

施用有机肥料对胡敏酸结构特征的影响 ——胡敏酸的¹H-核磁共振波谱

窦 森

(吉林农业大学腐殖物质研究室, 长春 130118)

华 士 英

(吉林大学理论化学研究所, 长春 130023)

摘 要

通过在棕壤、草甸土和水稻土上进行的田间试验和模拟试验表明, 施用有机肥料一般使胡敏酸(HA)的脂族 H(Ali-H)的相对含量增加, 聚亚甲基链长(n 值)变短, 芳香 H(Ar-H)相对含量和由之计算的芳香度(faH)下降, 从而导致HA中脂族 Ali-H与 Ar-H的比值增加, 即发生了脂族化。其中猪粪(PM)比玉米秸秆(CS)和稻草(RS)等秸秆类有机物料更有利于HA的脂族化, 且主要表现在烷基链烃中 H(Alk-H)相对含量的增加; 而CS和RS主要表现在增加碳水化合物中 H(α -CH)的相对含量方面。研究还表明, HA在DMSO- d_6 和NaOH- d_4 溶剂系统中的¹H-NMR波谱, 可相互补充的提供信息。用¹H-NMR结果相对地比较土壤有机培肥中HA结构特征的变化是较¹³C-NMR更为简便的方法。

关键词 有机肥料, 胡敏酸结构, ¹H-NMR

核磁共振(NMR)波谱被认为是研究有机化合物结构的最有效方法之一, 近年来在土壤有机质的研究中应用得越来越广泛。我们曾用¹³C-NMR波谱法研究了施用有机肥料后棕壤和水稻土HA结构特征的变化规律, 但¹³C-NMR在测定上费时、费钱、定量难度大, 不适合于有机培肥研究中做相对比较时的批量测定。¹H-NMR的缺点是易受水峰和溶剂峰的干扰, 化学位移范围窄(一般为10ppm), 提供的信息较少; 另外用¹H-NMR不能直接测定HA的芳香度。但对旨在相对比较不同HA的差异的研究来说, ¹H-NMR具有省时、省钱和容易定量的优点。所以本文在以往研究HA化学性质、热性质、光学性质和¹³C-NMR波谱学性质的基础上^[3~5], 研究用¹H-NMR波谱相对比较有机培肥料各处理HA之间的结构特征差异, 为阐明和研究土壤有机培肥机理、定向定量调控土壤肥力提供理论依据, 并提供较为简便的方法。

1 材料和方法

1.1 土壤样品

共选用 3 种长期定位试验地的土壤。其中棕壤采自沈阳农业大学, 有 CK_1 、 O_{1-1} ($18.7t PM^1 / hm^2$) 和 O_{1-2} ($37.4t PM / hm^2$), 以及由 CK_1 土壤样品设计的模拟试验 8 个处理 (0、10、30、50、70g CS^2 / kg 和 30、50、70g PM / kg); 草甸土采自辽宁省农业科学院, 有 CK_2 和 O_2 ($75t PM / hm^2$) 2 个处理; 水稻土采自辽宁省盐碱地研究所, 有 CK_3 和 O_3 ($3.75t RS^3 / hm^2$) 2 个处理。供试土壤的详细情况见前文^[3]。

1.2 HA 样品的制备和测定方法

HA 用 0.1mol / L NaOH 提取, 电渗析法纯化, 具体制样方法和所制备 HA 的基本性质也同前文^[3]。

HA 溶液的 1H -NMR 在 Varian FT-80A 仪器上测定, 1H 的共振频率为 79.542MHz。方法如下: 称取 35mg HA 样品溶于 0.5ml 氘代二甲亚砜 ($DMSO-d_6$) 或 3mol / L NaOH- d_4 (用 D_2O 配制) 中, 用微量振荡器溶解 24 小时, 离心 (16000rpm, 30 分钟) 后将 HA 溶液倒入 5mm 样品管中盖严。对于 $DMSO-d_6$ 溶剂系统, 分别于加 D_2O (40 μ l) 前后在室温下测定两次 1H -NMR; 对于 NaOH- d_4 溶剂系统, 只做一次测定。所有 1H -NMR 采用脉冲重复时间为 6 秒 (其中采样时间为 2 秒, 脉冲延迟为 4 秒) 的 90° 脉冲和 D_2O 信号内锁的条件测定, 累加 7 次后调好相位和基线, 分段对谱图做积分处理。将样品的总积分面积扣除水和溶剂峰的积分面积后的总 H 量假定为 100%, 将烷基链烃中的 H (Alk-H), 碳水化合物中 H 及其它与 O、N 相连的 C 上的 H (α -CH) 和芳香结构中的 H (Ar-H) 的积分范围分别定为 0.5~2ppm, 3~6ppm 和 6~10ppm, 用它们各自的积分值占总 H 量的 % 来表示它们的相对含量。该定量方法仪器本身的准确度可达 0.1%。本文中的脂族 H (Ali-H) 是指 Alk-H 和 α -CH 之和, 其余项目的定义和计算方法将在有关图表中标出。

