

DOI: 10.13870/j.cnki.stbxb.2024.05.032

李华辉, 李雪, 李琬婷, 等. 低分子量有机酸浸提对紫色土金属阳离子释放和化学蚀变的影响[J]. 水土保持学报, 2024, 38(5): 343-352.

LI Huahui, LI Xue, LI Wanting, et al. Effects of low molecular weight organic acid extraction on the release of metal cations and chemical alteration in purple soil[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2024, 38(5): 343-352.

低分子量有机酸浸提对紫色土金属阳离子 释放和化学蚀变的影响

李华辉¹, 李雪¹, 李琬婷¹, 王婷¹, 李春培², 王雪瑶¹, 赵吉霞¹

(1. 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201; 2. 中国科学院山地表生过程与生态调控

重点实验室中国科学院水利部成都山地灾害与环境研究所, 成都 610299)

摘要: [目的] 通过探究植物根系分泌物中的低分子量有机酸对紫色土壤金属阳离子释放的具体影响机制, 解析植物根系在矿物风化和土壤形成中的作用。[方法] 采用有机酸浸提试验, 研究不同低分子量有机酸下紫色土结构崩解特征及风化过程中离子的释放规律, 定量分析释放速率与时间的相互关系, 并探讨不同有机酸对化学蚀变指数(CIA)的影响。[结果] 有机酸处理能显著提高紫色土风化产物的 CIA 值, 增幅为 7.25%~15.42%, 在相同浓度下, 柠檬酸较草酸更能加速风化过程; 电镜(SEM)扫描结果显示有机酸促进紫色土的结构破坏, Matlab 软件分析进一步表明有机酸浸提处理促进土壤矿物表面孔隙的发育, 降低土壤颗粒的均匀程度; 不同浓度的低分子量有机酸(LMWOAs)浸提处理时土壤金属阳离子释放速率不同, 且随着浸提时间的持续, 释放速率逐渐降低。金属离子的释放速率随有机酸浓度的增加而增加, 且离子释放总量整体呈现 $\text{Fe}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Na}^+$ 的规律, 通过多元非线性回归建立溶液酸度变化条件下的金属阳离子释放速率的定量分析模型发现, 金属阳离子的释放速率与时间之间存在显著的指数函数关系。[结论] 低分子量有机酸浸提促进紫色土金属阳离子释放和风化, 且柠檬酸较草酸显著。

关键词: 紫色土; 低分子量有机酸; 离子释放; 化学蚀变指数(CIA); 金属阳离子

中图分类号: 152.7

文献标识码: A

文章编号: 1009-2242-(2024)05-0343-10

Effects of Low Molecular Weight Organic Acid Extraction on the Release of Metal Cations and Chemical Alteration in Purple Soil

LI Huahui¹, LI Xue¹, LI Wanting¹, WANG Ting¹, LI Chunpei², WANG Xueyao¹, ZHAO Jixia¹

(1. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Key Laboratory of Mountain Surface Processes and Ecological Regulation, Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese

Academy of Sciences, Ministry of Water Resources and Electric Power, Chengdu 610299, China)

Abstract: [Objective] The specific mechanism of influence of low molecular weight organic acids in root exudates on metal cation release in purple soil in Yuanmou dry and hot river valley of Yunnan Province was explored to fill the current research gap and provide scientific basis for understanding soil weathering and plant-soil interaction. [Methods] The organic acid leaching test was employed to investigate the structural disintegration characteristics of purple soil under various low molecular weight organic acids and the release kinetics of ions during weathering. The quantitative analysis of the relationship between release rate and time was conducted, and the influence of different organic acids on CIA (chemical index of alteration) was discussed. [Results] Application of organic acids leads to a substantial increase in CIA value for purple soil weathering products ranging from 7.25% to 15.42%. Citric acid, at equivalent concentrations, demonstrates greater efficacy in accelerating weathering compared to oxalic acid. Scanning electron microscopy (SEM)

收稿日期: 2024-05-14

修回日期: 2024-06-26

录用日期: 2024-07-20

网络首发日期(www.cnki.net): 2024-09-23

资助项目: 国家自然科学基金项目(42007002); 云南省基础研究计划项目(202101AT070220); 云南省教育厅科学研究基金项目(2024J0419); 云南农业大学科研启动基金项目(KY2018-26)

第一作者: 李华辉(1999—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事土壤侵蚀与水土流失研究。E-mail: 13330530069@163.com

通信作者: 赵吉霞(1989—), 女, 博士, 副教授, 主要从事土壤发生演化及坡耕地土壤侵蚀与水土流失研究。E-mail: zhaojixia@163.com

http://stbxb.alljournal.com.cn

results reveal that organic acids induce structural damage in purple soil, while MATLAB software analysis indicates that leaching by organic acids promotes the development of surface pores in soil minerals and reduces particle uniformity. The release rates of metal cations from soil vary with concentrations of low molecular weight organic acids (LMWOAs), decreasing gradually over leaching time. The metal ion release rates increase with increasing organic acid concentrations, and the total ion release pattern follows $\text{Fe}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Na}^+$. A quantitative analysis model for the metal cation release rate under changing acidity conditions is established using multivariate nonlinear regression. There exists a significant exponential function relationship between the release rate of metal cations and time. [Conclusion] The leaching of low molecular weight organic acids promoted metal cation release and weathering of purple soil, and citric acid was more significant than oxalic acid.

