄壤Al_d含量总体上随EGCG浓度的升高而降低, 但EGCG浓度对黄壤Al_d含量无显著影响; 然而, EGCG溶液酸碱度对黄壤Al_d含量有极显著影响, 表现出B4显著高于B1和B3; EGCG浓度 × 酸碱度对黄壤Al_d含量无显著互作效应(表3)。

Al_o EGCG浓度对黄壤Al_o含量有极显著影响,

随EGCG浓度从0.25 mmol L⁻¹升高至5.00 mmol L⁻¹, 黄壤Al_o含量显著减少, 即A4 < A3 < A2 ≈ A1; EGCG溶液酸碱度对黄壤Al_o含量也有极显著影响, 如B2的Al_o含量显著高于B3的Al_o含量, B3的Al_o含量显著高于B1的Al_o含量; EGCG浓度 × 酸碱度对黄壤Al_o含量仅有显著互作效应, 如A1B2和A2B2处理的Al_o含量较高, 显著高于A4与B1、B2、B3或B4互作的Al_o含量(表3)。

Al_p EGCG浓度对黄壤Al_p含量有极显著影响, 如A1的Al_p含量显著高于其他EGCG浓度的Al_p含量; EGCG溶液酸碱度对黄壤Al_p含量无显著影响, 而EGCG浓度 × 酸碱度对黄壤Al_p含量的互作效应达到显著水平, A1B4、A4B3处理下的Al_p含量较高, 显著高于A2B4、A4B1和A4B4的Al_p含量(表3)。

综上, EGCG浓度对黄壤Al_s、Al_o和Al_p含量均有极显著影响, 总体而言, 黄壤Al_s随EGCG浓度升高而显著增加, 而其余形态Al含量随EGCG浓度升高而呈现下降趋势。EGCG溶液酸碱度对黄壤Al_s、Al_d和Al_o也有极显著影响, 但影响方式较为复杂。EGCG浓度 × 酸碱度对黄壤Al_s的互作效应极显著, 表现为高浓度低pH有利于促进黄壤Al的活化, 对黄壤Al_o和Al_p的互作效应仅为显著水平, 而对Al_d无显著互作效应。对于各形态而言, 表现为Al_d > Al_o > Al_p > Al_s。

2.2 EGCG浓度与酸碱度对黄壤Fe的影响

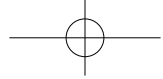
Fe_s 如表4所示, EGCG浓度对黄壤Fe_s含量有极显著影响, 其含量随EGCG浓度的升高而显著增加, 即表现为A4 > A3 > A2 > A1; EGCG溶液酸碱度对黄壤Fe_s含量也有极显著影响, 表现为B3的Fe_s

表3 EGCG溶液浓度与酸碱度对黄壤Al的影响

Table 3 Effects of EGCG on Al in Yellow Soil relative to concentration and pH of the solution

因素及互作 Main factors and interaction	Al _s 含量 Content of Al _s (mg kg ⁻¹)	Al _d 含量 Content of Al _d (g kg ⁻¹)	Al _o 含量 Content of Al _o (g kg ⁻¹)	Al _p 含量 Content of Al _p (g kg ⁻¹)
浓度Concentration (mmol L ⁻¹)				
A1	31.41c	10.75	3.78ab	1.60a
A2	33.81c	10.74	3.87a	1.38b
A3	58.56b	10.45	3.73b	1.45b
A4	256.21a	10.47	3.47c	1.34b
酸碱度pH				
B1	172.48a	10.52bc	3.47c	1.46
B2	58.01d	10.71ab	3.87a	1.33
B3	83.50b	10.28c	3.72b	1.52
B4	66.01c	10.90a	3.80ab	1.44
浓度×酸碱度 Concentration×pH				
A1B1	106.38f	10.77	3.38g	1.64ab
A1B2	9.85ij	10.75	4.09a	1.52abcd
A1B3	3.45j	10.40	3.82bcd	1.55abc
A1B4	5.97ij	11.08	3.82bcd	1.67a
A2 B1	107.51f	10.62	3.52efg	1.52abcde
A2B2	11.57ij	10.03	4.09a	1.37bcde
A2B3	3.35j	10.18	3.90abc	1.38bcde
A2B4	12.81i	11.13	3.99ab	1.25ef
A3 B1	143.78e	10.04	3.57efg	1.35cde
A3B2	31.33h	10.70	3.88abcd	1.39bcde
A3B3	11.83ij	10.56	3.75bcde	1.45abcde
A3B4	47.29g	10.49	3.74cde	1.60abc
A4 B1	332.24a	10.66	3.41fg	1.34cde
A4 B2	179.28d	10.35	3.41fg	1.08f
A4 B3	315.36b	9.98	3.43fg	1.71a
A4 B4	197.96c	10.91	3.63def	1.26def
浓度 Concentration	**	NS	**	**
酸碱度pH	**	**	**	NS
浓度×酸碱度 Concentration×pH	**	NS	*	*