2 结果与讨论

2.1 田间实验

2.1.1 $DMSO-d_6$ 溶剂系统中 HA 的 1H -NMR 研究

各处理土壤 HA 的 1H -NMR 谱见图 1。由图 1 可见, 7 个 HA 的 1H -NMR 谱形基本一致, 说明各 HA 具有相似的结构单元。另一方面, 某些吸收峰在强度上有明显差异, 说明不同土壤、不同处理 HA 中某些类型 H 的相对含量并不相同。

图 1 中 0ppm 的小峰为四甲基硅烷 (TMS) 的信号。2.5ppm 为 $DMSO-d_6$ 的溶剂峰, 它掩蔽了 2~3ppm 之间的其它信号。

各 HA 均在 0.8 和 1.2ppm 处有强度不等的共振信号, 分别归属于烷基链烃中的末端甲基和聚亚甲基中 H 的吸收^[9]。这说明 HA 中含有显著数量的 $-(CH_2)_n-$ 结构片断。0.8 和 1.2ppm 的信号虽然形状相同, 但有机培肥后这两个信号均增强。Alk-H 的相对含量和 $-CH_2-$ 与 $-CH_3$ 比值 (n 值) 见表 1。由表 1 可见, 不同土壤 HA 的 Alk-H 的相对含量为 11.5~22%, 这与 Grant (1977) 所报道的结果相似^[6]。在草甸土和棕壤上, 施用 PM 使 HA

1) PM 代表猪粪, 下同; 2) CS 代表玉米秸秆, 下同; 3) RS 代表稻草, 下同。

的 Alk-H 相对含量增加, 幅度为 9~38%。但在水稻土上, 施用 RS 后 HA 的 Alk-H 相对含量反而有所下降, 幅度为 6%。下面的模拟试验结果表明, 产生这种差异的原因, 不是土壤而是由于有机物料种类不同造成的。这一现象表明, PM 有利于 HA 中 Alk-H 的含量的提高, 这可能与 PM 本身含有更多的 Alk-H 有关^[2]。Alk-H 相对含量的提高, 与棕壤施用 PM 使 HA 活化度提高是一致的^[4]。无论是 PM, 还是 RS 均能使土壤 HA 中的烷基链变短且多分支, 即表现为 n 值减小(棕壤 O₁₋₁ 处理除外), 其幅度为 6~18%。

6~10ppm 有宽而弱的共振信号(图 1), 是各种 Ar-H 和连氧 H(α-H) 的贡献。对于 Ar-H 来说, 其信号较弱, 相对含量为 10~27%(表 1), 但在¹³C-NMR 波谱中, Ar-C 的相对含量为 21~32%(棕壤)和 30~40%(水稻土)^[4,5]。¹H-NMR 中 Ar-H 较少的原因, 主要是芳香环上的 H 被非 H 取代。如在¹³C-NMR 波谱中, 129~133ppm 的信号就归属为被 -COOH 或 -COOMe 取代的 Ar-C^[4]。在 Ar-H 中, 6.7 和 7.1ppm 处有两个比较明显的信号, 与¹³C-NMR 波谱中的 121 和 131ppm 的信号相对应^[4]。按照对 121 和 131ppm 的归属推测, 6.7 和 7.1ppm 处的峰可能分别为与 -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^[1]。8.1ppm 处的峰则主要为 -COOH 等 α-CH 或与 -COOH、-COH、COOR 相连的邻位 Ar-H 的贡献。施用有机肥料后 Ar-H 的相对含量一般表现为下降的趋势, 幅度为 5~16%。说明土壤有机培肥使 HA 的芳香度和羧基含量或二者之一的含量下降, 与前文化学性质和¹³C-NMR 结果相一致^[4,5]。

图 1 图谱中间一段(3~6ppm), 显示了宽而强的共振信号, 主要是 3.4、3.7 和 4.4ppm 处的峰。这些信号主要来自于连氧 C 上的 H 即 α-CH, 如 R-O-CH_n(n = 1~3), 是碳水化合物的贡献^[2,10], 也可能包括溶剂中残余水的贡献。由表 1 可见, 各土壤 HA 的 α-CH 的相对含量为 47~55%, 其中以草甸土较高。在水稻土上, 施用 RS 使 α-CH 的相对含量提高, 幅度为 12%。但在棕壤和草甸土上, 施用 PM 反而使 α-CH 相对含量有下降的趋势(幅度 < 4%)。RS 使 α-CH 相对含量提高的原因, 可能与其含有较多的纤维素成分有关。

