

# 有机无机肥配施黑土胡敏酸结构光谱学特征

张久明<sup>1,2</sup>, 周宝库<sup>1</sup>, 魏丹<sup>3\*</sup>, 迟凤琴<sup>1\*</sup>, 郝小雨<sup>1</sup>, 金梁<sup>1</sup>, 匡恩俊<sup>1</sup>

1. 黑龙江省农业科学院土壤肥料与环境资源研究所, 黑龙江省土壤环境与植物营养重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150086
2. 黑龙江省农业科学院博士后科研工作站, 黑龙江 哈尔滨 150086
3. 北京市农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100097

**摘要** 土壤有机质是土壤的重要组成部分, 在土壤肥力、环境保护、农业可持续发展等方面都具有重要作用。腐殖质作为土壤有机质的主体, 对土壤的一系列性质和形态产生影响, 其数量、组成和性质可以反映一定的成土条件和过程, 是土壤肥力的重要指标。由于腐殖质分子组成的不确定性, 各种方法均存在一定的局限性, 优化寻求更为准确可靠的腐殖酸表征方法已成为当前研究的热点。施肥方式改变土壤中胡敏酸的组成与结构, 但短期的影响程度难以用常规的测定技术检测出来。利用38年的黑土长期定位试验, 通过腐殖质组分HA的分离和纯化, 多种光谱分析方法的联合应用, 从物质结构的角度分析土壤中单施有机肥和有机无机肥配施对黑土HA有机化合物的分子结构变化的影响。分析显示, M和MNPK施肥处理较CK处理均可提高土壤有机碳和HA含量, 增加土壤中HA的总反应热、中温放热值、2920/1720值、脂族C含量、f450/500值, 表明单施有机肥和有机无机肥配施后土壤HA芳构化程度降低, 脂族含量增加, 结合简单化, 但M施肥处理增加幅度小于MNPK施肥处理。分析结果表明: 多种光谱技术的联合应用, 可以相互认证其结果的准确性。同时试验结果也证明有机无机肥配施较单施有机肥, 更能提高土壤有机碳和土壤HA的脂族C含量, 增加作物产量, 培肥地力。

**关键词** 黑土; 土壤腐殖质; 光谱学测定; 变化特征

**中图分类号:** S152.4 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)03-0845-06

## 引言

有机肥和化肥的合理配施是维持和提高土壤肥力的重要途径。长期施肥试验证明, 有机无机肥配施可以促进作物干物质积累和养分吸收, 提高作物产量<sup>[1]</sup>。胡敏酸(HA)作为土壤腐殖质的重要组成部分, 其含量和结构的变化会影响到土壤肥力水平及作物产量<sup>[2]</sup>。过去对土壤HA的研究方法较单一, 而随着现代仪器分析方法及手段的发展, <sup>13</sup>C-核磁共振(<sup>13</sup>C-NMR)波谱、红外光谱、荧光光谱等分析技术更多的运用到腐殖质结构的分析当中<sup>[3-5]</sup>。科研工作者采用光(波)谱学特性从物质结构的角度对不同来源腐殖酸类物质组进行了大量的报道<sup>[6-7]</sup>。本研究目的是长期定位施肥条件下, 黑土中施入有机肥和有机无机肥配施土壤HA结构变化特征, 多种光谱分析方法的联合应用是否可以证明黑土HA结

构相同的变化趋势。因此, 本文以农业部黑龙江耕地保育与农业环境科学观测试验站为平台(38年黑土定位施肥试验), 结合差热分析、傅里叶变换红外光谱、<sup>13</sup>C核磁共振波谱等现代分析技术手段, 从物质结构的角度分析黑土长期定位试验有机培肥处理土壤HA有机化合物组成及分子结构变化特征, 为黑土长期培肥提供理论依据。

## 1 实验部分

### 1.1 试验地点基本情况

黑土肥力长期定位监测试验站1979年建立, 现位于中国黑龙江省哈尔滨市民主乡光明村(E126°51'28", N45°50'37"), 海拔151m, 属松花江二级阶地。土壤为发育于黄土状母质上的中层黑土, 黑土层厚度为50cm, 质地为壤质, 土壤粘粒含量为30%~35%。气候属中温带大陆性季风气候, ≥

收稿日期: 2017-12-26, 修订日期: 2018-04-09

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0200407, 2016YFD0300806), 国家自然科学基金项目(41771284), 中央引导地方科技发展专项(ZY18A04), 黑龙江省农业科学院重点基金项目(2018KYJL011), 黑龙江省重点基金项目(ZD2018003)资助