注: NS、*和**分别表示双因素试验的方差分析结果为无显著、显著和极显著差异;同一列数字后的不同小写字母表示在0.05水平上差异显著;各形态Al均用Al₂O₃表达 Note: NS, *and ** indicates non-significant, significant and extremely significant in the two-way analysis of variance, respectively. Different lower-case letters in the same column mean significant difference at 0.05 level. All the forms of Al are represented as Al₂O₃



含量显著高于其他pH条件的 Fe_s 含量; EGCG浓度×酸碱度对黄壤 Fe_s 含量的互作效应极显著, 表现为A4B3处理的 Fe_s 含量最高, 显著高于其他处理的 Fe_s 含量。

Fe_d 尽管黄壤 Fe_d 含量总体上随EGCG浓度或酸碱度的升高而升高, 但EGCG浓度或酸碱度对黄壤 Fe_d 含量无显著影响; EGCG浓度×酸碱度对黄壤 Fe_d 含量却有显著互作效应, 如A2B1的 Fe_d 含量显著低于A2与B2、B3或B4互作的 Fe_d 含量, A3B1的 Fe_d 含量显著低于A3与B2、B3或B4互作的 Fe_d 含量(表4)。

Fe_o EGCG浓度对黄壤 Fe_o 含量有极显著影响, 当浓度从0.25 mmol L⁻¹升高至5.00 mmol L⁻¹时, Fe_o 含量呈显著降低趋势; EGCG溶液酸碱度对黄壤 Fe_o 含量仅有显著影响, 表现为B2或B3的 Fe_o 含量显著高于B1的 Fe_o 含量; EGCG浓度×酸碱度对黄壤 Fe_o 含量却无显著互作效应(表4)。

Fe_p EGCG浓度对黄壤 Fe_p 含量有极显著影响, 且 Fe_p 含量随着EGCG浓度的升高而显著降低, 表现为A1 > A2 ≈ A3 > A4; EGCG溶液酸碱度、浓度×酸碱度对黄壤 Fe_p 含量均无显著互作效应(表4)。

综上, EGCG浓度对黄壤 Fe_s 、 Fe_o 和 Fe_p 含量均有极显著影响, 黄壤 Al_s 随EGCG浓度升高而显著增加, 而其余形态Fe含量随EGCG浓度升高而呈下降趋势。EGCG溶液酸碱度对黄壤 Fe_s 和 Fe_o 分别有极显著或显著影响, 且均为B3显著高于B1的 Fe_s 或 Fe_o 含量。EGCG浓度×酸碱度对黄壤 Fe_s 和 Fe_d 的互作效应分别达到极显著或显著水平。对于各形态而言, 表现为 $Fe_d > Fe_o > Fe_p > Fe_s$ 。

2.3 EGCG浓度与酸碱度对黄壤Mn的影响

Mn_s 据表5, EGCG浓度对黄壤 Mn_s 含量有极显著影响, 随EGCG浓度的升高, 黄壤 Al_s 含量随之显著增加; EGCG溶液酸碱度对黄壤 Mn_s 含量也有极显著影响, 表现为B1的 Mn_s 含量显著高于其他pH条件的 Mn_s 含量, 即B1 > B4 > B2 > B3; EGCG浓度×酸碱度对黄壤 Mn_s 含量的互作效应也极显著, 表现为高浓度低pH有利于提高其含量, 如A4B1处理含量最高, 显著高于其他处理的 Mn_s 含量。

Mn_d 虽然黄壤 Mn_d 含量随EGCG浓度的升高而增加, 随EGCG溶液pH值的升高也有增加趋势, 但EGCG浓度和酸碱度均对黄壤 Mn_d 含量无显著影响, 而且EGCG浓度×酸碱度对黄壤 Mn_d 含量也无显著互作效应(表5)。

Mn_o 其含量随着EGCG浓度的升高而逐渐增加, 但EGCG浓度对黄壤 Mn_o 含量无显著影响; EGCG溶液酸碱度对黄壤 Mn_o 含量有显著影响, 如B3的 Mn_o 含量显著高于其他pH条件的 Mn_o 含量; 但EGCG浓度×酸碱度对黄壤 Mn_o 含量无显著互作效应(表5)。

Mn_p EGCG浓度对黄壤 Mn_p 含量有极显著影响, 表现为A1的 Mn_p 含量显著低于其他浓度的 Mn_p 含量; 虽然 Mn_p 含量随pH升高而升高, 但EGCG溶液酸碱度对黄壤 Mn_p 含量无显著影响; EGCG浓度×酸碱度互作对黄壤 Mn_p 含量影响不显著(表5)。