为了计算 HA 的芳香度(faH), 我们将溶解在 DMSO-d₆ 中的 HA 样品加入 D₂O 后再测定一次¹H-NMR 谱, 结果见图 2。

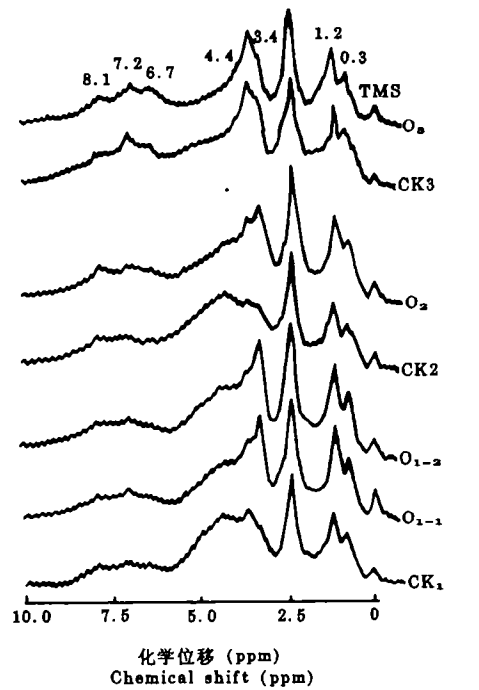


图 1 田间试验土壤 HA 的¹H-NMR 谱(DMSO-d₆)

Fig.1 The ¹H-NMR spectra of HAs in soils of the field experiment

表1 土壤HA中各类质子的相对含量(%¹⁾)Table 1 The relative contents of various protons in HAs from soils of the field experiment (¹H-NMR in DMSO-d₆)

HAs	n ²⁾	加D ₂ O前 Before adding D ₂ O			加D ₂ O后 After adding D ₂ O			faH ⁷⁾	
		Alk-H 0.5-2ppm	α-CH ³⁾ 3-6ppm	Ali-H ⁴⁾	Ar-H etc. 6-10ppm	Ali-H /Ar-H Exchange rate	Alk-H 交换率 ⁵⁾ Exchange rate		Ar-H 交换率 ⁶⁾ Exchange rate
棕壤CK ₁	3.07	20.0	49.0	69.0	12.2	5.65	33.5	33.2	43.6
O ₁₋₁	3.12	21.7	49.5	71.2	11.6	6.14	46.6	20.7	43.5
O ₁₋₂	2.89	22.0	48.1	70.1	10.3	6.81	40.0	43.5	39.5
草甸土CK ₂	4.00	11.5	54.9	66.4	22.6	2.94	45.2	41.6	50.9
O ₂	3.51	15.9	52.7	68.6	20.0	3.43	45.9	26.0	49.7
水稻土CK ₃	3.80	15.4	47.0	62.4	26.5	2.35	46.1	37.7	56.0
O ₂	3.10	14.6	52.6	67.2	22.2	3.03	46.6	27.0	55.5

注: 1) 假定样品中总 H 量为 100%;

2) 由 1~2ppm 和 0.5~1ppm 积分面积之比计算;

3) 通过空白测定扣除溶剂或溶剂 + D₂O 所含的微量水;

4) Ali-H = Alk-H + α-CH₃;

5) Alk-H 交换率 = (加 D₂O 前后 Alk-H 相对含量之差 / 加 D₂O 前 Alk-H 相对含量) × 100;

6) Ar-H 交换率 = (加 D₂O 前后 Ar-H 相对含量之差 / 加 D₂O 前 Ar-H 相对含量) × 100;

7) faH 按公式: faH = {[C / H] - X' × H* ali] / [C / H]} - f_{COOH} 计算^[8,10]。其中 X' = 0.5, C / H 为元素分析结果, H* ali 为加 D₂O 后除 Ar-H 以外的所有 H, f_{COOH} 为官能团分析结果。

由图 2 可见, 加 D₂O 后 HA 的 Ar-H 和 Alk-H 的信号明显减弱, 而 3~6ppm 的信号明显增强, 并在 4ppm 处出现一个大尖峰(水峰)。这说明 Ar-H 和 Alk-H 各有一部分可被 D₂O 交换的 H(即活泼 H)而形成了水。由表 1 可见, 土壤 HA 的 Alk-H 交换率为 34~47%; Ar-H 交换率为 21~42%。两种交换现象共存, 数量相当。对于 Ar-H 来说(实际上包括 α-H, 如 8.1ppm 的信号), 这些可交换的 H 可能包括羧基和酚羟基上的酸性 H⁺, 还可能包括连氧苯环上的 H 及与连氧 C 邻位的 Ar-H 等。其中以具有酮醇互变异构的酚酸单元交换最为迅速^[7]。

