

## 不同碳氮比物料有机肥中腐殖酸含量、 化学组成与结构特征研究

吴峰<sup>1</sup>, 薛骅<sup>2</sup>, 何楷<sup>3</sup>, 江玉平<sup>2</sup>, 孙建生<sup>1</sup>, 张纪利<sup>1</sup>, 李群岭<sup>1</sup>, 李章海<sup>2\*</sup>

(1. 广西中烟工业有限责任公司, 南宁 530001; 2. 中国科学技术大学烟草与健康研究中心, 合肥 230052;  
3. 遵义市烟草公司正安县分公司, 正安 563401)

**摘要:** 采用重铬酸钾容量法、元素分析、傅立叶变换红外光谱和固体 <sup>13</sup>C 核磁共振技术对不同碳氮比物料有机肥中腐殖酸含量、化学组成和结构特征进行了初步研究。结果表明, 4 种不同碳氮比物料配方有机肥中腐殖酸主要为游离腐殖酸, 占 98% 以上; 随着碳氮比提高, 总腐殖酸和游离腐殖酸含量增加, 水溶性腐殖酸降低, 但碳氮比 25~30:1 之间差异很小。4 种有机肥腐殖酸主要由 C、H、O、N 等元素组成; 其结构都主要由脂肪碳、含氧脂肪碳、芳香碳和羧基碳、羰基碳等组成。不同碳氮比物料配方有机肥中腐殖酸在官能团上存在差别, 20:1 有机肥中碳水化合物(或多糖)和羧酸等含氧基团要明显多于其他比例有机肥。

**关键词:** 腐殖酸; 组成; 结构; 元素分析; 红外光谱; <sup>13</sup>C 核磁共振

中图分类号: S141.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2014)04-0675-04

### Carbon-nitrogen ratio in organic fertilizer materials is related to the content, chemical composition and structure characteristics of humic acid

WU Feng<sup>1</sup>, XUE Huaqin<sup>2</sup>, HE Kai<sup>3</sup>, JIANG Yuping<sup>2</sup>, SUN Jiansheng<sup>1</sup>, ZHANG Jili<sup>1</sup>, LI Qunling<sup>1</sup>, LI Zhanghai<sup>2</sup>

(1. China Tobacco Guangxi Industrial Co., Ltd., Nanning 530001;

2. Research Center of Tobacco and Health, University of Science and Technology of China, Hefei 230052;

3. Zheng'an Branch of Zunyi Tobacco Company, Zheng'an 563401)

**Abstract:** The content, chemical composition, and structure characteristics of the humic acid in organic fertilizers with different C/N materials were analyzed using potassium dichromate volumetric method, elemental analysis, Fourier transform infrared spectroscopy and solid state <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance technology. The humic acid in the organic fertilizer containing four different C/N materials is mainly composed of free humic acid that accounted for more than 98%. The content of total humic acid and free humic acid increased and water soluble humic acid reduced with an increase of C/N ratio and such a change was not significant when C/N ratio was in the range of 25 - 30:1. C, H, O, N and other elements were the main components in the humic acid in the four organic fertilizers. The humic acid structure is mainly constituted of aliphatic carbon, oxygen containing aliphatic, aromatic carbon and carboxyl carbon, carbonyl carbon etc. Differences in functional groups in different C/N organic fertilizers were observed. The organic fertilizer with a carbon-nitrogen ratio of 20:1 contained more carbohydrates (or polysaccharide) and carboxylic oxygen than other organic fertilizers with different carbon-nitrogen ratios.

