第 24 卷 第 3 期 土 壤 学 报 Vol. 24, No. 3
1987 年 8 月 ACTA PEDOLOGICA SINICA Aug., 1987

土壤中水溶性有机物质的数量、性质及其变化*

丁昌璞 Ceccanti B.
(中国科学院南京土壤研究所) (意大利国家研究委员会土壤化学研究所)

摘 要

水溶性有机物质的数量可因绿肥种类、土壤和时间而异。该物质是一类分子量低、带不同电荷(正、负电荷)和等电点的物质，并含有羧基和胺基。其中的某些性质随时间而变。该物质的数量与 Eh 的相关系数显著。其还原性因绿肥种类而异。工作中应用了凝胶层析、红外、可见光谱分析和等电聚焦技术。

淹水土壤中的物质转化与排水良好土壤中者有很大的不同，其中有机物质的分解产物一直引人注意[1,7,15,22]。众所周知，有机分解产物在土壤中起着重要的作用，它不仅与土壤肥力密切相关，而且也影响一系列的土壤性质。显然，研究淹水条件下有机分解产物的意义是不容低估的[8,9,14-16,20-22]。

由于有机分解产物很复杂，加之研究手段的限制，所以尽管有关研究者对其进行了较长时间的研究，但进展仍不能令人满意，其中水溶性绿肥分解物质的研究材料更属鲜见[15-20]。因此，应用新方法加强这方面的研究是很有必要的。本文是研究在淹水条件下，水溶性绿肥分解产物的数量、性质、变化特征及其与 Eh 的关系。

一、标本和方法

供试土壤为中国广东砖红壤、江西第四纪红粘土和江苏黄棕壤；意大利阿尔卑斯山灰化土、中部红土和地中海近海沉积性砂土。这些土壤的基本性质见表 1。

将上述土壤风干，磨细，过 60 孔筛，然后各取 100 克分别加入紫云英、稻草干粉 5 克和 50ppm Cr^{+6} ($K_2Cr_2O_4$ 标准液)，淹水，拌匀，在室温 (28℃±2) 下放置培养，分别在第 2 天、6 天和 45 天取样进行有关项目的测定。

水溶性还原性物质：吸取各处理的上层培养清液各 10 毫升，在常温下用 0.02N $KMnO_4$ 滴定，至溶液呈微红色并维持半分钟不褪色为止。为了避免高铁离子干扰滴定，加入少量磷酸，以便观察终点。

铬：用均二苯卡巴肼 (S-diphenyl carbozide) 比色法测定[2]。

水溶性有机物质的级分及其表观分子量：取绿肥培养清液 5 毫升，离心，然后通过凝胶层析柱(30×2 厘米)，凝胶采用 Bio-gel P2 (Bio-Rad. Labs. Richmond. Calif. U. S. A.)。水溶性有机物质将依其分

* 这项工作是作者在意大利国家研究委员会土壤化学研究所进行的合作研究。感谢所长 P. Sequi 教授给予了热情支持和帮助，深表谢意。

表 1 供试土样的基本性质

Table 1 Some properties of soil samples

土壤类型 Soil type	采地 Locality	层次 Horizon	pH (H_2O)	有机质 (%) O. M.	阳离子交换量 (meq/100g) CEC	全铁 (%) Total iron	全锰 (ppm) Total Mn
砖红壤	中国广东	C	5.2	0.70	9.2	15.9	1380
第四纪红粘土	中国江西	C	4.5	0.42	7.4	6.84	742
黄棕壤	中国江苏	C	6.5	0.80	15.3	6.20	570
灰化土	意大利阿尔卑斯山	C	4.4	—	7.5	4.20	487
红土	意大利中部	C	6.0	0.10	5.5	2.0	82.5
近海沉积性砂土	意大利中部	C	8.3	0.14	5.1	1.70	385