但对 Alk-H 被 D₂O 交换的现象, 其原因还不清楚。陈荣峰等(1981)¹⁾在测定南京棕壤和水稻土 HA 的¹H-NMR 谱时, 也发现加 D₂O 后 Alk-H 相对含量分别由 10.09% 和 7.83% 减少到 6.88% 和 6.04%, 减少幅度分别为 32% 和 23%。他们对此也未作出解释。理论上, Alk-H 是不太可能被 D₂O 交换的, 只有活泼 H 和个别的 Ar-H 才能被 D₂O 交换。关于 HA 中 Alk-H 加 D₂O 后相对含量减少的现象, 以后还需进一步研究。

加 D₂O 后 3.4、3.7 和 4.4ppm 的信号不见了, 是因为碳水化合物中的醇性 H 也可被 D₂O 交换以及剩下的非交换性 H 信号被水峰掩盖的共同结果。

由¹H-NMR 谱及化学分析结果间接计算的芳香度(faH)为 43.6~56%(表 1), 比相应样品的¹³C-NMR 结果高 10% 左右。可能是 X' 设为 0.5 较小的原因。X' 是非芳香结构中

1) 陈荣峰等, 1981, 腐殖酸核磁共振波谱的研究 III, 全国第二次腐殖酸学术会议论文, 35~40 页。

C/H 的摩尔比, 如果以—CH₂—为主体(如煤), 可设为 0.5^[8,10]。但土壤 HA 中除含有一部分脂族羧酸外(此部分在计算 faH 时已减去), 还存在着烷基链分支的问题。前面已经看到 n 值为 3~4, 说明脂族中并非都是一—CH₂—, 而且还有一—CH—, 甚至季 C(非连氢 C)。这样脂族部分的 C/H 摩尔比就要 > 0.5。根据¹H-NMR 和¹³C-NMR 谱所测得芳香度之差可以推测, X' = 0.6 较符合实际情况。我们没有取 X' = 0.6, 是因为它不影响相对比较有机培肥的效果。

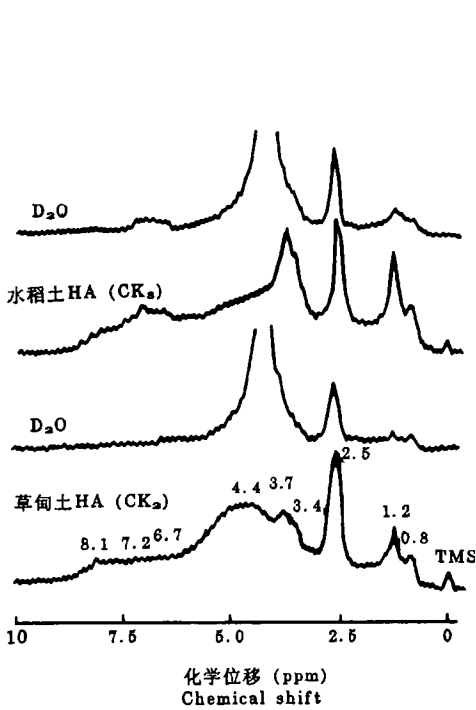


图 2 加 D₂O 前后土壤 HA 的¹H-NMR 谱

Fig.2 The ¹H-NMR spectra of soil HAs before and after adding D₂O

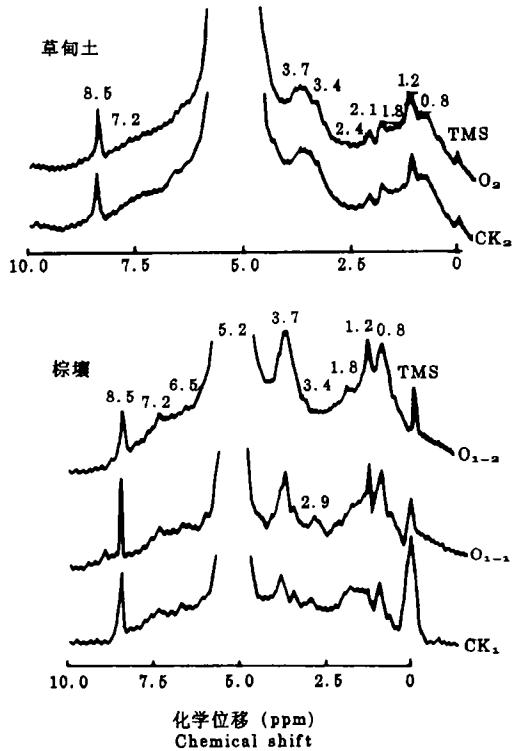


图 3 土壤 HA 的¹H-NMR 谱(NaOH-d₁)

