



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105606429 A

(43) 申请公布日 2016. 05. 25

(21) 申请号 201510976084. 7

(22) 申请日 2015. 12. 23

(71) 申请人 中国科学院地球化学研究所

地址 550000 贵州省贵阳市观山湖区林城西路 99 号

(72) 发明人 邸欣月 肖保华 安显金 董慧

汤海明 夏雪敏 苏献伟

(74) 专利代理机构 嘉兴启帆专利代理事务所

(普通合伙) 33253

代理人 李伊颀

(51) Int. Cl.

G01N 1/34(2006. 01)

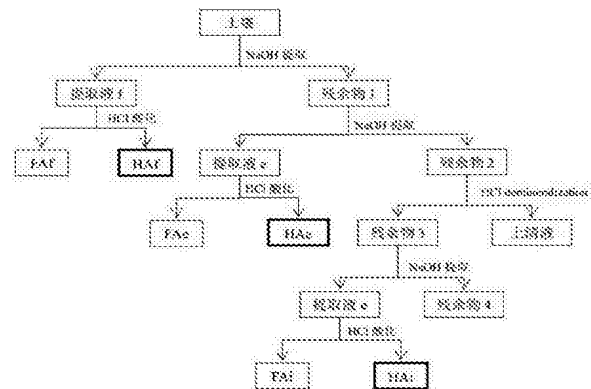
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54) 发明名称

从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法,包括三个步骤:a. 游离胡敏酸 HAF 的提取:将研磨后的土样反复用 NaOH 溶液进行提取至提取液接近无色;合并提取液,用 HCl 溶液调 pH 约至 1.0,静置分层,该沉淀即为 HAF;b. 包裹胡敏酸 HAE 的提取:取上述步骤 a 中 NaOH 溶液无法提取的烘干残余物,磨样并过 2mm 的筛;再次用 NaOH 溶液进行提取,提取方法与上述游离胡敏酸 HAF 提取相似;得到 HAE;c. 结合胡敏酸 HAI 的提取:取上述步骤 b 中 NaOH 溶液无法提取的烘干残余物,磨样并过 2mm 的筛,加入 HCl 溶液除盐;然后再次用 NaOH 溶液进行提取,得到 HAI。本发明采用的试剂和实验仪器较少,易操作,提取效率和纯度较高;在一定程度上可反映土壤抗扰动能力的强弱。



1. 从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法, 其特征在于, 所述提取方法主要以下包括三个步骤:

a. 游离胡敏酸HAF的提取: 将研磨后的土样置于离心瓶中, 加入浓度为0.5 mol/L的NaOH溶液, 在N<sub>2</sub>保护下搅拌约1min; 静置约30s后, 再将离心瓶及样品放入摇床中摇晃; 离心分离, 并收集上清液; 如此反复用NaOH溶液进行提取, 至NaOH提取液接近无色; 合并提取液, 用HCl溶液调pH约至1.0, 静置分层; 将沉淀与上清液分离, 该沉淀即为游离胡敏酸HAF; 将上述步骤中NaOH溶液无法提取的残余物放入烘箱中65 °C烘干;

b. 包裹胡敏酸HAe的提取: 取上述步骤a中NaOH溶液无法提取的烘干残余物, 磨样并过2mm的筛; 再次用NaOH溶液进行提取, 提取方法与上述游离胡敏酸HAF提取相似; 提取至提取液颜色接近无色时, 再次烘干-磨样-提取, 至首次NaOH提取的提取液接近无色; 合并所有提取液, 用HCl溶液调pH约至1.0, 静置分层; 将沉淀与上清液分离, 该沉淀即为包裹胡敏酸HAe; 将上述步骤中NaOH溶液无法提取的残余物放入烘箱中65 °C烘干;

c. 结合胡敏酸HAI的提取: 取上述步骤b中NaOH溶液无法提取的烘干残余物, 磨样并过2mm的筛, 放入离心瓶中; 向离心瓶中加入HCl溶液, 于60 °C下加热20h; 离心分离, 去除上清液, 留沉淀; 再用HCl溶液重复处理一次, 沉淀用milli Q水清洗4次, 65 °C下烘干; 然后再次用NaOH溶液进行提取, 提取步骤与上述包裹胡敏酸HAe的提取相似; 合并所有的提取液, 用HCl溶液调pH约至1.0, 静置分层; 将沉淀与上清液分离, 该沉淀即为结合胡敏酸HAI。

2. 根据权利要求1所述的从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法, 其特征在于: 所述步骤a中, 摇床的转速为115 rpm, 摇晃时间为4h; 离心分离的转速为3600 rpm, 离心时间为10 min。