作者简介: 张久明, 1980年生, 黑龙江省农业科学院土壤肥料与环境资源研究所助理研究员 e-mail: zjm\_8049@163.com

\* 通讯联系人 e-mail: fqchi2013@163.com; wd2087@163.com

10 °C 年平均有效积温为 2 700 °C, 年降雨量为 533 mm, 无霜期为 135 d。试验设 24 个处理, 3 次重复, 每个小区面积为 36 m<sup>2</sup>, 定位试验之前种植作物为小麦(1979 年), 长期定位试验采用小麦(1980 年)—大豆—玉米轮作方式。初始耕层(1979 年, 0~20 cm)土壤基本性质为: 有机碳含量为 15.5 g·kg<sup>-1</sup>, 全氮含量为 1.47 g·kg<sup>-1</sup>, 全磷(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)含量为 1.07 g·kg<sup>-1</sup>, 全钾(K<sub>2</sub>O)含量为 25.16 g·kg<sup>-1</sup>, 碱解氮含量为 151 mg·kg<sup>-1</sup>, 有效磷含量为 51 mg·kg<sup>-1</sup>, 速效钾含量为 200 mg·kg<sup>-1</sup>, pH 值为 7.2。在不同作物施肥用量见表 1,

表 1 长期定位试验施肥处理及施肥量(1979 年—2018 年)

Table 1 Treatment and fertilizer application rates of long-term experiment(1979—2018 year)

处理	施氮量 N/(kg·hm <sup>-2</sup> )			施磷量 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /(kg·hm <sup>-2</sup> )			施钾量 K <sub>2</sub> O /(kg·hm <sup>-2</sup> )	有机肥 /(t·hm <sup>-2</sup> )
	小麦	大豆	玉米	小麦	大豆	玉米		
CK	0	0	0	0	0	0	0	0
M	0	0	0	0	0	0	0	18.6
MNPK	150	75	150	75	150	75	75	18.6

## 1.2 样品采集

本试验选取长期定位试验对照不施肥(CK), 有机肥(M), 有机肥与无机肥氮磷钾配施(MNPK)。土壤样品采集于 2012 年秋(玉米), 采用 S 型取样, 共取 5 点, 采集深度为 0~20 cm。

## 1.3 方法

### 1.3.1 胡敏酸(HA)的分离纯化

称取过 2 mm 筛的风干土样 100 g 加入玻璃瓶中, 按土水比 1:1 加入 1 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl, 放置 1 h, 之后用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 调至最终土水比 1:10, 室温摇动玻璃瓶 1 h, 将混合液低速离心, 弃去上清液。用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 中和离心后沉淀(pH 7), 放置 1 h, 再用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 调至最终土水比 1:10, 立即充氮气(1 min)并盖严。保持氮气条件下(盖严)摇动玻璃瓶, 频率为 1 次/1 h, 持续 12 h 后静置过夜。翌日低速离心(3 500 r·min<sup>-1</sup>), 用 6 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 将瓶中液体酸化至 pH 1.0, 放置 12~16 h。重复提取 3 次, 之后低速离心, 沉淀为 HA。氮气条件用少量的 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 KOH 溶液溶解 HA, 之后加入固体 KCl, 使 K<sup>+</sup> 浓度为 0.3 mol·L<sup>-1</sup>, 静置 1 h 后, 高速离心并保留上清液。用 6 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 调节上清液至 pH 1.0, 放置 12~16 h, 高速离心后弃掉上清液。用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl+0.3 mol·L<sup>-1</sup> HF 混合酸浸泡 HA, 洗至灰分含量小于 1%。之后放入电渗析室里电渗, 直到用 AgNO<sub>3</sub> 检测蒸馏水中无 Cl<sup>-</sup>, 把液体旋转蒸发浓缩, 冻干备用<sup>[9]</sup>。

### 1.3.2 测定方法

#### (1) 热性质分析

热性质分析采用日本岛津 TA-60 型差热分析仪测定, 并应用仪器自带软件对各样品进行差热分析(differential thermal analysis, DTA)和热重分析(thermogravimetric analysis, TG 或 TGA)<sup>[9]</sup>。

#### (2) 红外光谱(FTIR)分析

红外光谱(IR)分析应用美国 NICOLET-EZ360 红外光谱

仪, 扫描模式为 4 000~400 cm<sup>-1</sup>, 采用 KBr 压片法测定。将待测有机质样品经真空冷冻干燥后, 粉碎研细到小于 2 μm, 然后分别用微量或半微量天平称取土壤有机质样品和 KBr 粉末, 并以样品:KBr=1:200 的比例, 在玛瑙研钵中混磨后压片。以 4 000, 2 000 和 860 cm<sup>-1</sup> 处作为零吸收点, 将通过 3 点的直线作为基线, 进行吸收强度的测定, 并加以比较。测定时, 仪器的分辨率设为 4 cm<sup>-1</sup><sup>[10]</sup>。

有机肥为纯马粪, 采集于固定养马农户, 按纯氮量 75 kg·hm<sup>-2</sup>(约马粪 18 600 kg·hm<sup>-2</sup>)施用, 每轮作周期玉米收获后施入。马粪中有机碳(C)、氮(N)、磷(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)和钾(K<sub>2</sub>O)含量分别为 163.6, 5.8, 6.5 和 9.0 g·kg<sup>-1</sup>。氮、磷、钾肥均为秋季施肥(玉米季氮肥 50% 秋施, 50% 于大喇叭口期追肥), 氮肥为尿素(N 46%), 磷肥为重过磷酸钙(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 46%), 钾肥为硫酸钾(K<sub>2</sub>O 50%)<sup>[8]</sup>。2012 年 M 和 MNPK 处理玉米产量为 7 200 和 9 869 kg·hm<sup>-2</sup>, CK 处理产量为 4 459 kg·hm<sup>-2</sup>。