**Key words:** humic acid; composition; structure; element analysis; infrared spectrum; <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance

腐殖酸又称胡敏酸、腐里酸, 是有机物在腐殖化过程中生成的次生产物<sup>[1]</sup>。腐殖酸在堆肥过程中

的变化更能反映堆肥的腐殖化过程, 因此把腐殖酸作为评价堆肥腐熟过程的一个有效指标<sup>[2]</sup>。与长期

收稿日期: 2013-10-14

基金项目: 贵州省烟草公司遵义市公司科技项目(2011-10)资助。

作者简介: 吴峰, 农艺师。E-mail: wufeng3131@126.com

\* 通信作者: 李章海, 副教授。E-mail: lzhai@ustc.edu.cn

腐化土壤相比,土壤中的腐殖酸较为“成熟”,而堆肥中的腐殖酸则相对“稚嫩”,堆肥腐殖化水平较低,堆肥腐殖酸的氧化程度及其功能基团的酸势值较低,但含有较高的脂肪族化合物、含氮化合物等<sup>[3-5]</sup>。随着环保意识的增强,国内许多专家、学者针对堆肥过程中腐殖酸组成、生成演化展开大量研究<sup>[6-9]</sup>,但多集中于腐殖酸含量变化分析上,对形成机制及结构特征的研究不够深入,特别是采用<sup>13</sup>C固体核磁共振技术分析堆肥腐殖酸结构的研究少见报道。不同原料在堆肥过程中生成的腐殖酸在含量、结构特性等都存在一定差异,适宜的物料C/N是堆肥发酵腐熟的关键条件,一般认为C/N在20~30之间发酵效果最好<sup>[10]</sup>。

近年来,广西中烟正安基地利用当地废弃资源开展烤烟专用有机肥集中堆制取得良好效果。在此基础上,作者对基地所产的4种不同碳氮比物料配方有机肥进行腐殖酸含量、化学组成与结构特征研究,为烤烟专用有机肥生产确定适宜C/N提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 有机肥制作与样品采集

试验于2013年在贵州省遵义市正安县谢坝乡有机肥研发工场进行。4种有机肥的发酵物料碳氮比分别为20:1、25:1、30:1和35:1,分别记为A、B、C和D。原料用量见表1,其中,玉米秸秆含C量为46.31%、含N量为0.53%,牛粪(风干)含C量为34.16%、含N量为1.78%,用尿素补足物料含N量。发酵堆垛宽约180cm,上宽约90cm,高度约90cm,条垛底部中间设宽度20cm、深度10cm的通风槽。按物料体积分层堆积成条垛,共

分5层,在每层之间洒上发酵菌剂(青岛天地缘生物技术开发有限公司生产,众和·有机物料腐熟剂,用量200g/1000kg湿物料)和尿素,并与物料拌匀。每个试验处理物料总干重为1000kg,堆积时将物料水分调控在65%左右,分别在堆制10d、30d和50d左右进行翻堆3次,发酵时间为120d。

4个处理采用长条垛型有氧堆积发酵,不设重复。发酵结束后利用五点取样法采集各处理充分发酵有机肥3kg,充分拌匀后利用四分法取样1kg用于检测。

### 1.2 腐殖酸的分离

(1)分别称取30g样品,用1mol·L<sup>-1</sup>HCl调pH值到1~2,加入0.1mol·L<sup>-1</sup>HCl使最后的液/固比为10:1(10mL:1g)。在室温下,振荡1h,离心分离,弃去上层溶液。

(2)然后在N<sub>2</sub>保护下,用1mol·L<sup>-1</sup>NaOH中和样品残余物到pH7.0,加入0.1mol·L<sup>-1</sup>NaOH至液/固比为10:1。搅拌12h,静置12h。离心分离出上层溶液,转移到大的玻璃瓶中。重复本步操作,直至上层溶液变为浅黄色。

(3)在不断搅拌下,将分离出的上层溶液用6mol·L<sup>-1</sup>HCl调节pH1.0,静置15~16h。离心分离,沉淀物即为腐殖酸。

(4)在N<sub>2</sub>保护下,加入最少量的0.1mol·L<sup>-1</sup>KOH溶解腐殖酸,并添加固体KCl使[K<sup>+</sup>]为0.3mol·L<sup>-1</sup>,该处理将使悬浮的胶体物质絮凝,高速离心去除悬浮絮凝物,然后再用6mol·L<sup>-1</sup>HCl调腐殖酸溶液pH为1.0,静置15~16h,随后在塑料容器中用0.1mol·L<sup>-1</sup>HCl与0.3mol·L<sup>-1</sup>HF混合溶液浸泡去除矿物质,在室温下震荡过夜,离心分离出腐殖酸沉淀。最后样品冷冻干燥,得到固体腐殖酸样品。