综上, EGCG浓度对黄壤 Mn_s 和 Mn_p 含量均有极显著影响, 即EGCG浓度的改变能显著影响它们的含量; EGCG溶液酸碱度对黄壤 Mn_s 和 Mn_o 含量有极显著影响, 除B4外, 随EGCG溶液pH的升高, 黄壤 Mn_s 含量显著降低, 而 Mn_o 含量显著升高; EGCG浓度×酸碱度互作对黄壤 Mn_s 有极显著影响, 表现为高浓度低pH有利于促进黄壤Mn的溶解活化。对于各形态而言, 表现为 $Mn_d > Mn_o > Mn_p > Mn_s$ 。

2.4 EGCG浓度与酸碱度作用下黄壤Al、Fe、Mn的相关关系

由黄壤各形态Al、Fe、Mn及滤液pH的相关分析结果(表6)可知, 滤液pH与 Al_o 、 Fe_o 、 Mn_o 均呈极显著正相关, Al_s 与 Al_o 、 Fe_s 与 Fe_o 以及 Mn_s 与 Mn_o 间均显著或极显著负相关, 表明黄壤Al、Fe、Mn的活化受其对应无定形态氧化物的影响较大。无定形Al、Fe和Mn含量因进入土壤溶液而降低, 这造成滤液中Al、Fe和Mn含量相应升高, 即Al、Fe和Mn被活化; 也会使土壤滤液pH降低, 即可能造成土壤酸化。滤液pH与 Al_s 、 Mn_s 均呈极显著负相关, 表明滤液中pH受溶液中可溶性Al和Mn影响, 并随它们含量的增加而降低。这是因为土壤Al被活化而进入溶液, 增加了溶液中Al的含量, 当Al以离子态存在于溶液时, 作为致酸离子的Al离子将使溶液pH降低, 而可溶性Al与可溶性Mn呈极显著正相关, 因而表现出浸出液pH与 Al_s 、 Mn_s 均呈极显著负相关关系的特征。

3 讨论

本试验表明, EGCG浓度×酸碱度对 Al_s 、 Fe_s 、 Mn_s 含量均有极显著影响, 但与浓度或酸碱度单独作用相比, Al_s 、 Fe_s 、 Mn_s 含量的变化特征更

表4 EGCG溶液浓度与酸碱度对黄壤Fe的影响

Table 4 Effects of EGCG on Fe in Yellow Soil relative to concentration and pH of the solution

因素及交互 Main factors and interaction	Fe _s 含量 Content of Fe _s (mg kg ⁻¹)	Fe _d 含量 Content of Fe _d (g kg ⁻¹)	Fe _o 含量 Content of Fe _o (g kg ⁻¹)	Fe _p 含量 Content of Fe _p (g kg ⁻¹)
浓度Concentration (mmol L ⁻¹)				
A1	0.47d	53.55	2.81a	1.10a
A2	6.35c	52.93	2.79a	0.90b
A3	9.03b	53.10	2.71b	0.89b
A4	32.34a	53.47	2.61c	0.62c
酸碱度pH				
B1	17.98b	52.42	2.67b	0.98
B2	3.15c	53.05	2.78a	0.76
B3	21.82a	53.76	2.75a	0.86
B4	5.24c	53.82	2.73ab	0.90
浓度 × 酸碱度Concentration × pH				
A1 B1	0.60g	53.74ab	2.69	1.10
A1B2	0.65g	52.67abc	2.92	1.13
A1B3	0.24g	54.57a	2.84	1.02
A1B4	0.37g	53.25ab	2.80	1.13
A2 B1	19.25c	50.76c	2.69	1.11
A2 B2	2.07fg	53.18ab	2.85	0.86
A2 B3	0.77g	54.15ab	2.84	0.71
A2 B4	3.31efg	53.62ab	2.79	0.91
A3 B1	24.94b	50.65c	2.70	0.87
A3 B2	2.42fg	53.46ab	2.75	0.70
A3 B3	1.97fg	54.53a	2.78	1.06
A3 B4	6.80def	53.75ab	2.63	0.93
A4 B1	27.13b	54.55a	2.60	0.83
A4B2	7.44de	52.90abc	2.60	0.35
A4B3	84.31a	51.79bc	2.56	0.66
A4B4	10.48d	54.65a	2.68	0.63
浓度Concentration	**	NS	**	**
酸碱度pH	**	NS	*	NS
浓度 × 酸碱度 Concentration × pH	**	*	NS	NS