表 1 长期定位试验施肥处理及施肥量(1979 年—2018 年)

Table 1 Treatment and fertilizer application rates of long-term experiment(1979—2018 year)

处理	施氮量 N/(kg·hm <sup>-2</sup> )			施磷量 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /(kg·hm <sup>-2</sup> )			施钾量 K <sub>2</sub> O /(kg·hm <sup>-2</sup> )	有机肥 /(t·hm <sup>-2</sup> )
	小麦	大豆	玉米	小麦	大豆	玉米		
CK	0	0	0	0	0	0	0	0
M	0	0	0	0	0	0	0	18.6
MNPK	150	75	150	75	150	75	75	18.6

## 1.2 样品采集

本试验选取长期定位试验对照不施肥(CK), 有机肥(M), 有机肥与无机肥氮磷钾配施(MNPK)。土壤样品采集于 2012 年秋(玉米), 采用 S 型取样, 共取 5 点, 采集深度为 0~20 cm。

## 1.3 方法

### 1.3.1 胡敏酸(HA)的分离纯化

称取过 2 mm 筛的风干土样 100 g 加入玻璃瓶中, 按土水比 1:1 加入 1 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl, 放置 1 h, 之后用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 调至最终土水比 1:10, 室温摇动玻璃瓶 1 h, 将混合液低速离心, 弃去上清液。用 1 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 中和离心后沉淀(pH 7), 放置 1 h, 再用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 调至最终土水比 1:10, 立即充氮气(1 min)并盖严。保持氮气条件下(盖严)摇动玻璃瓶, 频率为 1 次/1 h, 持续 12 h 后静置过夜。翌日低速离心(3 500 r·min<sup>-1</sup>), 用 6 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 将瓶中液体酸化至 pH 1.0, 放置 12~16 h。重复提取 3 次, 之后低速离心, 沉淀为 HA。氮气条件用少量的 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 KOH 溶液溶解 HA, 之后加入固体 KCl, 使 K<sup>+</sup> 浓度为 0.3 mol·L<sup>-1</sup>, 静置 1 h 后, 高速离心并保留上清液。用 6 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 调节上清液至 pH 1.0, 放置 12~16 h, 高速离心后弃掉上清液。用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl+0.3 mol·L<sup>-1</sup> HF 混合酸浸泡 HA, 洗至灰分含量小于 1%。之后放入电渗析室里电渗, 直到用 AgNO<sub>3</sub> 检测蒸馏水中无 Cl<sup>-</sup>, 把液体旋转蒸发浓缩, 冻干备用<sup>[9]</sup>。

### 1.3.2 测定方法

#### (1) 热性质分析

热性质分析采用日本岛津 TA-60 型差热分析仪测定, 并应用仪器自带软件对各样品进行差热分析(differential thermal analysis, DTA)和热重分析(thermogravimetric analysis, TG 或 TGA)<sup>[9]</sup>。

#### (2) 红外光谱(FTIR)分析

红外光谱(IR)分析应用美国 NICOLET-EZ360 红外光谱

仪, 扫描模式为 4 000~400 cm<sup>-1</sup>, 采用 KBr 压片法测定。将待测有机质样品经真空冷冻干燥后, 粉碎研细到小于 2 μm, 然后分别用微量或半微量天平称取土壤有机质样品和 KBr 粉末, 并以样品:KBr=1:200 的比例, 在玛瑙研钵中混磨后压片。以 4 000, 2 000 和 860 cm<sup>-1</sup> 处作为零吸收点, 将通过 3 点的直线作为基线, 进行吸收强度的测定, 并加以比较。测定时, 仪器的分辨率设为 4 cm<sup>-1</sup><sup>[10]</sup>。

#### (3) 核磁共振波谱(CPMAS <sup>13</sup>C-NMR)分析

采用固态<sup>13</sup>C 核磁共振波谱用瑞士 Bruker AV400 型核磁共振仪测定, 运用交叉极化魔角自旋(CPMAS)技术, <sup>13</sup>C 共振频率为 400.18 MHz, 魔角自旋频率为 8 kHz 接触时间为 2 ms, 循环延迟时间为 3 s, 数据点为 3 000 个, 化学位移用外标 2,2-二甲基-2-硅戊烷-5-磺酸钠(DSS)校正, 积分面积由仪器自动给出, 各类型碳相对含量用某化学位移区间积分面积占总积分面积的百分数表示<sup>[11]</sup>。