Keywords: purple soil; low molecular weight organic acids; ion release; chemical index of alteration(CIA); metal cation

Received: 2024-05-14

Revised: 2024-06-26

Accepted: 2024-07-20

Online(www.cnki.net): 2024-09-23

岩石风化是地表土壤形成的基础,是地表生物地球化学循环的关键过程,岩石风化过程主要由物理(温度、降雨、冻融效应及地壳运动)、化学(水热条件和酸环境)和生物(植物根系和微生物)等因素所驱动^[1-3]。岩石的化学风化作用是一个关键的地球化学过程,它不仅提高土壤盐基离子质量分数,促进植物营养的长期有效性,而且在区域范围内对酸沉降具有显著的缓冲效应,对海洋的化学性质及全球大气 CO_2 浓度的调节也具有深远的影响^[2]。在已有研究^[4-5]中,科学家们已经构建一系列常量地球化学元素指标以量化大陆风化强度。矿物的化学蚀变,也称为化学风化,是指矿物在自然环境中与周围介质发生化学反应,导致矿物结构和化学成分发生改变的过程。其中,化学蚀变指数(chemical index of alteration, CIA)可以表征多种风化活跃性元素,对硅酸盐的风化过程产生响应,因此,被认为是衡量源区风化程度的一个关键指标^[6]。

低分子量有机酸(LMWOAs)指具有一个或多个羧基,带有特殊分子结构和电荷特性,呈弱酸性的小分子有机物,是土壤中可溶性有机物的重要组成部分^[7]。根系分泌物、植物残体和微生物代谢产物是土壤中 LMWOAs 的主要来源,其中,柠檬酸和草酸作为植物根际环境中代表性有机酸,在土壤层溶液的低分子量有机酸中占主导地位,在岩石风化过程的作用不容忽视^[8-9]。土壤中柠檬酸和草酸通过酸解、络合、螯合和氧化还原作用驱动矿物风化过程^[10-12],具体表现为在根际环境中 H^+ 的酸解作用,通过根部释放的 H^+ 和有机酸水解产生的 H^+ , H^+ 通过质子交换作用,使矿石中的金属阳离子溶出,同时发生矿物相的

转化,进而促进矿物的风化和溶解^[13]。土壤环境中 pH 越低,矿物溶解和释放矿质元素的能力越强^[14]。当有外界 H^+ 输入时,土壤通过阳离子交换和矿物风化来缓冲酸化,主要涉及盐基离子与 H^+ 的交换和矿物风化反应过程^[15]。根系分泌的有机酸与矿物表面的金属离子发生络合作用^[16-17],进一步促进矿物风化,但此过程容易受根际溶液条件的影响。ZHU 等^[18]的研究表明,植物根系分泌的不同小分子有机酸对于土壤次生黏土矿物的风化促进作用存在差异。然而,目前对于不同 LMWOAs 对紫色土壤次生黏土矿物风化及金属阳离子的释放作用机制尚不清楚。

紫色岩石被视为一种特殊的岩石类型,其在干热河谷区的土壤形成、特性及生态环境保护和植被恢复中扮演着重要角色,特点是紫色母岩风化速度较快且侵蚀度较高。有研究^[19]表明,紫色母岩平均年风化厚度可以达到 2.46 mm。然而,当前研究主要关注于人为因素或气候因子对紫色母岩风化过程的影响,如水热条件、酸化环境及氮肥施用条件等。植物根系分泌物对紫色土风化过程及其对金属阳离子的释放的影响机制鲜有报道。因此,本研究以元谋干热河谷区的典型紫色土为研究对象,通过设置不同类型及浓度的 LMWOAs 进行室内恒温连续浸提处理,揭示 LMWOAs 对紫色土风化程度及其金属阳离子释放机制,为维持紫色土肥力的可持续发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

元谋干热河谷区位于云南省楚雄彝族自治州元谋县,在滇中高原北部金沙江下游龙川江河谷盆地内($101^{\circ}35' - 102^{\circ}06' \text{E}$, $25^{\circ}23' - 26^{\circ}06' \text{N}$),属于南亚热带干季风气候区域,气候干热,光热充足,无霜期

长,利于植被生长。年平均气温 21.9℃,年平均降水量 616 mm,年平均蒸发量 3 627 mm。供试土壤采自元谋干热河谷区,采集无植被覆盖的深层土壤,采样深度为 60 cm 以下(采集 60 cm 以下无植被覆盖的土壤,可以降低植物根系分泌物对紫色土的干扰)。按照我国土壤发生分类土壤为中性紫色土,其母质为紫色砂页岩母质。其土壤矿物主要为石英、钾长石、斜长石、赤铁矿、黏土矿物,质量分数分别为 24.60%,1.50%,6.00%,4.40%,63.50%,黏土矿物中伊利石、高岭石、绿泥石相对占比分别为 96.00%,0.80%,3.20%。土壤样品置阴凉处风干,去除碎石、根系后,将其研磨过 10 目(2 mm)筛,然后保存于自封袋中待测。