子量大小顺序流出，在恒温（－4℃）冷冻系统中，用紫外吸收仪（Ultra violet absorption meter, Detector unit type 8303A LKB. Sweden）检测并自动记录待测物质的峰高和峰数，同时用已知分子量的物质在相同条件下通过层析柱并记录，以此作为标准，与待测物质比较，估测其分子量。

水溶性有机物质的性质：采用等电聚焦技术（Isoelectric tocusing techniqui）测定其两性性质和等电点[3,4]。试验在 5% 聚丙烯酰胺凝胶柱(Cylindrical polycrylamide gel)上进行，用 Ampholyte（Ampho-ine, LKB, Sweden）载体混合液（等电点分别为 3.5—10 和 4—6）获得稳定的 pH 梯度。柱的阳极端用 0.01M H_3PO_4 接触，阴极端用 0.02M NaOH 接触。加试样，然后外加电压，使电流为 2 毫安，进行予电泳。当电流降至 1 毫安以下或试样的聚集带呈微棕色时，即切断电源。用微 pH 电极（Pro-Philer Cat. 163）和 901 离子计（Orion Research, Cambridge Mass. U.S.A.）测量 pH，每间隔距离为 0.5 厘米。上述凝胶柱用附有扫描装置的分光光度计（Beckman, Acta V），波长固定在 350nm 进行测定。以柱的长度为横座标，pH 为纵座标，绘制等电聚焦图。

水溶性有机物质的功能团：用红外光谱（Perkin Elmer 457 Grating infrared spectrometer）鉴定。

Eh 分别在第 2，6，9，12，16，45 天用常法测定。

二、结果与讨论

（一）水溶性还原性物质的数量

绿肥加入土壤后即进行嫌气分解，产物中的水溶性还原性物质的性质极为活泼，在氧化还原反应中起着重要的作用。

土壤中的水溶性还原性物质主要包括低分子量的有机物质和经有机物质还原的亚铁离子，而在培养的绿肥分解液中则主要为前者。从表 2 看出，土壤中水溶性还原性物质的数量可因绿肥种类和土壤而异，例如培养初期，紫云英分解产物中这类物质的数量为 51.8 毫当量/100 克，而稻草则为 35.1 毫当量/100 克；在三种中国土壤中，紫云英和稻草的水溶性还原性物质的数量都低于三种意大利土壤中者。这可能与土壤的阳离子交换量和所含氧化铁、锰的数量有关，因为阳离子交换量大的土壤可以吸附较多的水溶性还原性物质（例如亚铁离子），带正电荷的氧化铁胶体又是带负电荷水溶性有机物质的强烈吸附剂，而且在氧化还原反应中，水溶性有机还原性物质（电子提供者）易与氧化铁、锰作用而消耗，所以在阳离子交换量和氧化铁都较低的意大利土壤中，存在较大量的水溶性还原性物质是予期中的[20-22]，从表 2 还可看出，在培养过程中，水溶性还原性物质的数量一般随时间

表 2 不同处理中水溶性还原性物质的含量

Table 2 Contents of water-soluble reducing substances in different treatments

处理 Treatments	水溶性还原物质含量 (meq/100g) Contents of water-soluble reducing substances 培养时间(天数) Incubation time (day)		
	2	6	45
黄棕壤+紫云英+铬	3.13	2.16	0.49
黄棕壤+稻草+铬	0.70	0.70	0.27
黄棕壤+铬	无	无	无
第四纪红粘土+紫云英+铬	1.90	1.40	0.42
第四纪红粘土+稻草+铬	0.54	0.38	0.27
第四纪红粘土+铬	无	无	无
砖红壤+紫云英+铬	2.42	1.62	0.42
砖红壤+稻草+铬	0.59	0.54	0.31
砖红壤+铬	无	无	无
灰化土+紫云英+铬	3.67	3.08	—
灰化土+稻草+铬	1.58	1.40	0.36
灰化土+铬	无	无	无
砂土+紫云英+铬	3.78	3.35	0.56
砂土+稻草+铬	1.40	0.97	0.32
砂土+铬	无	无	无
红土+紫云英+铬	3.56	3.19	0.73
红土+稻草+铬	1.30	0.92	0.52
红土+铬	无	无	无
紫云英+铬	51.8	—	28.8
稻草+铬	35.1	22.5	15.0