3. 根据权利要求1所述的从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法, 其特征在于: 所述步骤a、b、c中, 用于调节PH值的HCl溶液的浓度为6 mol/L; 所述步骤c中, 用于残余物除盐处理的HCl溶液的浓度也为6 mol/L。

4. 根据权利要求1所述的从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法, 其特征在于: 所述步骤a、b、c中, 得到的三种不同保存形式的胡敏酸均分别再进行进一步的纯化处理, 去除粘粒物质。

## 从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及胡敏酸的提取方法,更具体地说涉及一种从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法。

### 背景技术

[0002] 土壤有机质的保存十分复杂,研究者认为影响土壤有机质(SOM)稳定的因素主要有难降解性、相互作用以及可利用性。Skru11等将土壤有机碳的机理概括为生物化学难降解性以及物理保护作用(包括物理化学稳定性以及团聚体的形成)。von Lutzow等认为土壤有机质的保存机理为选择性保存、空间不可利用性以及与矿质表面的相互作用。与SOM类似,土壤胡敏酸作为SOM中的重要组分,在土壤中也有不同的保存形式。但对土壤胡敏酸的研究大多是单一提取剂提取单次,或者提取多次。这样的萃取方法可能只能从土壤中萃取出单一保存形式的胡敏酸。例如国际腐殖质协会推荐的提取剂氢氧化钠,对土壤的胡敏酸的萃取能力有限,可能只能提取氢键结合以及与氧化物表面络合的有机质,而与氧化物结合以及与粘土矿物产生阳离子键桥的可萃取腐殖质可能无法被提取出来。

### 发明内容

[0003] 为了弥补现有技术的不足,本发明目的是提供一种从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法。

[0004] 本发明解决技术问题所采用的技术方案是:从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法,所述提取方法主要以下包括三个步骤:

a. 游离胡敏酸HAf的提取:将研磨后的土样置于离心瓶中,加入浓度为0.5 mol/L的NaOH溶液,在N<sub>2</sub>保护下搅拌约1min;搅拌结束后静置约30s,再将离心瓶及样品放入摇床中摇晃;离心分离,并收集上清液;如此反复用NaOH溶液进行提取,至NaOH提取液接近无色;合并提取液,用HCl溶液调pH约至1.0,静置分层;将沉淀与上清液分离,该沉淀即为游离胡敏酸HAf;将上述步骤中NaOH溶液无法提取的残余物放入烘箱中65℃烘干;

b. 包裹胡敏酸HAe的提取:取上述步骤a中NaOH溶液无法提取的烘干残余物,磨样并过2mm的筛;再次用NaOH溶液进行提取,提取方法与上述游离胡敏酸HAf提取相似;提取至提取液颜色接近无色时,再次烘干-磨样-提取,至首次NaOH提取的提取液接近无色;合并所有提取液,用HCl溶液调pH约至1.0,静置分层;将沉淀与上清液分离,该沉淀即为包裹胡敏酸HAe;将上述步骤中NaOH溶液无法提取的残余物放入烘箱中65℃烘干;

c. 结合胡敏酸HAi的提取:取上述步骤b中NaOH溶液无法提取的烘干残余物,磨样并过2mm的筛,放入离心瓶中;向离心瓶中加入HCl溶液,于60℃下加热20h;离心分离,去除上清液,留沉淀;再用HCl溶液重复处理一次,沉淀用milli Q水清洗4次,65℃下烘干;然后再次用NaOH溶液进行提取,提取步骤与上述包裹胡敏酸HAe的提取相似;合并所有的提取液,用HCl溶液调pH约至1.0,静置分层;将沉淀与上清液分离,该沉淀即为结合胡敏酸HAi。

[0005] 进一步地,所述步骤a中,摇床的转速为115 rpm,摇晃时间为4h;离心分离的转速

为3600 rpm,离心时间为10 min。

[0006] 进一步地,所述步骤a、b、c中,用于调节PH值的HCl溶液的浓度为6 mol/L;所述步骤c中,用于残余物除盐处理的HCl溶液的浓度也为6 mol/L。

[0007] 进一步地,所述步骤a、b、c中,得到的三种不同保存形式的胡敏酸均分别再进行进一步的纯化处理,去除粘粒物质。

[0008] 对提取的上述三种不同形式的胡敏酸进行元素分析,结果显示三种胡敏酸的元素组成差异显著,游离胡敏酸碳含量最低,结合胡敏酸碳含量最高,说明土壤中确实存在三种不同形式的胡敏酸。测试的所有土壤均可分离出相对比例不同的三种胡敏酸组分,大多数土壤三种保存形式的胡敏酸的量按照游离胡敏酸,包裹胡敏酸和结合胡敏酸的顺序显著减少;但部分土壤包裹胡敏酸含量相对较高,甚至与游离胡敏酸相似。