1.2 试验设计

本试验于 2023 年 6 月 20 日至 8 月 15 日在云南农业大学后山进行,试验选用草酸和柠檬酸,每种酸设置 3 个浓度梯度,分别为 0.01 mol/L 草酸(C1)、0.05 mol/L 草酸(C2)、0.1 mol/L 草酸(C3)、0.01 mol/L 柠檬酸(N1)、0.05 mol/L 柠檬酸(N2)、0.1 mol/L 柠檬酸(N3)及去离子水(CK)处理。不同处理下 pH 分别为 2.18,1.83,1.48,2.41,2.35,2.18,7.00,每个处理设置 5 个重复,共计 35 个处理。首先称取 8.00 g 通过 2 mm 筛的供试土壤,并将其置于 100 mL 的离心管中。随后根据试验需求,分别向离心管中加入 80 mL 浓度为 0.01,0.05,0.1 mol/L 的草酸/柠檬酸溶液,同时设置纯水对照组(CK)。所有样品均在 180 r/min、25℃ 的恒温条件下,使用往复振荡机进行 1 h 的振荡处理。此后,样品被转移至恒温培养箱中,在 25℃ 的恒定温度下培养 23 h,以确保充分的反应时间。振荡与培养的总时间合计为 1 天,以模拟短期内的土壤-有机酸相互作用。试验周期 42 天,在每个处理周期结束后,采用离心和抽滤的方法分离固液两相,并精确抽取 30 mL 上清液备用,以供后续分析。

1.3 分析测定方法

浸提液中 K^+ 、 Na^+ 离子采用火焰光度法测定; Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 采用原子吸收光度法测定;XRD 测定浸提过后的紫色土中黏土矿物质量分数,SEM 测定土壤表面特征;化学物质中 K_2O 、 CaO 、 Na_2O 采用原子吸收分光光度计, Al_2O_3 采用氟化物取代络合滴定法。

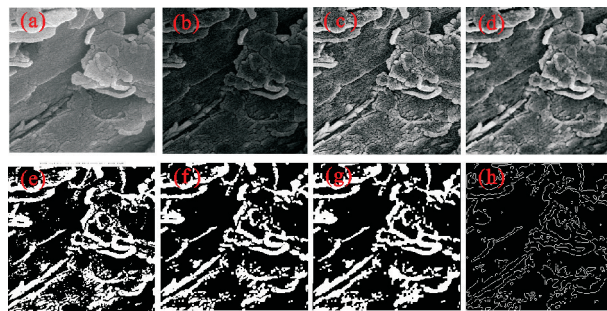
1.4 数据统计与分析

化学蚀变指数(CIA)是衡量土壤化学风化强度的指标,其值越大,表明土壤风化程度越高。矿物的离子组成比率被用来计算 CIA,计算公式为:

$$CIA = \left[\frac{Al_2O_3}{Al_2O_3 + Na_2O + K_2O + CaO^*} \right] \times 100$$

式中:用各种元素的释放量为矿物的残余量。氧化物表示其摩尔质量百分比(g/mol); CaO^* 为硅酸盐矿物中的 Ca 含量(%)。

本研究基于 Matlab 平台的土体 SEM 图像定量分析系统,以图像读取、图像处理、参数提取和数据存储等 4 个功能模块作为定量分析系统的核心,通过去除噪声、图像增强、分割、特征提取等一系列处理方法和技术,对不同处理下紫色土 SEM 图像进行系统的处理,本研究分别选取不同处理下放大 500 nm 的扫描电镜图像进行岩体颗粒、孔隙等特征的研究(图 1)。在图像预处理中,使用 imcrop 裁剪消除背景不均,并运用 7 种函数调节土体 SEM 图像对比度。降噪则通过灰度图像降噪和二值化形态学处理 2 步完成。通过 Matlab 设计的程序实现最优二值效果,利用形态学函数优化图像,消除麻点,并通过 edge 命令探测边际。使用 Bwlabel 和 Regionprops 函数,可以获取颗粒和孔隙的数量、面积、周长等参数,进而求得颗粒和孔隙的总面积、粒径、孔隙直径分选系数和平均视孔隙比表面等参数。



注:(a)为裁剪后的图;(b)为消除不均匀背景后的图像;(c)为图像对比度调整后的图像;(d)为图像降噪后的图像;(e)为图像分割后的二值图像;(f)为图像优化(开运算降噪)后的图像;(g)为图像优化(闭运算降噪)后的图像;(h)为边缘探测后的图像。