Fig.3 The ¹H-NMR spectra of HAs in the solution of NaOH-d₁ from soils of the field experiment

施用有机肥料后, 棕壤 HA 的 Alk-H 交换率增加, 幅度为 19~39%; 但对水稻土和草甸土 HA 来说, 只是略有增加的趋势。另一方面, 施用有机肥料后, Ar-H 的交换率降低(棕壤 O₁₋₂ 处理除外), 幅度为 8~38%。Alk-H 交换率的提高, 可能反映了烷基链烃分支程度的加重, 因为—CH₂—是最稳定的, 分支可能导致氘代反应, 但这方面还没有见到直接证据和文献报道。这一分析与 n 值的减少是一致的。而 Ar-H 的交换率的降低恰恰说明了 HA 中芳香环取代程度的下降, 羧基含量减少。这与¹³C-NMR 谱和化学性质的研究结果一致^[3,4]。施用有机肥料后, HA 的 faH 变化很小, 幅度为 1~10%。HA 中 Ali-H 与 Ar-H 的比值为 2.35~6.87, 施用有机肥料后明显增加, 幅度为 8~29%(表 1)。这说明有机培肥后 HA 的脂族性增强。

2.1.2 NaOH- d_1 溶剂系统中 HA 的 $^1\text{H-NMR}$ 研究 溶解在 NaOH- d_1 溶剂系统中 HA 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱见图 3。主要是为了观察 2.5ppm 左右的峰,但由于水峰很大(5ppm 左右),使定量不易准确。由图 3 可见,水峰高场端(右)为 Alk-H 区,低场端(左)为 Ar-H 区。从峰形可以看出,HA 中以脂族为主,只在 8.5、7.2 和 6.5ppm 处有 Ar-H 共振信号。在脂族区,0.8ppm 的信号为末端 $-\text{CH}_3$, 1.2ppm 为 $-(\text{CH}_2)_n-$ 中 H 的信号。有机培肥后这两个信号明显增强。在棕壤上相对强度由 CK_1 的 4.8% 上升到 O_{1-2} 的 8.7%;但在草甸土上增加的较少(表 2)。用 NaOH- d_1 溶剂系统测得的 n 值为 1.1~1.6; $(\text{Alk-H} + \alpha\text{-CH}) / \text{Ar-H}$ 比值为 1.5~2, 均比 DMSO- d_6 溶剂系统的测定值低得多,其原因还不清楚。但施用有机肥料后其各自的变化趋势与 DMSO- d_6 溶剂系统中一致。

表2 土壤HA中各类质子的相对含量(NaOH- d_1)

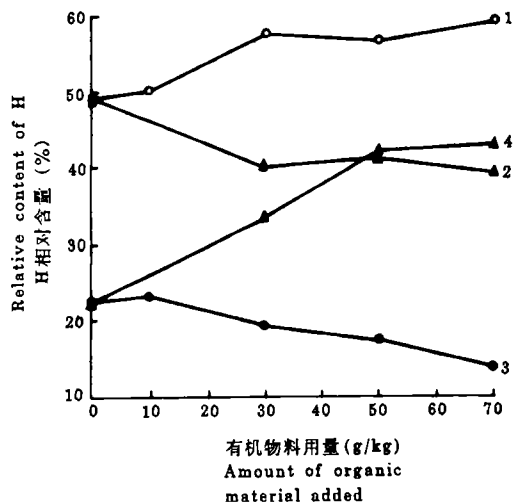
Table 2 The relative contents of various protons in HAs from soils of the field experiment ($^1\text{H-NMR}$ in NaOH- d_1)

HA	HCOO ⁻ (%)	Ar-H(%)	α -CH(%)	Alk-H(%)	$(\text{Alk-H} + \alpha\text{-CH}) / \text{Ar-H}$	n 值
	8.35— 8.55ppm	6.5—6.6ppm 7.2—7.3ppm	3.3— 3.75ppm	0.75—0.95ppm 1.1—1.3ppm	Ar-H	n value
棕壤 CK_1	0.67	4.55	2.52	4.77	1.60	1.60
O_{1-1}	1.01	5.54	3.84	7.15	1.98	1.10
O_{1-2}	0.84	7.86	7.71	8.70	2.09	1.41
草甸土 CK_2	0.48	6.29	4.91	4.44	1.49	1.07
O_2	0.42	5.00	5.00	4.67	1.93	1.01