注: NS、*和**分别表示双因素试验的方差分析结果为无显著、显著和极显著差异; 同一列数字后的不同小写字母表示在0.05水平上差异显著; 各形态Fe均用Fe₂O₃表达 Note: NS, *and ** indicate non-significant, significant and extremely significant in the two-way analysis of variance, respectively; Different lower-case letters in the same column mean significant difference at 0.05 level; All the forms of Fe are represented as Fe₂O₃

表5 EGCG溶液浓度与酸碱度对黄壤Mn的影响

Table 5 Effects of EGCG on Mn in Yellow Soil relative to concentration and pH of the solution

因素及互作 Main factors and interaction	Mn _s 含量 Content of Mn _s (mg kg ⁻¹)	Mn _d 含量 Content of Mn _d (mg kg ⁻¹)	Mn _o 含量 Content of Mn _o (mg kg ⁻¹)	Mn _p 含量 Content of Mn _p (mg kg ⁻¹)
浓度Concentration (mmol L ⁻¹)				
A1	0.87d	123.11	31.39	20.81b
A2	2.34c	125.12	32.29	27.70a
A3	3.47b	136.19	32.36	25.74a
A4	3.76a	125.09	32.92	26.97a
酸碱度pH				
B1	5.80a	118.17	29.07c	25.21
B2	1.72c	126.43	33.16b	25.28
B3	0.45d	142.78	35.85a	25.33
B4	2.47b	122.13	30.89c	25.40
浓度 × 酸碱度 Concentration × pH				
A1 B1	1.99e	123.68	29.40	19.27
A1 B2	0.69f	119.08	30.96	20.08
A1 B3	0.24g	128.05	32.72	20.92
A1 B4	0.55fg	121.63	32.49	22.98
A2 B1	5.16c	113.98	28.88	29.39
A2 B2	1.90e	132.35	33.14	25.29
A2 B3	0.42fg	134.64	36.50	27.16
A2 B4	1.89e	119.53	30.66	28.94
A3 B1	7.55b	115.01	29.59	27.09
A3 B2	2.23e	126.32	33.98	26.69
A3 B3	0.57fg	183.08	37.09	26.81
A3 B4	3.55d	120.37	28.79	22.36
A4 B1	8.50a	120.01	28.38	25.08
A4 B2	2.06e	127.96	34.58	29.07
A4 B3	0.60fg	125.37	37.10	26.45
A4 B4	3.90d	127.01	31.62	27.30
浓度 Concentration	**	NS	NS	**
酸碱度pH	**	NS	**	NS
浓度 × 酸碱度 Concentration × pH	**	NS	NS	NS

注: NS、*和**分别表示双因素试验的方差分析结果为无显著、显著和极显著差异; 同一列数字后的不同小写字母表示在0.05水平上差异显著; 各形态Mn均用Mn_o表达 Note: NS, * and ** indicate non-significant, significant and extremely significant in the two-way analysis of variance, respectively. Different lower-case letters in the same column mean significant difference at 0.05 level. All the forms of Mn are represented as Mn_o

表6 黄壤各形态Al、Fe、Mn之间的相关关系

Table 6 Correlation coefficients between different forms of Al, Fe, Mn oxides in Yellow Soil ($n=48$)

	pH	Al _s	Al _d	Al _o	Al _p	Fe _s	Fe _d	Fe _o	Fe _p	Mn _s	Mn _d	Mn _o
Al _s	-0.387**											
Al _d	-0.227	-0.269										
Al _o	0.374**	-0.702**	0.324*									
Al _p	0.022	0.031	0.057	-0.177								
Fe _s	-0.012	0.762**	0.393**	-0.457**	0.096							
Fe _d	0.190	-0.134	0.484**	0.123	-0.094	-0.328*						
Fe _o	0.386**	-0.688**	0.251	0.804**	-0.077	-0.527**	0.182					
Fe _p	0.018	-0.021	-0.044	-0.154	0.807**	-0.105	0.006	-0.049				
Mn _s	-0.779**	0.552**	-0.070	-0.413**	0.042	0.204	-0.203	-0.407**	0.050			
Mn _d	0.355*	-0.158	-0.018	-0.009	-0.101	-0.119	0.331*	0.062	-0.063	-0.248		
Mn _o	0.671**	-0.092	-0.095	0.178	-0.103	0.125	0.190	0.241	-0.076	-0.519**	0.392**	
Mn _p	-0.060	0.173	0.071	-0.102	-0.149	0.162	-0.021	-0.141	-0.121	0.206	0.011	0.171

注: *, **分别表示显著 ($p < 0.05$) 和极显著 ($p < 0.01$) 相关 Note: * and ** stands for significant correlation at the 0.05 and 0.01 levels, respectively