#### (4) 荧光光谱分析

荧光谱测定采用仪器为 Perkin Elmer Luminescence Spectrometer LS50B。激发光源: 150 W 氙弧灯; PMT 电压: 700 V; 信噪比>110; 带通(Bandpass): Ex=10 nm; Em=10 nm; 响应时间: 自动; 扫描速度: 1 500 nm·min<sup>-1</sup>; 扫描光谱进行仪器自动校正。样品扫描浓度均为 25 mg(C)·L<sup>-1</sup>, 运用该产品自带的软件(FL WinLab software (Perkin Elmer))收集数据。三维荧光光谱测定时发射光谱波长 Em=250~700 nm。

#### (5) 数据统计分析

红外光谱分析采用 Nicolet Omnic8.0 专业软件分析, 核磁共振波谱(CPMAS <sup>13</sup>C-NMR)采用 MestReNova 专业软件分析, 荧光光谱运用该产品自带的软件(FL WinLab software (Perkin Elmer))收集数据。经过分析提取源数据后采用 Microsoft Office Excel 2010 和 Origin 8.0 软件进行数据处理和绘图, Origin 绘图将“Available Data”中数据以拟合曲线叠加方式进行绘制, SPSS 19.0 统计分析软件对数据进行差异显

著性检验(邓肯法)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 有机培肥对土壤有机碳及胡敏酸含量的影响

本研究中 M 和 MNPK 施肥处理土壤有机碳含量为 14.50 和 14.79  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , CK 处理土壤有机碳含量为 12.41  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 土壤中施入有机肥和有机无机肥配施后较不施肥土壤有机碳平均增加了 16.8% 和 19.2%。M 和 MNPK 施肥处理的土壤 HA 含量为 4.43 和 5.03  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 较 CK 土壤 HA 含量提高 53.8% 和 74.7%。表明 M 和 MNPK 施肥处理可以明显提高土壤有机碳和 HA 含量( $p < 0.05$ ), 差异显著, 并且 MNPK 施肥处理提高幅度高于 M 施肥处理。

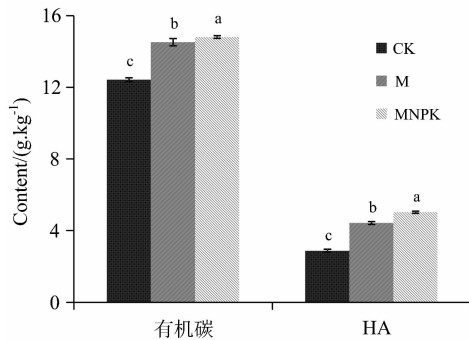


图 1 有机培肥后黑土有机碳和 HA 的含量

Fig. 1 Content of organic carbon and HA in black soil after organic-inorganic fertilizer application

### 2.2 有机培肥后黑土胡敏酸热性质变化

样品和参比物之间的温差是由于样品在程序升温过程中放出或吸收热量造成的(参比物不发热或吸热)。这种热量的形成是由样品发生相变或反应热效应引起的, 如熔化、沸腾、升华、蒸发、氧化-还原反应、脱氢反应、晶格结构破坏以及其他化学反应等<sup>[12]</sup>。土壤 HA 的差热分析 DTA 曲线显示(图 2): M 和 MNPK 施肥处理和 CK 都出现低温吸热峰, 中温和高温放热峰。低温吸热峰峰温 M 和 MNPK 施肥处理出现在 70  $^{\circ}\text{C}$ , CK 处理在 75  $^{\circ}\text{C}$  左右; 中温放热峰都在 340  $^{\circ}\text{C}$  左右; 高峰放热峰 M 和 MNPK 施肥处理为 520 和 510  $^{\circ}\text{C}$ , 而 CK 处理为 515  $^{\circ}\text{C}$ 。从半定量积分数据的结果来看, M 和 MNPK 施肥处理土壤腐殖质 HA 反应热与 CK 存在一定的差异。M 和 MNPK 施肥处理 HA 总反应热(吸热+放热)为 11.71 和 12.18  $\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$ , CK 处理 HA 总反应热为 10.17  $\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$ , 有机培肥处理的 HA 总反应热较 CK 高可以初步说明处理中能够分解的有机质含量较高, 并且 MNPK 的 HA 总反应热的值高于 M 施肥处理。M 和 MNPK 施肥处理土壤 HA 中温放热值高于 CK 处理, 分别为 1.63 和 1.73  $\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$  较 CK 提高 15.6% 和 22.7%; CK 和 M, MNPK 施肥处理土壤 HA 的高温/中温比值为 6.68 和 6.55 和 6.43。中温值较高可以说明有机培肥处理脂族结构和外围羧基官能团所占比例升高, 并且 MNPK 施肥处理中温值高于 M 施肥处理, 表明有机无机肥配施更能增加土壤 HA 脂族结构。而