[0009] 该分析方法所用试剂(NaOH、HCl)少,实验仪器简单(离心机、烘箱、水浴、摇床),大多实验室均可进行操作。三种不同保存形式的胡敏酸分别在不同的土壤扰动下释放,当土壤物理结构遭到破坏时可能释放HAe;当土壤处于酸雨等矿物淋溶环境时可能释放HAi。利用该技术分离的三种胡敏酸的C/N原子比分别约为HAf(12)、HAe(18)和HAi(30),说明三种胡敏酸的对微生物的敏感性逐步增加,因此当土壤受到扰动而释放HAe和HAi时,易于被微生物分解利用。鉴于土壤胡敏酸对稳定土壤结构具有重要的作用,利用该分离技术对土壤三种保存形式的胡敏酸的含量及相对分布进行研究,在一定程度上可反映土壤抗扰动能力的强弱。

[0010] 本发明的有益效果是:与现有技术相比,本发明提供的连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法利用物理和化学破坏土壤结构的简单技术,从土壤中连续提取了三种不同保存形式的胡敏酸,该方法采用的试剂和实验仪器较少,易操作,提取效率和纯度较高;通过对土壤三种保存形式的胡敏酸的含量及相对分布进行研究,在一定程度上可反映土壤抗扰动能力的强弱。

## 附图说明

[0011] 图1为本发明提供的连续提取三种不同保存形式胡敏酸的示意图。

## 具体实施方式

[0012] 下面结合附图和具体实施方式,进一步阐明本发明,应理解下述具体实施方式仅用于说明本发明而不用于限制本发明的范围。

## 实施例

[0013] 从土壤中连续提取三种不同保存形式胡敏酸的方法,所述提取方法主要以下包括三个步骤:

a. 游离胡敏酸HAf的提取:称取100 g研磨后的土样放入750 mL的离心瓶中,加入配置好的400 mL 0.5 mol/L的NaOH溶液;在N<sub>2</sub>保护下玻璃棒搅拌约1 min(N<sub>2</sub>的出气口通入到样品浊液的液面以下);搅拌结束后将N<sub>2</sub>的出气口放到液面上端,静置约30 s;将离心瓶及样品放入摇床中,115 rpm摇晃4 h;将离心瓶放入离心机中3600 rpm离心10 min,分离上清液,暂存于收集瓶中;反复用NaOH溶液进行提取,至NaOH提取液颜色几乎无色(提取次数与

样品有关);所有的提取液合并为一个样品,加6 mol/L的HCl溶液调pH约至1.0,静置一段时间;将沉淀与上清液分离,必要时离心分离;该沉淀即为游离胡敏酸Haf;离心瓶及其中NaOH无法提取的残余物放入烘箱中65 °C烘干。

[0014] b. 包裹胡敏酸HAe的提取:取上步NaOH无法提取的烘干残余物,磨样并过2 mm的筛;再次用NaOH溶液进行提取,提取方法与游离胡敏酸Haf提取相似,提取至提取液颜色很浅时,再次烘干-磨样-提取,至首次NaOH提取的提取液几乎无色。该步骤中所有提取液合并为一个样品,提取液中加6 mol/L的HCl溶液调pH约至1.0,静置一段时间;将沉淀与上清液分离,必要时离心分离;沉淀即为包裹胡敏酸HAe;离心瓶及其中NaOH无法提取的残余物放入烘箱中65 °C烘干。

[0015] c. 结合胡敏酸HAi的提取:取上步NaOH无法提取的烘干残余物,磨样并过2 mm的筛,再次放入同一离心瓶中;向离心瓶中加入6 mol/L的HCl溶液200 mL,于水浴锅中60 °C加热20 h;离心瓶放入离心机中3600 rpm离心10min,去除上清液,留沉淀;6 mol/L的HCl溶液处理重复一次,沉淀用milli Q水清洗4次,65 °C烘干。再次用NaOH溶液进行提取,提取步骤与包裹胡敏酸HAe相似。该步骤所有的提取液合并为一个样品,向提取液中加6 mol/L的HCl溶液调pH约至1.0,静置一段时间;将沉淀与上清液分离,必要时离心分离;该沉淀即为结合胡敏酸HAi。

[0016] 上述步骤a、b、c中,得到的三种不同保存形式的胡敏酸均分别再进行进一步的纯化处理,去除粘粒物质。

[0017] 对提取的上述三种不同形式的胡敏酸进行元素分析,结果显示三种胡敏酸的元素组成差异显著,游离胡敏酸碳含量最低,结合胡敏酸碳含量最高,说明土壤中确实存在三种不同形式的胡敏酸。测试的所有土壤均可分离出相对比例不同的三种胡敏酸组分,大多数土壤三种保存形式的胡敏酸的量按照游离胡敏酸,包裹胡敏酸和结合胡敏酸的顺序显著减少;但部分土壤包裹胡敏酸含量相对较高,甚至与游离胡敏酸相似。