复杂。EGCG溶液浓度的增大使得质子和有机配体数量增加, 质子作用和络合作用增强^[7]; 在质子作用增强的同时, EGCG对Fe和Mn的还原能力也增强^[10], EGCG溶液与Al、Fe、Mn的一系列反应将使得Al_s、Fe_s、Mn_s含量增加。Kunito等^[17]在研究日本酸性森林土时发现, 可溶性Al水平随pH的降低而升高; 李九玉和徐仁扣^[18]的研究表明, Al的活化量随部分低分子有机酸体系pH的升高而降低; 而何刚等认为, 随EGCG溶液pH的升高, 质子浓度降低, 其对Al、Fe的质子作用减弱, 对Fe还原能力减弱, 但酚羟基的解离度增加, EGCG对Al、Fe的络合作用却增强^[7]。本研究中, EGCG浓度×酸碱度对Al_s、Fe_s、Mn_s的互作效应极显著, 但它们含量变化无明显规律, 表明EGCG浓度增大所引起的质子作用、络合作用或还原作用的增强与EGCG溶液pH上升所引起的质子作用、还原作用减弱和络合作用增强的差异将使得Al_s、Fe_s、Mn_s含量发生复杂的变化; 此外, EGCG浓度、酸碱度、EGCG浓度×酸碱度均对Al_s、Fe_s、Mn_s有极显著影响(表3~表5), 其贡献大小将在以后的研究中进一步确定。

EGCG溶液对Al、Fe、Mn各氧化物形态有不同影响。这是因为EGCG溶液浓度、酸碱度或EGCG浓度×酸碱度对黄壤Al、Fe、Mn各氧化物形态的

作用存在差异(表3~表5)。如浓度对络合态Al、Fe、Mn含量均有显著影响, 酸碱度对无定形态Al、Fe、Mn含量也有显著或极显著影响, 但对络合态Al、Fe、Mn含量无显著影响, EGCG浓度×酸碱度对各元素不同形态的互作效应也不同。

在不同浓度和酸碱度的EGCG溶液浸提前后, 黄壤Al、Fe和Mn含量均为游离态>无定形态>络合态>可溶态; 就元素间相对大小而言, 游离态表现为Fe>Al>Mn, 无定形态或络合态均为Al>Fe>Mn, 表明EGCG溶液虽然能使不同形态Al、Fe、Mn含量发生变化, 但这种变化受自然成土因素的影响大于EGCG溶液对它们的影响, 因此三元素含量的相对多少在EGCG溶液影响下未发生变化。一方面是因为EGCG溶液活化的Al、Fe、Mn含量较低, 即使活化的元素来自无定形态氧化物, 也不会使这些氧化态的相对含量高低发生变化; 另一方面也可能是因为高浓度有机酸阻碍结晶态Al、Fe、Mn氧化物的形成^[19], 甚至会促进结晶态的Al、Fe、Mn向弱结晶态或无定形态转化^[20], 或者促进硅酸盐矿物态Al、Fe、Mn向游离态转化, 为元素活化提供了来源。

黄壤可溶态表现为Al>Fe>Mn, 与土壤无定形态Al、Fe、Mn含量高低一致, 可认为无定形态氧化物含量影响着黄壤Al、Fe、Mn的溶解活

化,这也与表6的结论一致。溶液中的Al主要来源于交换态 Al^{3+} 和游离氧化铝的溶解,一方面,黄壤中交换性 Al^{3+} 含量远高于土壤中的交换性 Fe^{2+}/Fe^{3+} ^[7];另一方面,虽然黄壤游离态Fe含量高于游离态Al,但对可溶态有较大影响的无定形态Al高于无定形态Fe(表1),且无定形态是游离态中活性较高的形态。虽然EGCG对 Fe^{3+} 的质子作用最强($pK_{aFe^{3+}}=3.82$, $pK_{aAl^{3+}}=4.40$, $pK_{aFe^{2+}}=5.80$)^[21],但EGCG与 Fe^{3+} 形成络合物的溶解性较 Al^{3+} 差,当EGCG对Al的络合作用和质子作用之和强于对Fe的综合作用(包括对 Fe^{3+} 的还原作用、质子作用、络合作用以及对 Fe^{2+} 的质子作用、络合作用)时,EGCG对Al和Fe的活化作用将表现为 $Al > Fe$ 。对于Fe和Mn,表现为 $Fe > Mn$,这与何刚等^[10]关于温度对Fe和Mn活化影响的结果相反,也与刘志光和徐仁扣^[22]的研究不一致。这是因为虽然高价Mn的还原电位低于高价Fe^[10, 23],Mn较Fe更易发生还原反应,但还原后的 Mn^{2+} 的络合物稳定常数低于还原后 Fe^{2+} 的络合物稳定常数^[8], Mn^{2+} 的络合能力要弱于 Fe^{2+} ;土壤中无定形态Fe含量高于无定形态Mn含量,由于无定形态氧化物是活化的主要来源,因此Fe的活化潜力较Mn大。