而降低，例如，在有紫云英和稻草的中国土壤中，45 天的数量分别为 2 天的 16—22% 和 38—52%；意大利土壤中分别为 20—44% 和 23—40%。比较起来，紫云英在土壤中的分解速度较稻草为快，例如培养前期 (2 天) 紫云英的水溶性还原性物质的数量为稻草的 2.3—4.5 倍，后期 (45 天) 则为 1.4—1.8 倍。

如图 1 所示，在培养过程中，强度因素 Eh 的变化呈马鞍形。同时在 Eh 和水溶性还原性物质的数量之间的相关性显著，其 r 为 − 0.870*，与伏安法所得的结果相一致[5,6]。这说明水溶性还原性物质是控制土壤氧化还原电位的体系。

(二) 水溶性有机物质的还原能力

为了区别不同绿肥分解产物的还原能力，在所有处理中加入 Cr^{+6} 以作定性比较。

如表 3 所示，在有机物质的作用下，铬可被迅速还原，对于所有加绿肥的处理，平衡液中都出现 8—33ppm 数量不等的 Cr^{+3}[10-12]。看来，紫云英还原 Cr^{+6} 的能力较稻草者为强。例如在加紫云英的意大利砂土中培养的第 2 天即有近 33ppm 的 Cr^{+6} 还原成 Cr^{+3}，占加入量 50ppm Cr^{+6} 的 66%，而加稻草者仅占 42%。紫云英的这种较强的还原能力也表现在降低 Eh 的作用上，例如在培养前期，含紫云英体系的 Eh 可降至负值，而含稻草

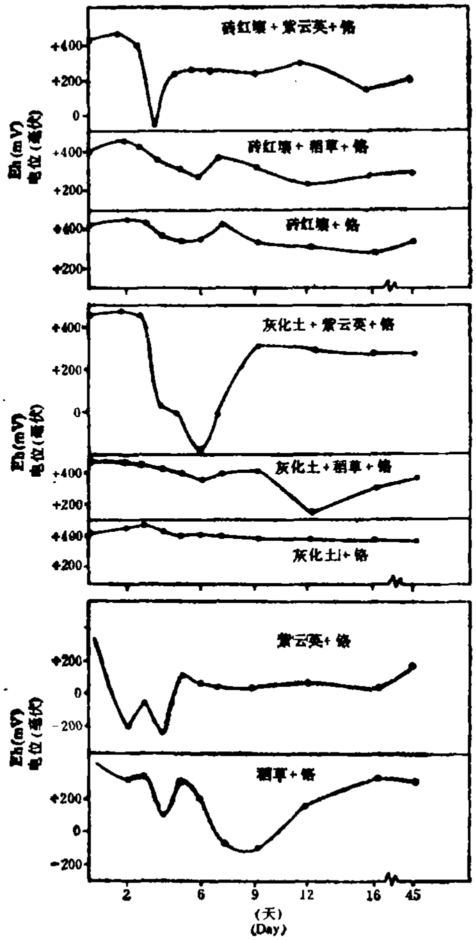

图 1　培养过程中绿肥和绿肥＋土体系的 Eh 的动态变化

Fig. 1　Dynamics of Eh for green manure and green manure-treated soil systems during incubation

体系的 Eh 值则在 200 毫伏以上。关于水溶性有机物质的还原能力，既与其浓度（数量），也与其所含组成的还原性有关，这是一个有待进一步研究的问题。从表 3 还可看出，在对照处理中，由于不存在有机物质，所以 Cr^{+6} 不被还原，但不同土壤对 Cr^{+6} 的吸附作用是不同的，其中中国红壤具有特别强的吸附能力，应予注意。