CK 处理土壤 HA 的高温/中温比值较高说明其分子中芳香结构相对较多。

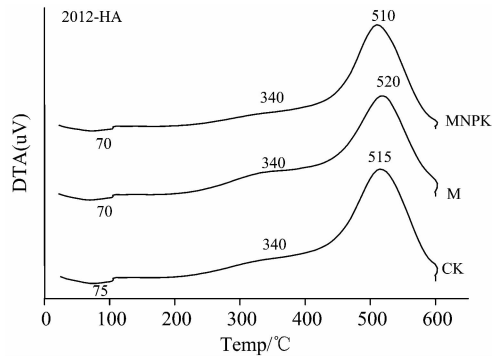


图 2 有机培肥后黑土 HA 的 DTA 曲线特征

Fig. 2 DTA curve characteristics of HA in black soil after application of organic and inorganic fertilizer

### 2.3 有机培肥后黑土胡敏酸(HA)结构的红外光谱特征

研究认为 2 920, 2 850 和 1 460~1 450  $\text{cm}^{-1}$  吸收峰应归属于脂族 C—H 的伸缩振动, 三个峰的强度可表征腐殖质(HS)中脂族化合物的含量, 2 920/2 850 值可理解为脂族链烃中聚亚甲基碳和末端甲基碳的比例, 即  $n$  值, 反映脂族链的长短或分支情况, 特征峰的吸收强度的多少可反映官能团量的相对多少<sup>[13]</sup>。

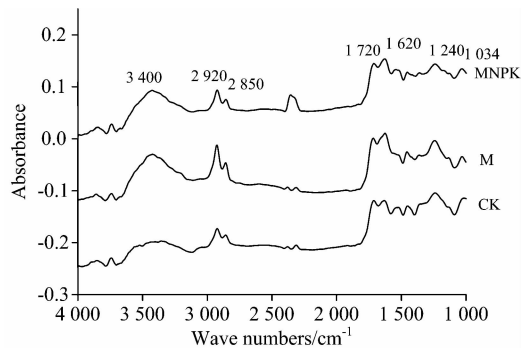


图 3 有机培肥后黑土 HA 的 IR 图谱特征

Fig. 3 IR spectra of black soil after organic-inorganic fertilizer application

从图 3 可看出: M, MNPK 和 CK 处理土壤 HA 的 IR 图谱具有相似的特征, 在 3 400, 2 920, 2 850, 1 720, 1 620 和 1 240  $\text{cm}^{-1}$  处均有吸收峰, 但吸收强度不同。黑土中腐殖质组分 HA 在 2 920  $\text{cm}^{-1}$ (脂族聚亚甲基)和 1 620  $\text{cm}^{-1}$ (芳香类)振动最为强烈, M, MNPK 施肥处理 3 400  $\text{cm}^{-1}$  附近具有较强吸收峰(羟基官能团)。从表 2 可看到: 2 920, 2 850, 1 720, 1 620, 1 240  $\text{cm}^{-1}$  处吸收峰的积分面积均为 M, MNPK 施肥处理高于 CK。各吸收峰的积分面积的不同, 导致其比值发生变化。不同施肥处理黑土 HA 的 IR 吸收峰 2 920/1 720 值 M>MNPK>CK, 有机培肥处理与 CK 处理之间差异显著( $p < 0.05$ )。2 920/1 620 值为 MNPK 施肥处理较高, M 施肥处理较低。同样, MNPK 施肥处理的 HA 的 IR 吸收峰 2 920/2 850 值高于其他处理, MNPK 施肥处理最高, 其

比值为 5.908, 而 M 施肥处理土壤 HA 的 2 920/2 850 值较 CK 下降。

表 2 不同施肥处理黑土 HA 的 IR 光谱主要吸收峰的相对强度/ $\text{cm}^{-1}$  (半定量)

Table 2 The relative intensities of the main absorption peak of HA IR spectrum in different fertilization treatments of Black soil (semi-quantitatively,  $\text{cm}^{-1}$ )

处理	CK	M	MNPK
2 920	0.905±0.01 <sup>b</sup>	2.059±0.04 <sup>b</sup>	2.180±0.03 <sup>a</sup>
2 850	0.310±0.01 <sup>a</sup>	1.077±0.08 <sup>a</sup>	0.369±0.01 <sup>a</sup>
1 720	1.112±0.01 <sup>b</sup>	2.304±0.05 <sup>a</sup>	2.032±0.01 <sup>a</sup>
1 620	0.888±0.01 <sup>b</sup>	3.033±0.01 <sup>a</sup>	1.622±0.03 <sup>a</sup>
2 920/1 720	1.093±0.01 <sup>b</sup>	1.361±0.08 <sup>a</sup>	1.254±0.02 <sup>a</sup>
2 920/1 620	1.368±0.01 <sup>b</sup>	1.034±0.03 <sup>c</sup>	1.572±0.03 <sup>a</sup>
2 920/2 850	2.919±0.10 <sup>b</sup>	1.912±0.14 <sup>c</sup>	5.908±0.06 <sup>a</sup>

注: 2 920/1 720 比值为 2 920+2 850 处面积与 1 720 处面积的比值;  
2 920/1 620 比值为 2 920+2 850 处面积与 1 620 处面积的比值;  
2 920/2 850 比值为 2 920 处面积与 2 850 处面积的比值