当溶液pH小于4.5时,溶液中的Al一般以 Al^{3+} 和 $Al(OH)^{2+}$ 形式存在^[24],但EGCG能与Al形成毒性较小的 $[Al(LH_2)]^+$ 或 $[Al(LH_3)]^0$ (L=EGCG)有机络合物^[11],且这种复合物不能跨膜运输或被根系吸收,从而缓解铝对植物的毒害^[25-27],这暗示着EGCG使Al活化而有利于降低植物Al毒。同样地,EGCG溶液对土壤Mn的活化也可能有利于减轻植物Mn的毒害。然而,要同时注意的是,EGCG的存在可增加土壤 Al_d 含量, Al_d 并不一定能够形成 $[Al(LH_2)]^+$ 或 $[Al(LH_3)]^0$ (L=EGCG)有机络合物,这种情况可能会加剧Al的毒害;另一方面,有机酸复合物在微生物作用等条件下易受到破坏,从而加剧Al毒和Mn毒的风险^[28]。因此,加入EGCG究竟是有助于缓解植物毒害还是会加剧毒害风险,将在以后的盆栽试验研究中进行验证。

4 结 论

EGCG浓度、酸碱度、EGCG浓度与酸碱度互作均对可溶态Al、Fe、Mn有极显著影响,但它们

对可溶态Al、Fe、Mn的分别贡献率应在今后的研究中进行深入探讨;此外,EGCG浓度、酸碱度、EGCG浓度与酸碱度互作对不同元素的不同氧化物的影响程度不同,这一发现可以为针对性地改变土壤某形态Al、Fe、Mn氧化物含量提供理论依据。研究还发现,黄壤无定形态Al、Fe、Mn分别是其对应的可溶态Al、Fe、Mn的来源,而且可溶态Al、Mn对黄壤滤液pH有很大影响,因此,控制土壤无定形态氧化物的含量对酸化土壤及其导致的Al/Mn毒的防治有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 南京农学院. 土壤农化分析. 北京: 农业出版社, 1980
Nanjing Agricultural College. Soil agro-chemical analysis (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1980
- [2] Delhaize E, Ryan P R. Update on environmental stress: Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiology*, 1995, 107(2): 315—321
- [3] Schmidt M A, Gonzalez J M, Halvorson J J, et al. Metal mobilization in soil by two structurally defined polyphenols. *Chemosphere*, 2013, 90(6): 1870—1877
- [4] 杨贤强, 王岳飞, 陈留记, 等. 茶多酚化学. 上海: 上海科学技术出版社, 2003
Yang X Q, Wang Y F, Chen L J, et al. Chemistry of tea polyphenols (In Chinese). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2003
- [5] 俞慎, 何振立, 陈国潮, 等. 不同树龄茶树根层土壤化学特性及其对微生物区系和数量的影响. *土壤学报*, 2003, 40(3): 433—439
Yu S, He Z L, Chen G C, et al. Soil chemical characteristics and their impacts on soil microflora in the root layer of tea plants with different cultivating ages (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(3): 433—439
- [6] 母媛, 袁大刚, 兰永生, 等. 植茶年限对土壤pH、有机质与酚酸含量的影响. *中国土壤与肥料*, 2016(4): 44—48
Mu Y, Yuan D G, Lan Y S, et al. Effects of tea planting age on soil pH value, contents of organic matter and phenolic acids (In Chinese). *Soil and Fertilizer Science in China*, 2016(4): 44—48
- [7] 何刚, 袁大刚, 张东坡, 等. 不同浓度和pH对茶多酚活化土壤硅、铝、铁的影响. *土壤通报*, 2015, 46(1): 111—116
He G, Yuan D G, Zhang D P, et al. Effect of tea