图 1 Matlab 软件图像处理过程

Fig. 1 Image processing process of Matlab software

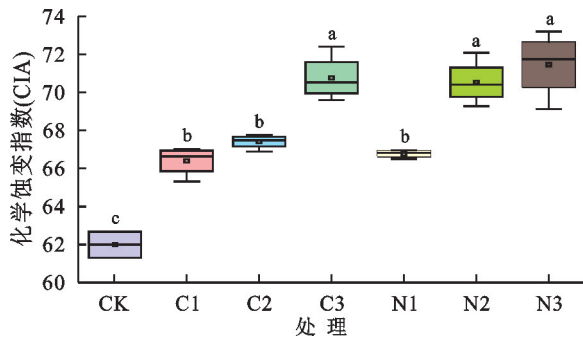
本试验相关数据的预处理均在 Excel 2016 软件中进行,数据的统计分析采用 IBM SPSS Statistics 27.0 软件,单因素方差分析采用最小显著差异法(LSD),回归分析和绘图采用 Origin 2021 软件。

2 结果与分析

2.1 不同有机酸对紫色土风化程度的影响

通过测定紫色土在不同有机酸浸提处理下的风化产物矿物元素总量,并计算化学蚀变指数(CIA),以评估紫色土风化产物的风化程度。结果表明,有机酸处理下紫色土的 CIA 值较 CK 处理增加 7.25%~15.42%;在相同浓度处理下,相较于草酸,柠檬酸处理下 CIA 分别提高 0.56%,4.65%,0.97%,N2 处理

较 C2 处理显著提高 ($p < 0.01$), 其他处理无显著性差异 ($p > 0.05$) (图 2)。



注: 图中 CK、C1、C2、C3、N1、N2、N3 分别为空白处理、草酸、柠檬酸在 0.01、0.05、0.1 mol/L 的 3 个浸提梯度的释放速率; 长方形箱体表示上下四分位数 25%~75%; 上下须线表示 1.5IQR 内的范围; 框内横线表示中位数。

图 2 LMWOAs 浸提下的紫色土壤化学蚀变指数 (CIA)

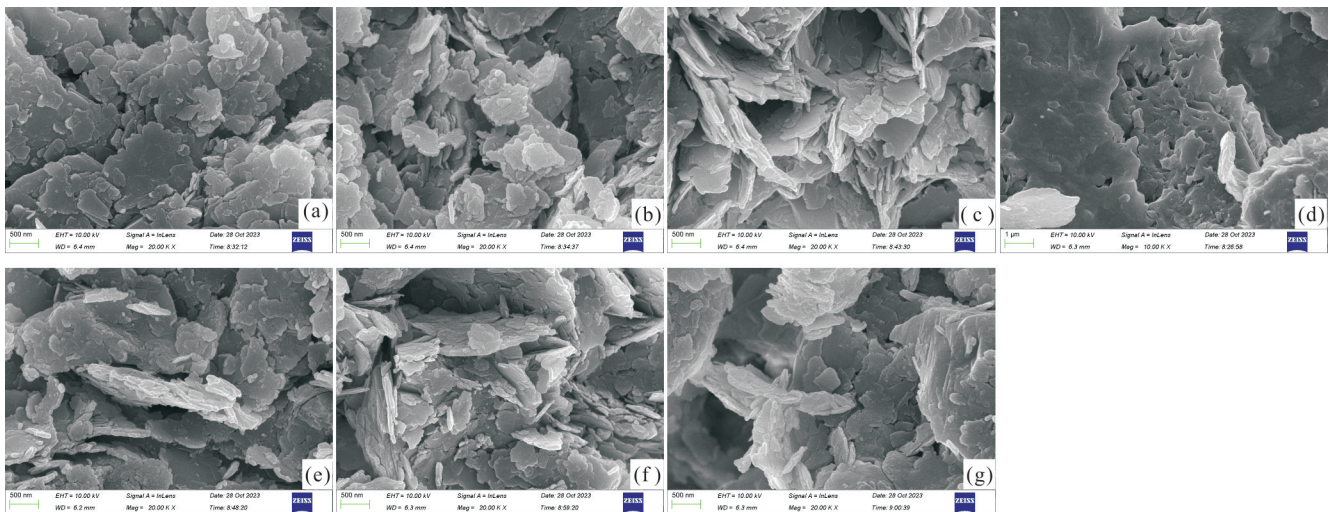
Fig.2 Chemical Alteration index (CIA) of purple soil after LMWOAs extraction

在相同有机酸类型处理下, 随低分子有机酸浓度增加, CIA 值不断升高。具体而言, C3 处理下 CIA 较 C1 和 C2 处理分别显著提高 6.58%, 5.00% ($p < 0.01$),