1.8、2.1 和 2.4ppm 的信号是 DMSO- d_6 溶剂系统所观察不到的峰位。其中 1.8 和 2.1ppm 的归属可能为与芳香环或其它未饱和基团相连的 $\alpha\text{-CH}_3$ 或 $\alpha\text{-CH}_2$ 中的 H 以及蒈满烷中的 $\beta\text{-CH}$; 而 2.4ppm 的小信号可能为与羧基相连的 $\alpha\text{-CH}_3$ 或 CH_2 以及蒈满和蒈满上的 $\alpha\text{-CH}^{[9]}$ 。

3.4~3.7ppm 的峰主要为碳水化合物和多糖中与 O 相连的 $\alpha\text{-CH}$ 的信号,在 DMSO- d_6 溶剂系统中与活泼 H 混在一起,但在此是氘代后剩下的,不包括活泼 H。有机培肥后,3.4~3.7ppm 的峰增强,相对值(3.3~3.75ppm 的积分值)从棕壤对照 HA 的 2.5%,分别提高到 O_{1-1} 到 O_{1-2} 的 3.8% 和 7.7%;但在草甸土上增加很少,这一点与有机培肥对 Alk-H 的影响一致。

芳香区主要有两组共振信号,一组是 6.5 和 7.2ppm,与 DMSO- d_6 溶剂系统中属于同一归属。土壤有机培肥后,棕壤 HA 的 Ar-H 含量增加,而草甸土 HA 减少。另外一组是 8.5ppm 处的尖峰,这在 DMSO- d_6 中表现得没那么明显。对于 8.5ppm 处的峰可能有以下几种归属:① 立体空间位阻的芳香质子(稠环) $^{[8,9]}$;② 杂环中的质子(N 杂环) $^{[9]}$;③ 在 NaOH- d_1 溶剂系统中产生的甲酸离子(HCOO^-) $^{[9,10]}$ 。我们倾向于第三种可能性,因为峰形和峰位都说明其结构的单一性。另一个证据就是在 DMSO- d_6 中没有 8.5ppm 的信号,在 8.1ppm 处的信号也因加 D_2O 而消失;而在 NaOH- d_1 溶剂系统中,8.5ppm 的信号正是交换后保留下来的化学位移峰。一般认为,HA 中没有或很少有稠环和杂环 $^{[8,10]}$ 。土壤 HA 在 8.5ppm 处的信号强度相对值一般 $\leq 1\%$,土壤有机培肥后该相对值有增加的趋势。说明 HA 变得不那么稳定,能在 NaOH- d_1 中产生更多的甲酸离子(可能来源于自动氧化)。



1 α -CH(CS) 秸秆 3 Alk-H(CS) 秸秆
2 α -CH(PM) 猪粪 4 Alk-H(PM) 猪粪

图4 有机物料用量对 HA 中 H 质子
相对含量的影响

Fig.4 Effect of organic material amounts on the
relative contents of different hydrogens protons

in the HAs

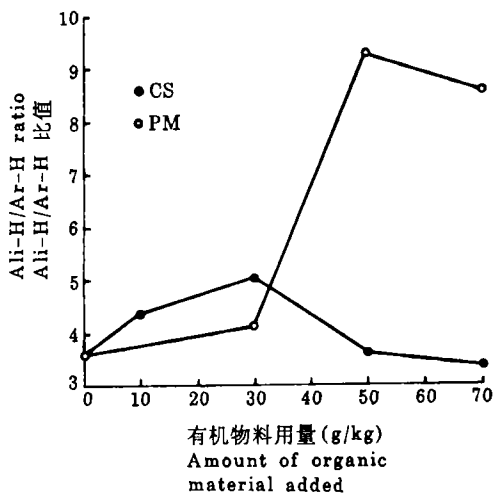


图6 有机物料用量对 HA 中 Ali-H / Ar-H
比值的影响

Fig.6 Effect of organic material amounts on the
Ali-H / Ar-H ratio of HAs from soils of
the incubation experiment

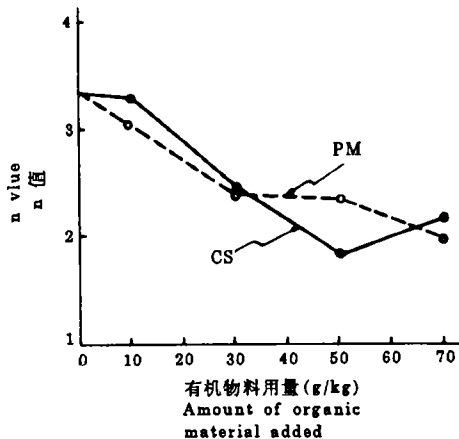
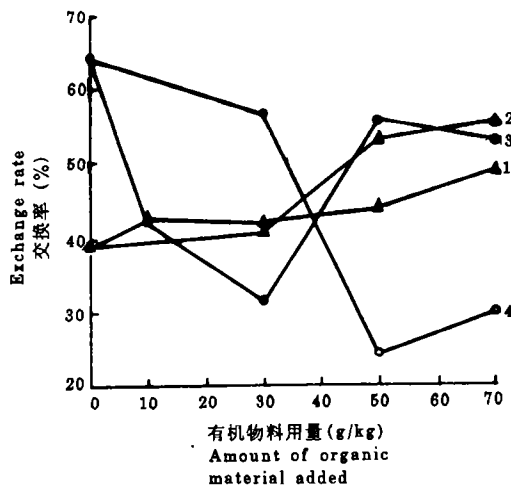