[0018] 该分析方法所用试剂(NaOH、HCl)少,实验仪器简单(离心机、烘箱、水浴、摇床),大多实验室均可进行操作。三种不同保存形式的胡敏酸分别在不同的土壤扰动下释放,当土壤物理结构遭到破坏时可能释放HAe;当土壤处于酸雨等矿物淋溶环境时可能释放HAi。利用该技术分离的三种胡敏酸的C/N原子比分别约为Haf(12)、HAe(18)和HAi(30),说明三种胡敏酸的对微生物的敏感性逐步增加,因此当土壤受到扰动而释放HAe和HAi时,易于被微生物分解利用。鉴于土壤胡敏酸对稳定土壤结构具有重要的作用,利用该分离技术对土壤三种保存形式的胡敏酸的含量及相对分布进行研究,在一定程度上可反映土壤抗扰动能力的强弱。

[0019] 以上实施方式仅用于说明本发明,而并非对本发明的限制,有关技术领域的普通技术人员,在不脱离本发明的精神和范围的情况下,还可以做出各种变化和变形,因此所有等同的技术方案也属于本发明的范畴,本发明的专利保护范围应由权利要求限定。

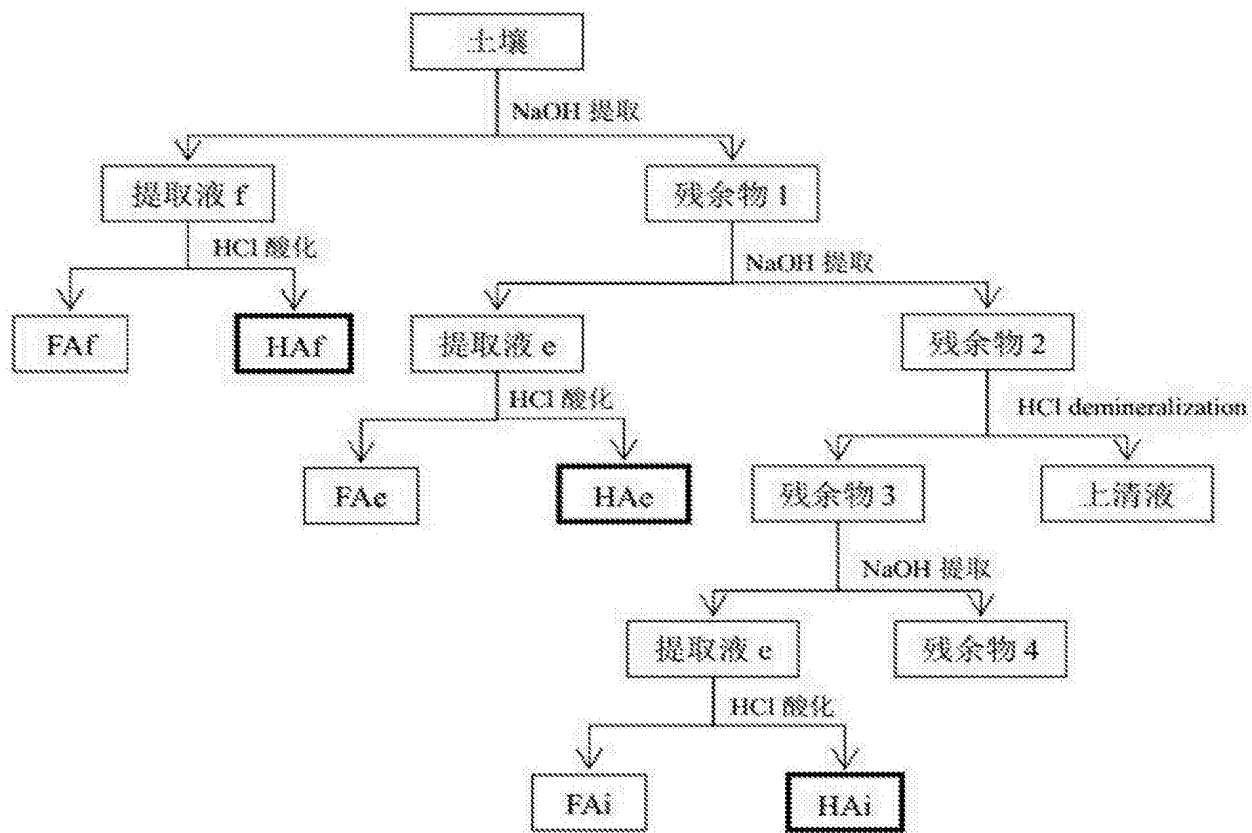


图1