N3 处理下相较 N1 和 N2 分别提高 5.64%, 1.30%, C2 和 C3 差异显著, 但 N2 和 N3 差异不显著。

2.2 紫色土形貌特征

CK 处理下, 颗粒表面较为圆滑。小颗粒 (黏土矿物) 充填在大颗粒周围, 形成片状结构, 片状结构相互叠聚起到胶结作用; C1 处理下, 片状表面开始出现破碎片状物质, 微孔隙开始增大; C2 处理下, 片状结构排列不均匀, 有较多的破碎片状, 且表面片状结构逐渐分离, 孔隙增大; C3 处理下, 孔隙的面积和深度增加, 孔隙形状分布多呈不规则形状, 黏土矿物形成的片状结构较破碎、分离; N1 处理下, 片状结构开始瓦解; N2 处理下, 片状结构排列不均匀, 有较多的破碎片状, 且表面片状结构逐渐分离。此外存在较大的孔隙, 形成边缘呈波纹状和锯齿状; N3 处理下, 形成较大的孔隙结构, 其面积大而且深度较深, 中间只剩余由片状结构堆积起来的薄柱, 黏土矿物形成的形成片状减少, 形成边缘有明显波纹状和锯齿状 (图 3)。总之, 相较 CK 处理, 不同处理显著改变颗粒的微观结构和孔隙特征。



注: (a)(b)(c)(d)(e)(f)(g) 分别为 SEM 扫描下 CK、C1、C2、C3、N1、N2、N3 处理的紫色土的微结构特征 (500 nm)。

图 3 SEM 扫描下不同处理紫色土的微结构特征 (500 nm)

Fig. 3 Microstructure characteristics of purple soil under different treatments under SEM scanning (500 nm)

通过 Matlab 软件对 7 个处理下紫色土断面微结构的颗粒和孔隙特征参数进行统计和计算 (表 1、表 2)。结果表明, 柠檬酸和草酸处理下颗粒数较 CK 处理分别增加 549, 504, 420 和 653, 508, 523 个, 其颗粒数随有机酸浓度增加而降低; C3、N3 颗粒总面积最小, 分别为 190 725, 190 036 μm^2 。颗粒的平均值系数反映颗粒的均匀程度, 本研究不同处理下, 颗粒平均值系数为 0.017~0.156, 相较于 CK 处理外, 不同有机酸处理下颗粒平均值系数偏低, 颗粒的均匀程度较差。不同处理紫色土的孔隙结构参数, CK 孔隙总面积最大, 为 64 300 μm^2 , 其次是 C3、N3, 分别为 526 075, 526 764 μm^2 。不同处理下的平均孔

径分布低浓度有机酸大于其他处理, 而且不同处理下的孔隙大小不一, 孔隙相差较大。不同处理下孔隙平均值系数分布为 0.035~0.105。

一般而言, 平均值系数越接近 1, 表明孔隙分布越均匀, 从表 1 可以看出, 不同处理下的平均值系数都偏低, 孔隙大小不均匀。一般孔隙形状因子越接近 1, 孔隙形状越近似圆, 不同处理下的形状因子为 0~0.013, 所以不同处理下的孔隙似圆形较差。不同处理下的孔隙率为 N3 (0.735) > N1 = C3 (0.734) > C2 (0.725) > C1 = CK (0.714) > N2 (0.700), 孔隙率越小, 岩体越密实, 反之则越疏松。

表 1 SEM 图像下颗粒结构参数

Table 1 Particle structure parameters in SEM images

处理	颗粒 个数	颗粒最大 面积/ μm^2	颗粒平均 面积/ μm^2	颗粒最大 直径/ μm	颗粒 总面积/ μm^2	颗粒平均 直径/ μm	颗粒平均 周长/ μm	颗粒均值 系数
CK	78	5 610	329.482	170.639	25 700	26.696	91.080	0.156
C1	627	26 841	323.067	1 342.749	202 563	22.888	86.765	0.017
C2	582	55 476	338.328	1 063.564	196 907	22.794	88.469	0.021
C3	498	40 524	382.980	773.951	190 725	24.427	94.497	0.032
N1	731	33 129	261.116	510.904	190 876	21.148	71.655	0.041
N2	586	55 879	366.722	974.377	214 899	24.039	91.416	0.025
N3	601	53 103	316.200	869.639	190 036	23.075	83.413	0.027

表 2 SEM 图像下孔隙结构参数

Table 2 Pore structure parameters in SEM images

处理	孔隙 个数/个	孔隙总 面积/ μm^2	孔隙均值 系数	平均 周长/ μm	平均 孔径/ μm	孔隙率/ %	平均视孔隙 比表面/ μm^{-1}	平均孔隙 形状因子
CK	17	64 300	0.105	100.821	39.153	0.714	2.502	0.013
C1	95	514 237	0.044	63.042	46.838	0.717	2.539	0.001
C2	135	519 893	0.037	60.332	39.507	0.725	2.640	0.001
C3	144	526 075	0.036	61.296	38.479	0.734	2.758	0.001
N1	138	525 924	0.037	55.812	39.301	0.734	2.755	0
N2	147	501 901	0.035	59.904	37.199	0.700	2.336	0.001
N3	143	526 764	0.036	61.778	38.638	0.735	2.772	0.001