图5 有机物料用量对 HA 中烷基链长(n值)的影响

Fig.5 Effect of organic material amounts on the n value
of HAs from soils of the incubation experiment



1 Ali-H exchanged (CS) 秸秆
2 Ali-H exchanged (PM) 猪粪
3 Ar-H exchanged (CS) 秸秆
4 Ar-H exchanged (PM) 猪粪

图7 有机物料用量对 HA 中 H 交换率的影响
Fig.7 Effect of organic material amounts on the H
exchange rate of HAs from soils of the
incubation experiment

2.2 模拟试验

棕壤施用玉米秸秆(CS)和猪粪(PM)培养 180 天后, 我们测定了 HA 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱(DMSO- d_6), 其谱形状和化学位移归属与田间试验相似, 这里就不重复了。此地只将各类质子相对含量的变化和由之计算的 faH 的变化作一讨论。

土壤添加 CS 和 PM 后对 Alk-H 和 α -CH 的影响均不一致, CS 使 HA 中 Alk-H 的相对含量减少, α -CH 增加; 而 PM 则使 Alk-H 增加, α -CH 减少(图 4)。在 70 g / kg 用量时,

CS 处理的 Alk-H 下降幅度为 38%, α -CH 上升 20%; 而 PM 处理中 Alk-H 的增加幅度为 88%, α -CH 减少 20%。但无论是 CS, 还是 PM, 均使胡敏酸中 Alk-H + α -CH 的总和(Ali-C)的含量有一定的提高, 幅度为 2~14%。

看来, PM 有利于增加 HA 中烷基链中的 H; 而秸秆类物料有利于提高 HA 中碳水化合物中的 H。这可能分别与猪粪 HA 中含有较多的脂肪链烃(是正常土壤 HA 的 2 倍以上)^[2]和秸秆类物料含有较多的纤维素成分有关。

无论是 CS, 还是 PM, 均可引起 HA 中脂族链烃变短或分枝程度增加, 同时随有机物料用量的增加, n 值也减小(图 5)。这与田间试验结果相吻合。

另外, 由于总的脂族 H 含量增加, 使 Ar-H 含量减少, 从而导致 Ali-H 与 Ar-H 的比值提高, PM 比 CS 在这方面的作用大(图 6)。而且 CS 在 ≥ 30 g / kg 用量以后, Ali-H / Ar-H 比值不再提高, 其原因有待于进一步探讨。

加 D_2O 后, Ali-H 与 Ar-H 的交换率均与田间试验的变化规律一致, 即 Ali-H 的交换率增加; 而 Ar-H 的交换率降低(图 7)。均是 PM 比 CS 作用大, PM 为 70 g / kg 用量时 Ali-H 交换率的提高幅度达 43%, Ar-H 交换率的下降幅度为 53%。CS 用量 > 30 g / kg 后, Ar-H 的交换率也有回升的趋势, 与 Ali-H / Ar-H 比值的相对变化相对应。

根据 $^1\text{H-NMR}$ 谱和化学方法得到的结果所间接计算得的 faH 值, 其变化趋势与田间试验一致, 随有机物料用量的增加而降低, 同时也是 PM 比 CS 的作用明显(图 8)。这与 HA 的元素分析和光学性质的研究结果一致^[3,4], 也与 $^{13}\text{C-NMR}$ 结果吻合^[4,5]。

3 小结

1. 施用有机肥料使 HA 的 Ali-H 含量增加, 聚亚甲基链变得短而多分枝; Ar-H 含量减少, faH 下降, 即导致 HA 的脂族化。

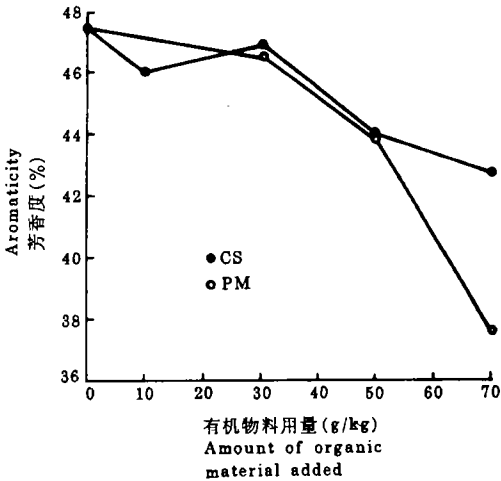


图 8 有机物料用量对 HA 芳香度的影响

Fig. 8 Effect of organic material amounts on the aromaticity of HAs from soils of the incubation experiment