表1 不同碳氮比有机肥原料组成(按每t计量)

Table 1 Composition of organic fertilizer materials in different C/N ratios(per ton)

碳氮比 C/N ratio	20/1	25/1	30/1	35/1
玉米秆(kg干重) Corn stalk (kg dry weight)	500	600	700	800
牛粪(kg干重) Cow dung (kg dry weight)	500	400	300	200

### 1.3 测试方法

**1.3.1 腐殖酸含量<sup>[11]</sup>** 总腐殖酸采用焦磷酸钠浸提-重铬酸钾容量法,游离腐殖酸采用氢氧化钠浸提-重铬酸钾容量法,水溶性殖酸采用水浸提-重铬酸钾容量法。

**1.3.2 元素分析** 腐殖酸样品的C、H、N、O元素分析,采用德国Elementar公司Vario EL CHNS元素分析仪测定。

**1.3.3 傅立叶变换红外分析** 将1mg研磨均匀的腐殖酸样品与60mg光谱纯KBr混合压片,在Perkin-Elmer 1725 X型傅立叶变换红外光谱仪上测定。

**1.3.4 固体<sup>13</sup>C核磁共振分析** 将约50mg的固体样品装入直径4mm、配有Kel-F塞子的ZrO<sub>2</sub>转子中,在Bruker DRX-400型核磁共振仪上测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理腐殖酸含量

由表 2 可见, 同一样品总腐殖酸和游离腐殖酸含量差异很小, A、B、D、C 处理游离腐殖酸占总腐殖酸的百分比分别为 99.88%、99.89%、99.95% 和 98.21%, 说明正安自制有机肥腐殖酸主要为游离腐殖酸。不同样品总腐殖酸和游离腐殖酸含量

D>B>C>A, 但 B 与 C 总腐殖酸和游离腐殖酸含量非常接近。水溶性腐殖酸占总腐殖酸的百分比分别为 14.86%、13.20%、13.21% 和 12.13%, 水溶性腐殖酸含量 A>B>C>D, B 与 C 水溶性腐殖酸含量非常接近。可见, 随着碳氮比增大, 总腐殖酸及游离腐殖酸含量呈递增趋势, 而水溶性腐殖酸含量呈降低趋势。

表 2 样品腐殖酸含量  
Table 2 Humic acid contents in samples

样品 Sample	总腐殖酸 Total humic acid	游离腐殖酸 Free humic acid	水溶性腐殖酸 Water soluble humic acid
A	34.72	34.68	5.16
B	37.36	37.32	4.93
C	37.25	37.23	4.92
D	39.73	39.02	4.82

表 3 样品的元素特征  
Table 3 Element characteristics in samples

样品 Sample	元素含量/% Element content				原子比 Atomic ratio		
	C	H	O	N	O/C	H/C	(N+O)/C
A	35.14	4.31	27.05	3.42	0.577	1.472	0.347
B	45.79	5.35	31.32	4.65	0.512	1.402	0.314
C	42.17	5.06	31.50	4.17	0.560	1.440	0.338
D	41.23	4.98	28.79	4.70	0.523	1.449	0.325

### 2.2 不同处理元素组成特征

表 3 为 4 种样品元素组成, 其中碳含量为 35.14%~45.79%, 大小为 B>C>D>A。H 含量为 4.31%~5.35%, 表现为 B>C>D>A。O 含量为 27.05%~31.50%, 表现为 C>B>D>A。N 含量为 3.42%~4.70%, 表现为 D>B>C>A。表明 4 种腐殖酸虽然都是由 C、H、O、N 等元素组成, 但每种元素的量是有差别的。

通常样品的元素原子比可以用来描述不同环境中腐殖酸的性质和结构的差异。对比 4 种样品的 O/C 原子比可以看出, 处理间表现为 A>C>D>B, A 组最高, 即含有最多的碳水化合物(或多糖)和羧酸等含氧基团。极性指标(N+O)/C 比值为 0.314~0.347, 反映了不同腐殖酸之间极性的差异, 处理间表现为 A>C>D>B。