2.3 低分子量有机酸对金属阳离子释放特征的影响

不同种类有机酸对金属阳离子释放速率的影响不同(图 4)。在不同 LMWOAs 的作用下,金属阳离子的释放速率随着浸提时间的延长而逐渐降低,这一趋势在不同离子中均有所体现。具体而言, K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 离子在浸提初期释放速率较高,而后显著下降,尤其是 Mn^{2+} 离子的释放速率降幅最大。对于 Mg^{2+} 和 Fe^{3+} 离子,在草酸处理下,随着浸提时间的增加,释放速率逐渐上升后下降,其中 Mg^{2+} 在 C3 和 C2 处理下分别于第 8 天和第 9 天达到释放峰值,而 Fe^{3+} 离子在草酸处理下出现多个释放峰值。有机酸种类对离子释放有显著影响,随后在上下振荡状态中呈向下趋势或趋于稳定。试验结果还显示,草酸对 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 的释放效果强于柠檬酸,而对 Na^+ 的释放效果无显著差异。对于 Ca^{2+} 、 K^+ 、 Mn^{2+} ,柠檬酸的释放效果则优于草酸,但二者无显著差异。不同有机酸在相同浓度下,金属阳离子释放量相同,离子释放总量呈现 $\text{Fe}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Na}^+$ 。

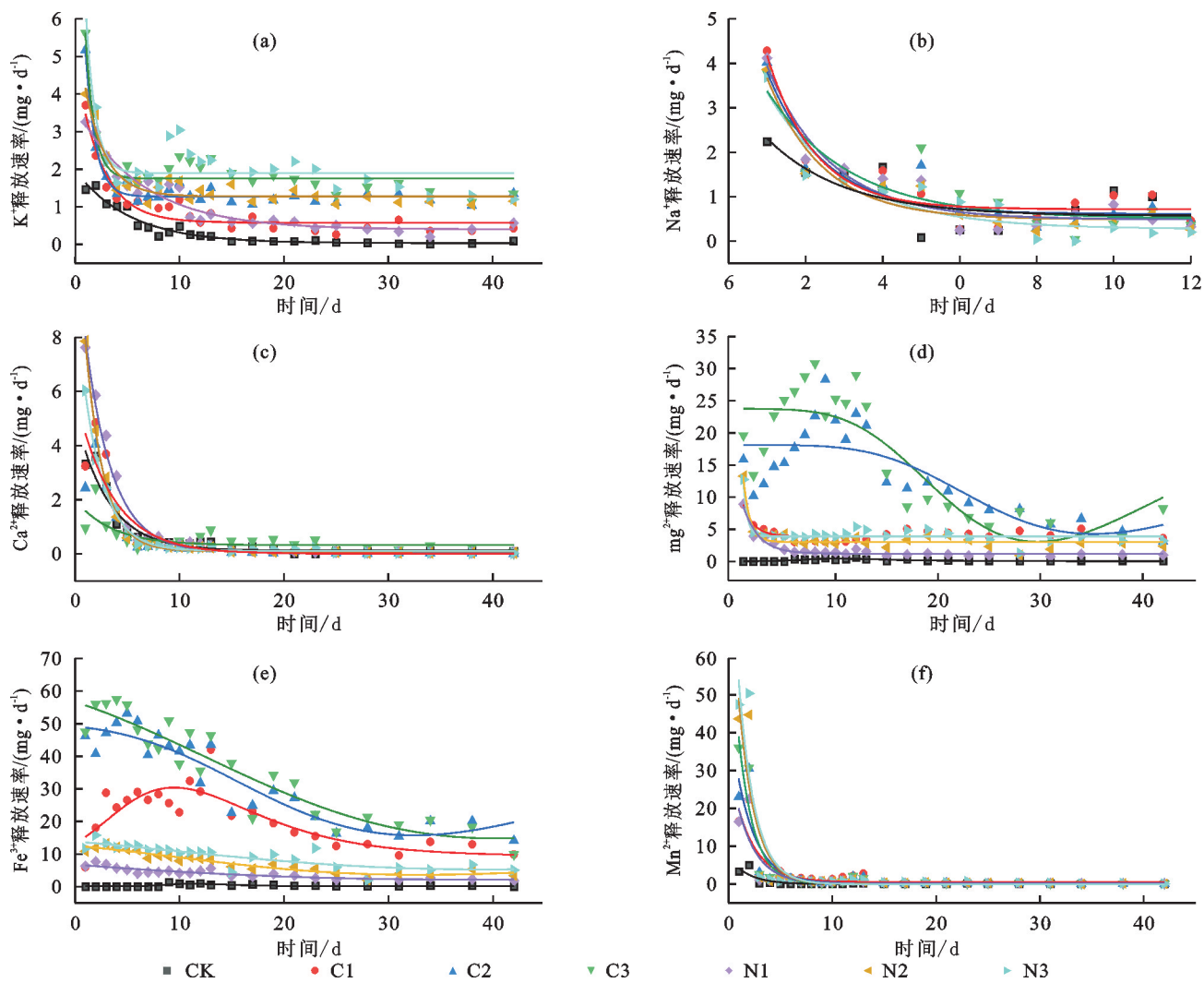
不同浓度有机酸对金属阳离子释放速率的影响不同。研究结果表明,不同浓度有机酸较 CK 均能有效提高土壤金属阳离子释放速率,且释放速率随浓度上升而提高。