Note: 2 920/1 720 means the ratio of the area of 2 920+2 850 to the area of 1 720; 2 920/1 620 ratio is the ratio of the area of 2 920+2 850 to the area of 1 620; 2 920/2 850 ratio is the ratio of the area of 2 920 to the area of 2 850

## 2.4 有机无机肥配施黑土胡敏酸(HA)结构的 CPMAS $^{13}\text{C}$ -NMR 波谱特征

腐殖质的  $^{13}\text{C}$  核磁共振波谱图中碳谱可划分为 4 个主要的共振区, 即烷基 C 区 ( $0\sim 50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )、烷氧 C 区 ( $50\sim 110\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )、芳香 C 区 ( $110\sim 160\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和羰基 C 区 ( $160\sim 200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )<sup>[14]</sup>。一般各共振区的烷基 C 区主要吸收峰及归属在 21, 26, 30, 33 和 44  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  观察到吸收峰, 它们分别为芳环相连的  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ , 无定型  $(\text{CH}_2)_n$  长链 C, 晶型  $(\text{CH}_2)_n$  长链 C 和支链烷基 C<sup>[15]</sup>。本研究中土壤 HA 的烷基 C 吸收峰主要在 30  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  附近, 是长链烷烃或环烷烃结构中的亚甲基 C 的化学位移。烷氧 C 区中, 54~55  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  为甲氧基 C 的吸收, 61~62, 72~75 和 83~87  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  为碳水化合物 C 的吸收, 103~105  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  为双烷氧 C 的吸收, 图 4 所示, 施肥处理中黑土 HA 的烷氧 C 吸收峰主要在 55  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  附近, 归属为甲氧基 C 的吸收和碳水化合物 C 的吸收。芳香 C 区中, 129  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  附近主要是被羧基或羧甲基取代的芳香 C 以及与 O, N 等取代基间位的连 H 芳香 C 的吸收; 羰基 C 区中, 主要信号出现在 170  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  附近, 为羧酸、酯和酰胺 C 的吸收<sup>[11]</sup>。烷基 C 和烷氧 C 构成腐殖质的脂族 C, 芳香 C 主要是木质素 C, 代表其芳香性, 值越高表明结构越复杂。

M, MNPK 施肥处理土壤 HA 中烷基 C 的比例为 21.1% 和 21.8%, 烷氧 C 为 18.6% 和 16.2%, 芳香 C 为 42.4% 和 42.1%, 羰基 C 为 17.8% 和 19.9%; 烷基 C 和烷氧 C 之和脂族 C 为 39.7% 和 38.0%。CK 处理黑土 HA 中烷

基 C 的比例为 19.1%, 烷氧 C 为 18.4%, 芳香 C 在 44.3%, 羰基 C 为 18.3%; 脂族 C 为 37.5%。本研究中 M, MNPK 施肥处理土壤 HA 的脂族 C 较 CK 增加, 芳香 C 含量下降, MNPK 施肥处理 HA 的羰基 C 较 CK 增加, 而 M 施肥处理较 CK 降低。

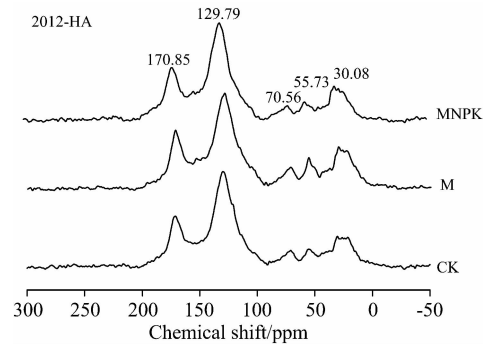


图 4 有机培肥后黑土 HA 的 CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR 波谱特征  
Fig. 4 CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum characteristics of HA in black soil after application of organic and inorganic fertilizer