- polyphenols on mobilization of soil Si, Al and Fe at different concentrations and pH values (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2015, 46 (1): 111—116
- [8] 石碧, 狄莹. 植物多酚. 北京: 科学出版社, 2000
Shi B, Di Y. Plant polyphenols (In Chinese). Beijing: Science Press, 2000
- [9] 何刚, 袁大刚, 赵燕, 等. 茶多酚与低分子量有机酸活化土壤矿质元素的差异研究. 土壤学报, 2014, 51 (6): 1379—1387
He G, Yuan D G, Zhao Y, et al. Difference between tea polyphenols and low-molecular-weight organic acids in effect of mobilizing soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2014, 51 (6): 1379—1387
- [10] 何刚, 袁大刚, 张俊思, 等. 温度对EGCG和柠檬酸活化土壤硅铝铁锰的影响. 土壤, 2015, 47 (6): 1163—1169
He G, Yuan D G, Zhang J S, et al. Effects of EGCG and citric acid on mobilization of soil mineral elements at different temperatures (In Chinese). Soils, 2015, 47 (6): 1163—1169
- [11] Inoue M B, Inoue M, Fernando Q, et al. Potentiometric and ^1H NMR studies of complexation of Al^{3+} with (-)-epigallocatechin gallate, a major active constituent of green tea. Journal of Inorganic Biochemistry, 2002, 88 (1): 7—13
- [12] Li J Y, Xu R K, Ji G L. Dissolution of aluminum in variably charged soils as affected by low-molecular weight organic acids. Pedosphere, 2005, 15 (4): 484—490
- [13] Vaněk A, Komárek M, Chrástný V, et al. Effect of low-molecular-weight organic acids on the leaching of thallium and accompanying cations from soil-A model rhizosphere solution approach. Journal of Geochemical Exploration, 2012, 112 (1): 212—217
- [14] 杨杰文, 钟来元, 郭荣发. 有机酸溶解砖红壤过程中 $\text{Mn}(\text{II})$ 的释放规律. 环境化学, 2011, 30 (7): 1348—1353
Yang J W, Zhong L Y, Guo R F. Release of $\text{Mn}(\text{II})$ during organic acid promoted dissolution of latosol (In Chinese). Environmental Chemistry, 2011, 30 (7): 1348—1353
- [15] Li J Y, Xu R K, Tiwari D, et al. Mechanism of aluminum release from variable charge soils induced by low-molecular-weight organic acids: Kinetic study. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2006, 70 (11): 2755—2764
- [16] 张甘霖, 龚子同. 土壤调查实验室分析方法. 北京: 科学出版社, 2012
Zhang G L, Gong Z T. Soil survey laboratory methods (In Chinese). Beijing: Science Press, 2012
- [17] Kunito T, Isomura I, Sumi H, et al. Aluminum and acidity suppress microbial activity and biomass in acidic forest soils. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 97: 23—30
- [18] 李九玉, 徐仁扣. 不同pH下低分子量有机酸对黄壤中铝活化的影响. 环境化学, 2005, 24 (3): 275—278
Li J Y, Xu R K. Effect of low-molecular-weight organic acids on the mobilization of aluminum in yellow soil (In Chinese). Environmental Chemistry, 2005, 24 (3): 275—278
- [19] Ng Kee Kwong K F, Huang P M. Influence of citric acid on the hydrolytic reactions of aluminum. Soil Science Society of America Journal, 1977, 41 (4): 692—697
- [20] Ng Kee Kwong K F, Huang P M. Comparison of the influence of tannic acid and selected low-molecular-weight organic acids on precipitation products of aluminum. Geoderma, 1981, 26 (3): 179—193
- [21] Kumamoto M, Sonda T, Nagayama K, et al. Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. Soil Biology & Biochemistry, 2001, 65 (1): 126—132
- [22] 刘志光, 徐仁扣. 几种有机化合物对土壤中铁与锰的氧化物还原和溶解作用. 环境化学, 1991, 10 (5): 43—50
Liu Z G, Xu R K. Reductive dissolution of Fe and Mn oxides in soils by some organic compounds (In Chinese). Environmental Chemistry, 1991, 10 (5): 43—50
- [23] Shindo H. Relative effectiveness of short-range ordered $\text{Mn}(\text{IV})$, $\text{Fe}(\text{III})$, Al , and Si oxides in the synthesis of humic acids from phenolic compounds. Soil Science & Plant Nutrition, 1992, 38 (3): 459—465
- [24] 田仁生, 刘厚田. 酸性土壤中铝及其植物毒性. 环境科学, 1990, 11 (6): 41—46
Tian R S, Liu H T. Aluminum in acid soils and its toxicity to plants (In Chinese). Environmental Science, 1990, 11 (6): 41—46
- [25] Kochian L V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. Annual Review of Plant Biology, 2003, 46 (1): 237—260
- [26] Kinraide T B, Hagermann A E. Interactive intoxicating and ameliorating effects of tannic acid, aluminum (Al^{3+}), copper (Cu^{2+}), and selenate (SeO_4^{2-}) in wheat roots: A descriptive and mathematical assessment. Physiologia Plantarum, 2010, 139 (1): 68—79
- [27] Zhang L L, Liu R Q, Gung B W, et al. Polyphenol-



aluminum complex formation: Implications for aluminum tolerance in plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64 (15) : 3025—3033