与 C1 处理相比,C2、C3 处理下, Fe^{2+} 离子的释放总量分别增加 59.52%和 73.27%, K^+ 离子的释放速率相应提升 62.16%和 111.23%, Mn^{2+} 离子的释放

速率也分别增长 14.91%和 31.05%;相较于 N1 处理,N2、N3 处理下, Fe^{2+} 离子的累计释放速率分别显著增长 87.70%和 132.96%, Mg^{2+} 离子的累计释放速率也分别增加 94.25%和 134.25%; Mn^{2+} 离子的累计释放速率在柠檬酸处理下同样表现出显著增长,增幅分别为 98.79%和 118.38%。

2.4 紫色土金属阳离子释放的驱动因子

通过回归分析探究不同有机酸处理条件下金属阳离子释放速率随时间的变化规律(表 3 和表 4)。结果显示,金属阳离子的释放速率与时间存在显著的指数函数关系,在统计学上具有较高可信度($p < 0.01$)。具体而言,各金属阳离子的释放总量随着时间的推移呈指数趋势递减,尤其在柠檬酸浸提处理下,金属阳离子的释放总量与时间的相关系数(R^2)尤为突出,除 Mn^{2+} 离子外,其余离子的相关系数(R^2)均达到 0.86 以上。这一结果表明,紫色土中的金属阳离子对柠檬酸处理具有高度的敏感性,不同离子的敏感性排序为 $\text{Ca}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{Fe}^{3+} > \text{Mn}^{2+}$;相比之下,草酸浸提处理下的释放总量与时间的相关系数虽然也呈现出一定的显著性,但相对较弱,系数普遍在 0.78 以上。尽管如此,不同离子在草酸浸提下的敏感性排序与柠檬酸处理下的结果保持一致。由此可知,土壤中金属阳离子的释放不仅受表面反应支配,而且受扩散过程的限制。从动力学曲线上快反应和慢反应之间存在明显的过渡区也可说明这一点。



注:图中(a)(b)(c)(d)(e)(f)分别为 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 在草酸和柠檬酸在0.01、0.05、0.1 mol/L的3个浸提梯度的释放速率。

图 4 不同有机酸浸提下金属阳离子释放速率

Fig. 4 Metal cation release rate under different organic acid leaching

表 3 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 释放速率与时间的回归分析

Table 3 Regression analysis of Fe^{3+} 、 Mg^{2+} release rate and time

金属阳离子	浸提液	浓度	$z^2=(x-a)/b; y=k-Ae^{[-e^{(-z)}-z+1]}$				R^2
			a	b	k	A	
Fe^{3+}	草酸	0.01	9.477 1	6.720 9	9.336 2	21.052 3	0.66
		0.05	32.465 2	17.597 6	50.218 7	-34.477 7	0.85
		0.1	40.251 4	28.900 6	66.936 2	-52.134 5	0.85
	柠檬酸	0.01	37.210 3	125.042 1	98.608 5	-96.459 2	0.80
		0.05	32.950 3	24.285 1	15.064 7	-11.457 3	0.89
		0.1	39.197 8	30.852 7	17.098 6	-11.820 7	0.63
Mg^{2+}	纯水	1	11.185 3	2.913 3	0.119 1	0.766 8	0.49
	草酸	0.05	-35.192 7	13.485 9	18.130 0	-13.860 1	0.57
		0.1	29.738 6	11.571 4	23.746 8	-20.700 1	0.72
		1	10.324 3	3.773 0	0.046 5	0.377 5	0.60

3 讨论

3.1 低分子量有机酸对紫色土壤 CIA 的影响

本研究结果表明,C1 处理下的紫色土壤 CIA 为 61.23,为初等化学风化程度,C2、C3 和 N1、N2、N3

处理下的紫色土 CIA 变化在 65~72 处于中等化学风化程度^[20],说明 LMWOAs 显著促进紫色土的化学蚀变。其主要原因在于:一方面在有机酸作用下, H^+ 通过质子交换作用,将矿物中层间或是孔洞中的

金属阳离子置换出,即在酸性条件下, H^+ 和矿物表面阳离子(Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+})进行交换反应;另一方面,有机酸根阴离子吸附在矿物晶体中阳离子反应位点,通过极化作用将晶格中的阳离子溶出,致使矿物晶体结构被破坏。溶出的金属阳离子与有机酸根阴离子可能进一步形成稳定的络合物,这些络合物的形成不仅阻止硅酸盐的重新形成,还促进矿物中更多金属阳离子的溶出,在酸性环境下,有机酸还可以通过水解反应与硅酸盐矿物发生作用,生成水和相应的盐类。对于构成紫色土壤的主要黏土矿物伊利石,这一反应可以导致其晶体结构的进一步破坏和溶解,酸性条件下伊利石样品溶解反应可表现为: $(Si_{3.55}Al_{0.45})(Al_{1.27}Fe_{0.36}^{III}Mg_{0.44})O_{10}(OH)_2(Ca_{0.01}Na_{0.13}K_{0.53})+7.80H^+=3.55SiO_2+1.72Al^{3+}+0.36Fe^{3+}+0.44Mg^{2+}+0.01Ca^{2+}+0.13Na^++0.53K^++4.90H_2O$ 。综上所述,低分子量有机酸通过质子交换、极化作用、络合物形成及水解反应等多种机制共同作用于硅酸盐矿物(如伊利石),导致其及矿物结构遭受破坏,从而促进和影响矿物溶解和化学蚀变。