## 2.5 有机无机肥配施黑土胡敏酸(HA)结构的荧光特性

如图 5, 不同的施肥处理均在  $E_x/E_m=460\sim 470/518\sim 530\text{ nm}$  和  $330\sim 340/478\sim 520\text{ nm}$  产生两个特征峰。通过分析可知, a 峰属于紫外区类富里酸荧光峰, c 峰可归结为类胡敏酸荧光峰。在各处理胡敏酸的三维图谱中, 未观测出类蛋白荧光峰及可见区类富里酸峰。在已观测到的两个荧光峰中, 类胡敏酸峰的荧光峰值要大于紫外区类富里酸峰, 且这两个特征峰的相对波长都较长, 表明其分子量相对较高, 并且含有线性稠环、芳香环以及一些具有不饱和结构的基团, 如羰基、羧基等。荧光指数 (fluorescence index,  $f_{450/500}$ ) 是激发光波长 370 nm 时, 荧光发射光谱中 450 和 500 nm 处荧光强度比值。 $f_{450/500}$  值与 HA 芳香性之间呈负相关。 $f_{450/500}$  值较高说明其腐殖类物质含有较少的苯环结构, 芳香性较弱<sup>[16]</sup>。在本试验中胡敏酸的分子结构均较为复杂。CK, M, MNPK 处理 HA 的  $f_{450/500}$  值分别为 0.583, 0.601, 0.618。研究显示, 类胡敏酸荧光峰的存在是腐殖酸分子结构复杂、腐殖化程度高的表现, 而类富里酸荧光峰与腐殖质结构汇总羰基和羧基的形成有关。当腐殖质形成宽且强度较弱的峰时, 其芳化程度较高, 不饱和键多, 亲电子官能团也较多; 当图像结果相反时, 腐殖质的芳化度低、不饱和键较少, 亲电子官能团少, 结构也相应简单。施入有机物料后, 土壤 HA 的 370~450 nm 波长发生紫移, 即向波长减少的方向移动, 表明 HA 的芳构化程度下降, 以结构较简单的、增强分子荧光强度的取代基—OH, —NH<sub>2</sub> 等取代较为复杂的、能使荧光强度减弱的取代基—CO<sub>2</sub>H, —C=O, 并且降低分子芳化程度与缩合度, 使分子结构简单化。因此可推断本研究中 MNPK, M 施肥处理 HA 含有苯环结构较少, 结构趋于简单化, 而 CK 处理芳构化程度较强, 结构较为复杂。

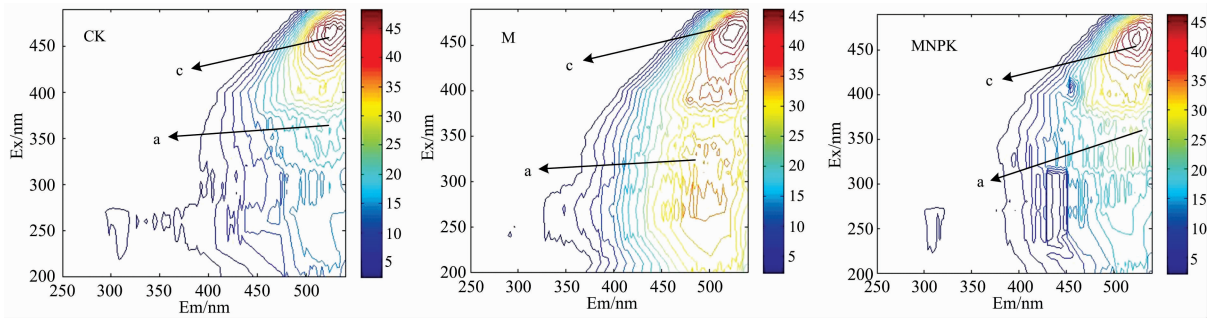


图 5 有机培肥后黑土 HA 的荧光三维光谱特征

Fig. 5 The three dimensional fluorescence characteristics of HA in black soil with organic and inorganic fertilizer

### 3 结 论

M, MNPK 施肥处理较 CK 处理提高土壤有机碳和 HA 碳含量, MNPK 施肥处理增加幅度大于 M 施肥处理。通过对 HA 多种光谱分析结果显示, 有机培肥处理较不施肥处理具有较多的有机质含量, 较 CK 处理土壤 HA 的苯环结构较少, 脂肪族 C 含量, 使 HA 结构简单化, 并且 MNPK 施肥处

理较 M 施肥处理更能增加土壤 HA 脂族结构。本研究中, 紫外可见光谱、 $^{13}\text{C}$  核磁共振波谱和荧光光谱对 HA 的结构分析结果具有一致性, 多种光谱技术的联合应用, 可以相互认证其结果的准确性。同时试验结果也证明有机无机肥配施较单施有机肥, 更能提高土壤有机碳和土壤 HA 的脂肪族 C 含量, 有机质中脂类增加, 促进土壤养分释放, 增加作物产量, 培肥地力。