（三）水溶性有机物质的级分、表观分子量及其它某些性质

从图 2 可以看出，水溶性有机物质在培养过程中逐渐分解，由 2 天的 4 个峰减至 45 天的 2—3 个峰，即由四组物质减至二—三组，这个趋势与电化学方法区分还原性物质的结果一致[7,20]。由此也可见，水溶性有机物质为一类分子量各异的混合物，其表观分子量大部份在 500—1000，大于 200,000 者极少（根据 Bio-gel P100 和 P200 层析结果，未列出）。Okazaki, M. 等用 Diaflo 超滤膜也曾得到与此相似的结果[13]。低分子量的物质极易分解，表现在与其相应的峰高降低，甚至消失。

图 3 表明，在凝胶柱的酸侧和碱侧都出现数量不等的峰群，而每个峰即代表一种具有一定等电点的物质，说明水溶性有机物质为一类带不同电荷（净正电荷或净负电荷）和等

表3　不同绿肥分解产物的还原能力

Table 3　Reducing capacity of decomposition products for different green manures

处理 Treatments	培养液中的铬量 (ppm) Chromium in incubation solution		总量 (ppm) Total
	Cr^{+6}	Cr^{+3}	
黄棕壤＋紫云英＋铬	3.1	23.9	27
黄棕壤＋稻草＋铬	15	13	28
黄棕壤＋铬	37	0	37
第四纪红粘土＋紫云英＋铬	0	10	10
第四纪红粘土＋稻草＋铬	1.7	8.3	10
第四纪红粘土＋铬	3	0	3
砖红壤＋紫云英＋铬	0	17	17
砖红壤＋稻草＋铬	6	14	20
砖红壤＋铬	17	0	17
灰化土＋紫云英＋铬	0	25	25
灰化土＋稻草＋铬	15	12	27
灰化土＋铬	24	0	24
红土＋紫云英＋铬	16	9	25
红土＋稻草＋铬	—	—	—
红土＋铬	48	2	50
近海沉积性砂土＋紫云英＋铬	2.2	32.8	35
近海沉积性砂土＋稻草＋铬	15	21	36
近海沉积性砂土＋铬	37	0	37

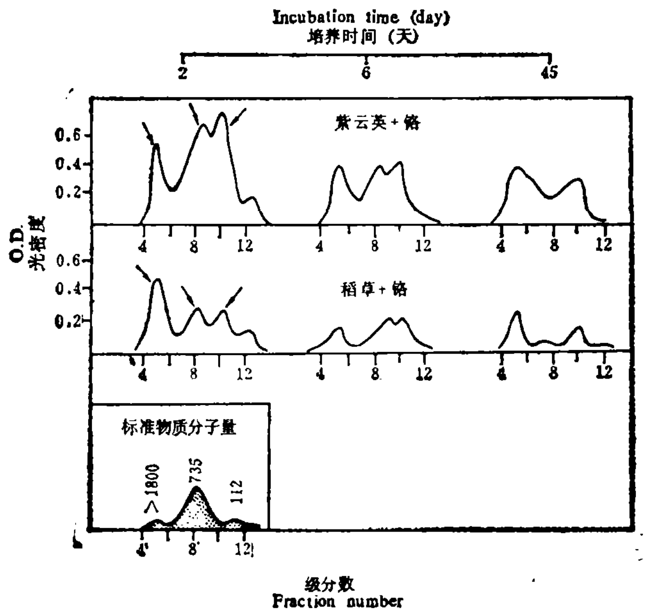

图2　培养过程中水溶性有机物质及其表观分子量的变化

Fig. 2　Changes of water-soluble organic substances and their apparent molecular weight during incubation