### 2.3 傅里叶变换红外光谱分析

用 Origin 绘制出 4 种腐殖酸样品的傅立叶变换红外光谱图。由图 1 可以看出, 不同腐殖酸样品表现出非常相似的红外光谱特征: 3500~2500  $\text{cm}^{-1}$  处强而宽的缔合—OH 伸缩振动吸收; 3000~2800  $\text{cm}^{-1}$  的脂肪 C—H 伸缩振动吸收; 1710  $\text{cm}^{-1}$  处的羧

基和羰基官能团的 C=O 伸缩振动吸收; 1630  $\text{cm}^{-1}$  处包括芳环的骨架振动 C=C 吸收, H 键缔和 C=O 吸收和酰胺键等相互叠加吸收峰; 1400  $\text{cm}^{-1}$  处包括醇或羧酸类的 O—H 弯曲振动和酚类的 C—O 伸缩振动峰; 1250  $\text{cm}^{-1}$  处主要为羧酸官能团的 C—O 伸缩振动和 O—H 的变形振动; 以及 1050  $\text{cm}^{-1}$  处可以归属为 O—H 伸缩振动。这些相似的 IR 光谱特征都表明了不同碳氮比原料堆制的有机肥的腐殖酸分子具有类似的结构组成和官能团信息。

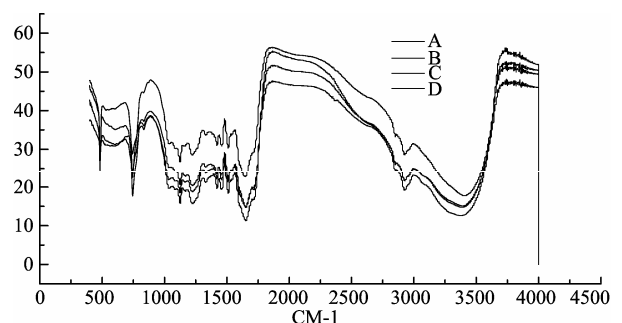


图 1 样品的红外光谱

Figure 1 Infrared spectra of the samples

尽管如此,但仔细对照4种腐殖酸样品的红外谱图可以发现,彼此之间都存在一定的差异:样品A在 $2930\text{ cm}^{-1}$ 的吸收峰较强,而B、C较弱,D最弱,表明在A中含有更多的脂肪碳链结构,而其他样品中则较少。与之类似的,在 $1710\text{ cm}^{-1}$ 处,A的吸收较强,表明了此种腐殖酸中含有较多的羧基和羰基官能团。从几个吸收峰我们可以看出,样品A的羧基、羰基等官能团都要明显高于其他3组样品;对比 $1400\text{ cm}^{-1}$ 和 $1250\text{ cm}^{-1}$ 两处的峰,可以看出样品B呈现较弱的吸收强度,表明B中含有最少的含氧官能团。

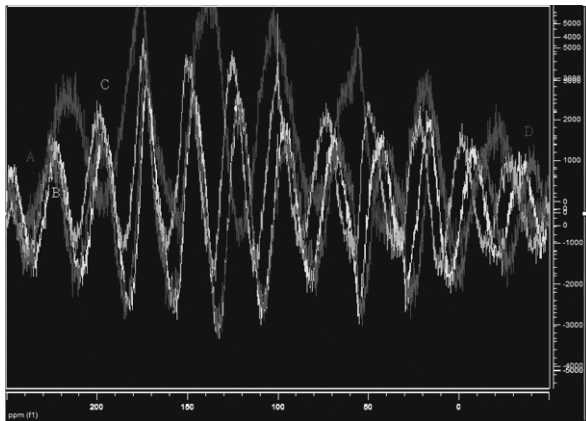


图2 样品的 $^{13}\text{C}$ 核磁共振谱

Figure 2  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of the samples

#### 2.4 $^{13}\text{C}$ 核磁共振分析

用Mestrec软件绘制出4种腐殖酸样品的 $^{13}\text{C}$ 核磁共振谱图,结果见图2。

从图2可看出4种腐殖酸的 $^{13}\text{C}$ 信号基本覆盖了 $\delta 0\sim 230$ 化学位移的有机物区域,其中碳峰主要集中于 $\delta 50\sim 160$ 范围中。4种腐殖酸都在 $\delta 170$ 处显示出羧基特征峰, $\delta 130$ 处有芳环特征峰及低位移处( $\delta 0\sim 30$ )的脂类烷基峰,与2.3中结论相同。