### References

- [1] HAO Xiao-yu, ZHOU Bao-ku, MA Xing-zhu, et al(郝小雨, 周宝库, 马星竹, 等). Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(农业工程学报), 2015, 31(16): 178.
- [2] Tan K H. Humic Matter in Soil and the Environment: Principles and Con-Troversies. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2014.
- [3] Wei Zimin, Wang Xueqin, Zhao Xinyu, et al. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 113; 187.
- [4] Cui Hongyang, Zhao Yue, Chen Yanni, et al. Journal of Hazardous Materials, 2017, 326; 10.
- [5] Cui Hongyang, Shi Jianhong, Qiu Linlin, et al. Environ. Sci. Pollut. Res., 2016, 23; 10058.
- [6] Zhao Y, Wei Y Q, Zhang Y, et al. Ecological Indicator, 2017, 72; 473.
- [7] Wei Z M, Wang X, Zhao X, et al. International Biodeterioration & Biodegra-Dation, 2016, 113; 187.
- [8] HAO Xiao-yu, MA Xing-zhu, ZHOU Bao-ku, et al(郝小雨, 马星竹, 周宝库, 等). Journal of Soil and Water Conservation(水土保持学报), 2016, 30(5): 316.
- [9] ZHU Shu(朱 姝). Effect of Deep Application of Straw on Composition and Structure of Humus in Aggregates (Master Degree Thesis) (秸秆深还对土壤团聚体中腐殖质组成与结构特征的影响)(硕士论文). Changchun: Jilin Agricultural University(长春: 吉林农业大学), 2015.
- [10] WU Jing-gui, WANG Ming-hui, JIANG Yi-mei, et al(吴景贵, 王明辉, 姜亦梅, 等). Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学), 2005, (7): 1394.
- [11] LI Cui-lan, ZHANG Jin-jing, GAO Qiang, et al(李翠兰, 张晋京, 高 强, 等). Journal of Soil and Water Conservation(水土保持学报), 2013, 27(5): 159.
- [12] Dou S. Soil Organic Matter(土壤有机质). 1st ed. Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 2010.
- [13] ZHANG Cai-hai(张彩华). Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室), 2011, 28(2): 693.
- [14] Abdulla H A N, Minor E C, Dias R F, et al. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2010, 74(13): 3815.
- [15] Zhang J M, Wang J K, An T T, et al. Plos One, 2017, 12(11): e0186918.
- [16] CHI Feng-qin, KUANG En-jun, ZHANG Jiu-ming, et al(迟凤琴, 匡恩俊, 张久明, 等). Soil and Fertilizer Sciences in China(中国土壤与肥料), 2016, (3): 19.

# Spectroscopic Characteristics of HA Structure in Black Soil with Organic and Inorganic Fertilizer

ZHANG Jiu-ming<sup>1,2</sup>, ZHOU Bao-ku<sup>1</sup>, WEI Dan<sup>3\*</sup>, CHI Feng-qin<sup>1\*</sup>, HAO Xiao-yu<sup>1</sup>, JIN Liang<sup>1</sup>, KUANG En-jun<sup>1</sup>

1. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Institute of Soil Fertility and Environmental Resources, Heilongjiang Province Key Laboratory of Plant Nutrition and Soil Environment, Harbin 150086, China

2. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Postdoctoral Programme, Harbin 150086, China

3. Institute of Plant Nutrition and Resources, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097, China

**Abstract** Soil organic matter is an important part of soil, and plays an important role in soil fertility, environmental protection and sustainable development of agriculture. As the main body of soil organic matter, humus has an effect on a series of properties and forms of soil. Its quantity, composition and properties can reflect certain conditions and processes of soil formation, and it is an important index of soil fertility. Humus is a complex mixture of species, and there is no definite molecular weight and only molecular weight distribution. Its molecular composition and chemical structure are still not clear until now, which largely limits the further research of humic acid. Due to the uncertainty of the composition of the humus molecules, there are some limitations of various methods. Optimizing the search for a more accurate and reliable humic acid characterization method has become a hot spot in the current research. Fertilization modifies the composition and structure of humic acid in soil, but the short-term influence degree is difficult to be detected by conventional methods. This paper uses 38 years of long-term black soil positioning test, through the separation and purification of humic component HA, thermal properties analysis, fourier transform infrared spectroscopy, <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy and fluorescence spectroscopy analysis technology. The effects of organic fertilizer and inorganic fertilizer on the molecular structure of HA in black soil were analyzed from the point of view of material structure. The results showed that the mechanism of organic fertilizers application (MNPK) and CK (no fertilization) to increase crop yields was that MNPK fertilization increased soil organic carbon content compared with CK, at the same time, the HA content of humus could be extracted from soil, and the content of aliphatic C in soil HA increased and the structure was simplified. The lipids in soil organic matter were mainly fat, wax and resin, which had a significant influence on the decomposition of soil organic matter, thus affecting nutrient release and plant growth, and the increase of soil nutrients promoted the increase of maize yield under MNPK fertilization. The analysis showed that the total reaction heat of MNPK fertilization treatment soil HA, 2 920/1 720 and 2 920/2 850 value was higher than CK, and <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy showed that the molecular structure of HA in black soil was obviously aliphatic after MNPK fertilization, and increased the soil aliphatic C content of HA, reduced the aromatic C content. Fluorescence emission spectra showed that the f450/500 value of MNPK-treated HA increased significantly compared with the control, indicating that the degree of aromatization of soil HA decreased with the application of organic fertilizer. The above analysis results showed that, after the application of organic and inorganic fertilizers, the molecular structure of HA in the black soil became aliphatic and simplistic; the combination of multiple spectroscopic techniques could mutually verify the accuracy of the results. At the same time, the test results also proved that once organic fertilizer was applied in the rotation period, the soil organic carbon and the Aliphatic C content of soil HA could be increased, and the crop yield and soil fertility could be increased.

**Keywords** Black soil; Soil humus; Spectrometric determination; Change characteristics

(Received Dec. 26, 2017; accepted Apr. 9, 2018)

\* Corresponding authors