[28] 丁永祯, 李志安, 邹碧. 土壤低分子量有机酸及其生态

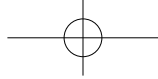
功能. *土壤*, 2005, 37 (3) : 243—250

Ding Y Z, Li Z A, Zou B. Low-molecular-weight organic acids and their ecological roles in soil (In Chinese). *Soils*, 2005, 37 (3) : 243—250

Effect of EGCG on Al, Fe and Mn in Yellow Soil Relative to Concentration and pH

ZHANG Junsi YUAN Dagang[†] FU Hongyang WENG Qian WANG Changquan
(*College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China*)

Abstract 【Objective】 Plant polyphenols may alter forms of the elements existing in soil through complexation. The study is oriented to explore effects of epigallocatechin gallate (EGCG) relative to concentration and pH and the interactions between its concentration and pH on soluble, free, amorphous and complex forms of Al, Fe and Mn in Yellow soil. 【Method】 A two-factor experiment laid out at random was carried out by extraction of the tested soils, of which each had 3 replicates. Firstly, soil was collected from the 30 ~ 50 cm soil layer (surface) in a Yellow soil field as a sample for test, air-dried and ground to pass through a 10-mesh nylon sieve. Then a total of 48 portions, 10 g each, were weighed out of the prepared soil sample and placed into 250 ml polyethylene bottles, respectively. Into the bottles, prepared EGCG solution was added, 100 mL each. Then the bottles were placed into a constant temperature oscillator for 24 h oscillation under room temperature (25℃) . At the end of the oscillation, the suspensions were filtered for extracts, which were then analyzed for soluble Al, Fe and Mn (Al_s, Fe_s and Mn_s) . The second step was to have the remainders from filtration dried up in an oven at 60℃ for 48 h and reground with an agate mortar to pass through a 60-mesh nylon sieve for determination of oxidized forms of Al, Fe and Mn. Free Al, Fe and Mn (Al_d, Fe_d and Mn_d) , amorphous Al, Fe and Mn (Al_o, Fe_o and Mn_o) , complex Al, Fe and Mn (Al_p, Fe_p and Mn_p) were extracted by the dithionite-citrate-bicarbonate (DCB) method, acid ammonium oxalate (AAO) at pH=3 in the dark and Na-pyrophosphate (Na₄P₂O₇) at pH=10, respectively. Contents of all the above-mentioned fractions of Al, Fe and Mn were determined with ICP-AES. 【Result】 Concentration of the EGCG solution was found to have a very significant effect on the content of Al_s, Fe_s, Mn_s, Al_p, Fe_p, Mn_p, Al_o or Fe_o in Yellow soil; and pH of the solution had a significant or extremely significant effect on the content of Al_s, Fe_s, Mn_s, Al_o, Fe_o or Mn_o in Yellow soil, while the interaction between the two did on the content of Al_s, Fe_s, Mn_s, Al_o, Al_p or Mn_d in Yellow soil. The addition of EGCG affected the elements both in content and in form, but their relative contents did not change much. In terms of content, the soluble forms displayed an order of Al > Fe > Mn, the free forms, did an order of Fe > Al > Mn, and the amorphous and the complex forms both followed an order of Al > Fe > Mn. However, concentration of EGCG was not a factor affecting the content of Al_d, Fe_d and Mn_d, and neither was pH of EGCG affecting the content of Fe_d, Mn_d, Al_p, Fe_p and Mn_p, while the interaction between the two did not have much effect on the content of Al_d, Mn_d, Fe_o, Mn_o, Fe_p and Mn_d in Yellow soil. Correlations analyses show that Al_o, Fe_o and Mn_o was closely related to Al_s, Fe_s and Mn_s, respectively, which suggests that EGCG solution affects mobilization of the elements by changing their oxide forms, especially the amorphous ones and hence contents of the soluble ones . The more Al_o in the soil, the more Al_s in soil solution, and all the same with Fe and Mn. On the other hand, pH of the EGCG solution was significantly and negatively related to Al_s and Mn_s, which suggests that reactivation of Al and Mn



may lower pH of the extractant, posing a potential risk. **【Conclusion】** The study has further verified that the effect of EGCG solution on Al, Fe and Mn mobilization varies with its concentration and pH of the solution and interaction between the two. All the findings in this study may help orient the study on causes of soil acidification in tea gardens and serve as reference for prevention of plant Al/Mn toxication. It is, therefore, worthwhile to note when plant polyphenols are used to prevent Al/Mn toxicity, adequate attention should be given to control of soil acidification.

Key words Epigallocatechingallate (EGCG) ; Concentration; pH; Mineral elements; Yellow soil

(责任编辑: 檀满枝)