电点(3.5—9.5)的物质，随着培养时间的延长，峰群及其分布情况也随之而变，表明该类物质进一步分解或合成新的化合物。这种变化在绿肥-土壤体系中也有表现，如图4所示，在中国砖红壤加紫云英处理中，第2天在柱上6厘米处的等电点为4.5的物质(箭头指示者)，45天后则在6.5厘米处出现等电点为3.8的物质。对于加稻草的处理，第2天分布在7厘米处的等电点为3.5的物质，45天后则消失。某些物质(星号指示者)则变化较小。这些结果补充了电化学方法对还原性物质的区分[6,7]。

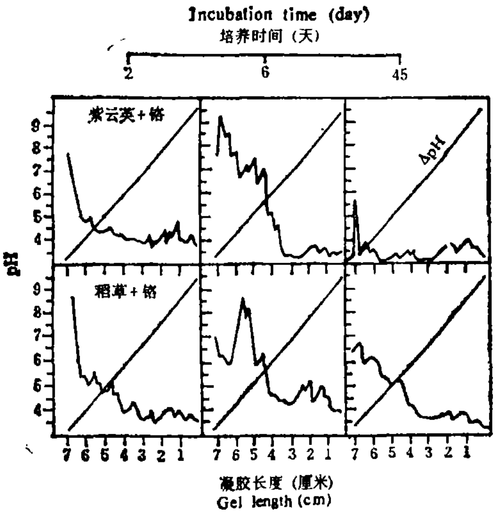

图3 培养过程中紫云英和稻草水溶性有机物质的等电聚焦

Fig. 3 Changes in isoelectric focusing of water-soluble organic substances for astragalus and rice straw during incubation

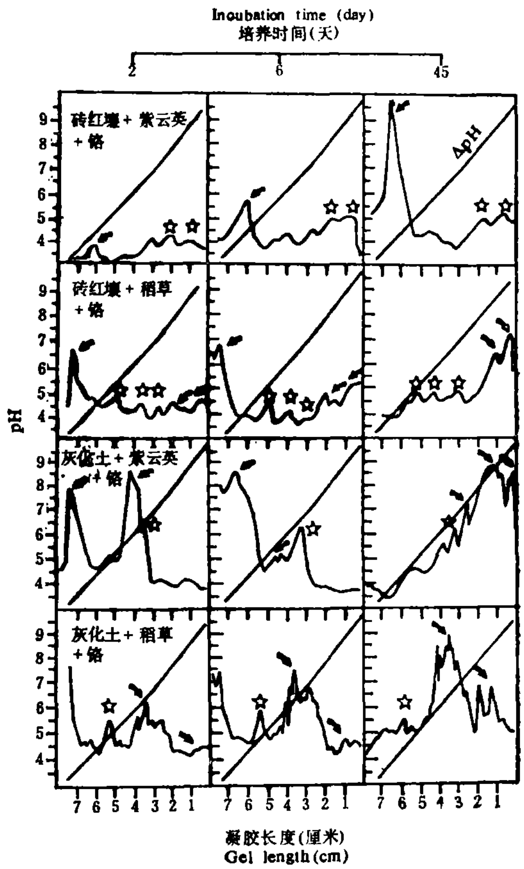

图4 紫云英+土和稻草+土体系中水溶性有机物质的等电聚焦

Fig. 4 Changes in isoelectric focusing of water-soluble organic substances in astragalus and rice straw treated soil systems

由图5看出，紫云英和稻草的水溶性有机物质在频率为1700和1650cm^{-1}左右处，都有明显的吸收峰，表明—COOH 和$-C\langle{}^{O}_{NH_2}$基团大量存在。这类基团可与铁、锰等金属离子形成稳定性常数不同的络合物[23]。

将凝胶渗出液置分光光度计上在波长为300—600nm内进行扫描观察。如图6所示，无论对于绿肥或土壤加绿肥处理都未发现明显的吸收带，其光密度随波长减小而增大，呈抛物线形。图中还显示，先后渗滤出来的三种级分的曲线互不相重，其 E_4/E_6 比(斜率)按下列次序递增 $5 < 8 < 10$，表征这三种物质的分子量按此次序减小。腐殖酸和富里酸也有类似现象，因此，似可认为水溶性有机物质与其有共同之处[3,8]。