2. 与玉米秸秆相比,猪粪使 HA 脂族化更有效,它主要是增加 Alk-H 的相对含量;而玉米秸秆和稻草则主要是提高 α -CH 的相对含量。
3. HA 在 DMSO-d₆ 和 NaOH-d₁ 溶剂系统中的 ¹H-NMR 波谱,可以互相补充地提供更多的结构信息。

参 考 文 献

1. 沈其丰,徐文智,1986: ¹³C-核磁共振及其应用。化学工业出版社。
2. 奚 森,1989: 不同来源胡敏酸的结构表征。吉林农业大学学报, 11(2): 50~56。
3. 奚 森,陈恩凤,须湘成,1992: 土壤有机培肥后胡敏酸结构特征变化规律的探讨——I. 胡敏酸的化学性质和热性质。土壤学报, 29(2): 199~207。
4. Dou Sen, Tan Shiwen, Xu Xiangcheng, et al., 1991: Effect of pig manure application on structural characteristics of humic acids in Brown soil. *Pedosphere*. 1(4): 345~354.
5. Dou Sen, Chen Enfeng, Xu Xiangcheng, et al., 1991: Effect of organic manure application on physical properties and humus characteristics of Paddy soil. *Pedosphere*. 4(2): 127~135.
6. Grant, D., 1977: Chemical structure of humic substances. *Nature*. 270: 709~717.
7. Ruggiero, P., Interesse, F. S. and sciacovelli, O., 1980: ¹H-NMR evidence of exchangeable aromatic protons in fulvic and humic acids. *Soil Biology and Biochemistry*. 12: 297~299.
8. Wilson, M. A., Jone, A. J. and Williamson, B., 1978: NMR spectroscopy of humic materials. *Nature*. 276: 487~489.
9. Wilson, M. A., 1981: Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy to the study of the structure of soil organic matter. *J. of Soil Sci.* 32: 167~186.
10. Wilson, M. A., Collin, P. J. and Tate, K. R., 1983: ¹H-NMR study of a soil humic acid. *J. of Soil Sci.* 34: 297~304.

EFFECT OF ORGANIC MANURE APPLICATION ON STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF HUMIC ACIDS—¹H-NMR SPECTRA OF HUMIC ACIDS

Dou Sen

(Jilin Agricultural University, Changchun 130118)

Hua Shiyang

(Jilin University, Changchun 130023)

Summary

In order to learn how the organic manure application influences the structural characteristics of humic acids in soils, a comparative study was initiated by the method of ¹H-NMR spectra of humic acids separated from the soils (brown soil, meadow soil and paddy soil) with and without organic manure applications (pig manure, corn stalk and rice straw) in field and incubation experiments. The results obtained are summarized as follows:

In the solvent system of DMSO-d₆, the absorption peaks of ¹H-NMR spectra were 0.8, 1.2, 3.4, 3.7, 4.4, 6.7, 7.2 and 8.1ppm. The absorption peaks of 0.8 and 1.2ppm were the contribution of —CH₃ and polymethylene chain (—CH₂—)_n in saturated hydrocarbons respectively; the signals of 3.4, 3.7 and 4.4ppm were due to the H connected with the carbons in carbohydrate (α-CH); and the peaks at 6.7, 7.2 and 8.1ppm were generally assigned to aromatic H and —COOH (Ar-H). In the solvent system of NaOH-d₁, signals at 1.8, 2.1, and 2.4ppm. were found. It was suggested that these arise from protons attached to carbon α to aromatic ring or other unsaturated groups and α-CH or β-CH in indanes and tetralins of the humic acid.

Application of organic manures led to the increase in the relative content of aliphatic H (ali-H). However, the methylene chains (n value) became shorter after organic manure application. On the other hand, the content of aromatic protons (Ar-H) and aromaticity (faH) in humic acids decreased because of organic manure application, which resulted in the increase in the ratio of aliphatic H to Ar-H in the humic acids. Results also showed that pig manure (PM) was more effective than corn stalk (CS) or rice straw (RS) in raising the proportion of aliphatic chain hydrocarbons in humic acids. Whereas CS and RS were more effective in increasing the relative content of carbohydrates in humic acids.

Key words Organic manure, Humic acid structure, ¹H-NMR