### 3 小结与讨论

4种碳氮比原料有机肥中腐殖酸含量表现为 $D>B>C>A$ ,碳氮比 $25\sim 30:1$ 之间差异很小,腐殖酸中游离腐殖酸均占98%以上。可见,物料C/N为 $20\sim 35:1$ 时,腐殖酸含量均相对较高,且腐殖酸含量随C/N增大(秸秆比例提高)而提高。这与MeGaughy与Gotaas<sup>[11]</sup>研究结果相似。

4种样品腐殖酸在化学组成和结构具有很多类似之处。主要由C、H、O、N等元素组成,其结构都主要由脂肪碳、含氧脂肪碳、芳香碳和羧基碳、羰基碳等组成,这与Camitelli等研究结果相同<sup>[4]</sup>。不同碳氮比原料堆制的有机肥腐殖酸在官能团上还

是有差别,以20:1物料配比有机肥中碳水化合物(或多糖)、羧酸等含氧基团和脂肪碳链结构要明显多于其他配比。这是否与20:1物料配比中牛粪比例相对较高有关,有待作进一步研究。

堆肥物料腐殖化是一个缓慢的过程,腐殖酸的生成和变动受到堆肥时间、物料成分、堆置工艺等因素的影响<sup>[1]</sup>。试验中,以牛粪和玉米秸秆作为主要物料来源,C/N比在 $20\sim 35:1$ 范围内,所生产的有机肥产品指标控制均符合有机肥标准(NY525-2012)要求。因此在实际生产中,应根据产区牛粪和玉米秸秆资源差异,灵活选择物料配比,一般应以 $20\sim 25:1$ 为宜,以获得最佳经济、社会效益。

#### 参考文献:

- [1] 唐景春,孙青,王如刚,等.堆肥过程中腐殖酸的生成演化及应用研究进展[J].环境污染与防治,2010,32(5):73-77,88.
- [2] Senesin N, Plaza C. Role of humification process in recycling organic wastes of various nature and sources as soil amendments[J]. Clean-Soil, Air, Water, 2007, 35(1): 26-41.
- [3] Kawaski S, Maie N, Watanabe A. Composition of humic acids with respect to the degree of mummification in cultivated soils with and without manure application as assessed by fractional precipitation [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2008, 54(1): 57-61.
- [4] Camitelli P, Ceppi S. Effects of composting technologies on the chemical and physicochemical properties of humic acids [J]. Geoderma, 2008, 144(1/2): 325-333.
- [5] Quagliotto L, Montoneri E, Tambone F, et al. Chemicals from wastes: compost derived humic acid like matter as surfactant [J]. Environment Science & Technology, 2006, 40(5): 1686-1692.
- [6] 王玉军, 窦森, 张晋京, 等. 农业废弃物堆肥过程中腐殖质组成变化[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(8): 79-81.
- [7] 唐景春, 孙青, 王如刚, 等. 堆肥过程中腐殖酸的生成演化及应用研究进展[J]. 环境污染与防治, 2010, 32(5): 73-77; 88.
- [8] 熊雄, 李艳霞, 韩杰, 等. 堆肥腐殖质的形成和变化及其对重金属有效性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6): 2137-2142.
- [9] 单德臣, 张多英, 王帅, 等. 牛粪堆肥腐殖质的动态变化研究[J]. 污染防治技术, 2010, 23(3): 11-14, 67.
- [10] 魏源送, 王敏健, 王菊思. 堆肥技术及进展[J]. 环境科学进展, 1999, 7(3): 11-23.
- [11] 中国土壤学会农业化学专业委员会. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [12] EPA. Composting yard trimmings and municipal solid waste[M]. US: Diane Publishing, 1994.