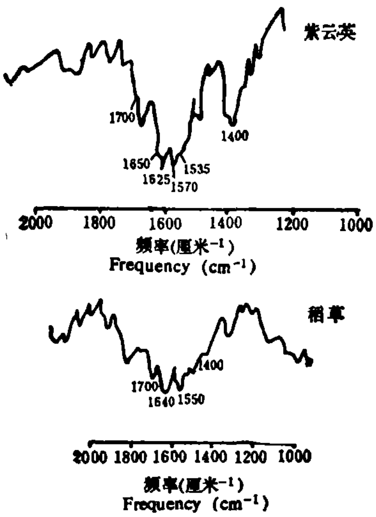

图5 紫云英和稻草水溶性有机物质的红外光谱

Fig. 5 Infrared spectra for water-soluble organic substances of astragalus and rice straw

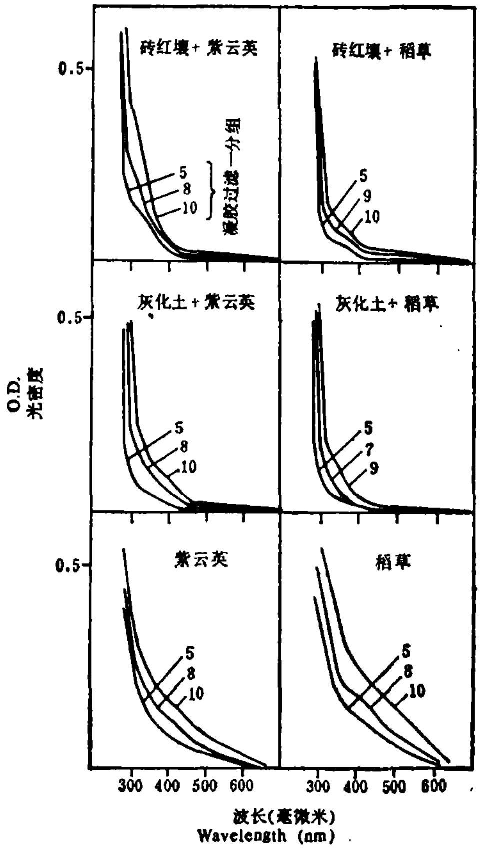

图6 凝胶色谱级分液的可见光谱

Fig. 6 Visible spectra of gel chromatographic fraction

参 考 文 献

[1] 丁昌璞，1984：水稻土中的还原性物质。土壤学进展，第2期，1—12 页。

[2] Bartlett R. J. and James B. R., 1979: Behavior of chromium in soils: III. Oxidation. J. Environ. Qual., 8: 31—35.

[3] Ceccanti B., Bertolucci M. T. and Nannipieri P., 1980: Characterization of soil organic matter and derivative fraction by isoelectric focusing. In: Anal. Chem. Symp. Ser. (3), Elsevier, Amsterdam, NL, pp. 75—81.

[4] Ceccanti B. and Nannipieri P. 1979: Concerning the reliability of the "isoelectric focusing" techniqui to separate the soil humic substances. In: Recent Dev. Chromatogr. Electroph. Chromatogr. Symp. Sci. (1). Elsevier Amsterdam, NL, pp. 225—232.

[5] C. P. Ding, Z. G. Liu and T. R. Yu, 1984: Oxidation-Reduction regimes in some Oxisol of Tropical China. Geoderma, 32: 287—295.

[6] Ding Chang-pu, Lui Zhi-guang, and Yu Tian-ren, 1982: Determination of reducing substances in soils by voltammetric method. Soil Sci., 134 (4): 252—257.

[7] Ding Chang-pu, Lui Zhi-guang, 1985 Reducing, substances. In: The Physical Chemistry of Paddy Soils, Science Press, Beijing.

[8] Ghosh K. and Schnitzer M., 1979: UV and visible absorption spectroscopic investigation in relation to macromolecular characteristics of humic substances. J. Soil Sci., 30: 735—745.

[9] Gotoh S. and Onikura Y., 1971: Organic acids in flooded soil receiving added rice straw and their effect on the growth of rice. Soil Sci. Plant Nutr., 17: 1—8.

[10] James B. R. and Bartlett R. J., 1983: Behavior of chromium in soils: V. Fate of organically complexed

Cr(III) added to soil. J. Environ., Qual., 8: 169—172.
[11] James B. R. and Bartlett R. J., 1983: Behavior of chromium in soils: VII. Adsorption and reduction of hexavalent forms. J. Environ. Qual., 8: 177—180.
[12] Kamada K. and Doki K., 1976: Movement of Cr in submerged soil and growth of rice plant. II. On the difference of reduction of Cr(VI) by two kinds of soil and the factors. Soil Sci. Plant Nutr., 22: 214.
[13] Okazaki M., Wada H. and Takai Y., 1981: Reducing organic substances responsible for removal of Fe (III) and Mn (IV) from subsurface horizon of lowland rice soil. In: Proc. Symp. Paddy Soil, Science Press, Beijing, pp. 235—250.
[14] Patrick Z. A., 1971: Phytotoxic substances associated with the decomposition in soil of plant residues. Soil Sci., 111: 13—18.
[15] Ponnamperuma F. N., 1972: The chemistry of submerged soils. Adv. in Agronomy, 24: 29—96.
[16] Ponnamperuma F. N., 1981: Some aspects of physical chemistry of paddy soils. Proc. Symp. Paddy Soils, Science Press, Beijing, pp. 59—94.
[17] Stevenson F. J., 1967: Organic acids in soils. In: Soil Biochemistry, A. D. Mclaren and G. H. Peterson (eds.) Vol. 1, pp. 119—146, Marcel Dekker, N. Y..
[18] Wallace J. M. and Elliott L. F., 1979: Phytotoxins from anaerobically decomposing wheat straw. Soil Biol. Biochem., 11: 325—330.
[19] Wang T. S. C., Cheng S. Y. and Tung H., 1967: Dynamics of soil organic acids. Soil Sci., 104: 138—144.
[20] Yu T. R., 1981: Oxidation-reduction properties of paddy soils. In: Proc. Symp. Paddy Soil, Science Press, Beijing, pp. 95—106.
[21] Yu T. R., 1983: Physicochemical equilibria of redox systems in paddy soils. Soil Sci., 135: 26—30.
[22] Yu T. R. (Editor), 1985: The Physical Chemistry of Paddy Soils. Science Press, Beijing.
[23] Xui-ming Bao, Chang-pu Ding and Tian-ren Yu, 1983: Stability constants of Mn(II)-complexes in soils as determined by a voltammetric method. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk., 146: 285—294.

AMOUNTS, PROPERTIES AND CHANGES OF WATER-SOLUBLE ORGANIC SUBSTANCES IN SOILS

Ding Changpu
(Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing)

Ceccanti B.
(Institute of Soil Chemistry, C. N. R., Italy)

Summary

The amount of water-soluble organic substances varied with the kinds of green manure, soil types and incubation time.

The water-soluble organic substances of decomposition products of green manure were the substances with lower molecular weight, different charges (positive and negative) and isoelectric points, containing carboxyl and amino groups. Some of these properties changed with time duration of incubation.

These organic substances were the products derived from the interaction between organic and inorganic constituents (chiefly iron oxides) of soil. In the soils rich in organic matter, these substances could determine the redox potential of the system where they existed, and there was a good negative correlation between them.

The appearance of Cr^{+3} resulted from the influence of organic substances (as the source of electron) on Cr^{+6}. The reducing capacity of such decomposition products for astragalus was stronger than that for rice straw.