在相同有机酸浓度处理下,柠檬酸较草酸在促进紫色土风化方面具有更显著的效果。其主要原因是柠檬酸含有羟基功能团最多,与铁、铝的螯合作用最强,增加土壤表面负电荷量的作用也最强。柠檬酸比草酸更容易从长石中提取硅,而草酸比柠檬酸更容易从长石中提取铝;C2和C3处理差异显著,但N2和N3处理差异不显著。分析其原因,当草酸的浓度从0.05 mol/L增加到0.1 mol/L时,Si的溶出浓度随着有机酸浓度的增加而增大,其反应活性显著增加,因此能够更强烈地与土壤中的矿物质发生反应,从而导致CIA的显著差异。相比之下,柠檬酸在土壤中的反应可能更加复杂,涉及到多个反应路径和中间产物。因此,当柠檬酸的浓度从0.05 mol/L增加到0.1 mol/L,虽然其反应活性也有所增加,但可能由于反应机制的复杂性,导致这种增加并没有在CIA上产生显著差异。

3.2 低分子量有机酸对不同金属阳离子释放特征的影响

本研究结果表明,LMWOAs均能显著促进金属阳离子的释放。LMWOAs对金属阳离子释放的影响主要是有机酸电离的质子和配体共同作用促进次生黏土矿物的溶解,进而导致金属阳离子的释放^[21]。在没有络合配体的情况下,氧化物的溶解速率与表面质子浓度的 n 次方呈正比。在配体存在的情况下,发生促进反应,2种机制不受相互影响,同时发生。具体可用公式来描述: $R_{total}=R_H+R_L=K_H(SOH_2^++$

$K_L(S-L)$,其中总速率(R_{total})等于质子促进速率(R_H)和配体促进速率(R_L)之和。

表 4 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 释放速率与时间的回归分析
Table 4 Regression analysis of K^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} release rate and time

金属阳离子	浸提液	浓度	$y=A_1e^{(-\frac{x}{t_1})}+K$			
			A_1	t_1	k	R^2
K^+	草酸	0.01	4.362 0	2.441 7	0.579 8	0.89
		0.05	11.144 9	0.951 7	1.271 1	0.95
		0.1	12.757 5	0.838 0	1.749 7	0.86
	柠檬酸	0.01	3.270 3	6.276 9	0.396 3	0.94
		0.05	4.771 9	1.981 7	1.276 4	0.89
		0.1	13.672 1	0.898 8	1.891 9	0.81
Ca^{2+}	纯水	1	1.948 5	5.210 5	0.031 8	0.94
		0.01	5.943 0	3.469 3	0.007 2	0.84
		0.05	4.217 7	2.825 8	0.007 4	0.92
	草酸	0.1	5.102 3	3.111 2	0.115 0	0.92
		0.01	11.741 5	2.577 2	0.058 7	0.97
		0.05	13.898 5	1.734 3	0.101 0	0.99
Na^+	柠檬酸	0.1	9.674 6	2.008 4	0.110 4	0.99
		1	5.102 3	3.111 2	0.115 0	0.92
		0.01	7.759 4	1.235 9	0.716 0	0.87
	草酸	0.05	6.278 4	1.482 0	0.610 5	0.84
		0.1	4.578 1	2.140 1	0.506 8	0.71
		0.01	6.327 6	1.654 6	0.485 2	0.88
Mn^{2+}	柠檬酸	0.05	6.326 6	1.455 2	0.488 2	0.89
		0.1	4.986 3	2.076 4	0.268 7	0.85
		1	2.855 9	2.024 1	0.566 8	0.51
	草酸	0.01	31.945 2	2.003 6	0.517 8	0.72
		0.05	46.823 3	1.907 8	0.126 4	0.75
		0.1	76.820 7	1.473 0	0.076 9	0.88
Mg^{2+}	柠檬酸	0.01	34.203 1	1.836 9	0.177 1	0.71
		0.05	93.645 0	1.557 6	-0.067 8	0.81
		0.1	102.252 9	1.570 6	-0.099 0	0.80
	纯水	1	7.322 8	1.824 4	-0.200 0	0.67
		0.01	12.425 1	1.078 3	3.872 4	0.69
		0.05	14.110 0	1.539 6	1.192 3	0.94
Mg^{2+}	柠檬酸	0.05	50.164 4	0.626 9	3.032 6	0.86
		0.1	120.710 4	0.382 5	3.901 4	0.82

质子促进速率与吸附质子(SOH_2^+)的浓度或表面电荷密度提高到某一幂(n)呈正比,而离子促进速率与配体吸附形成的表面活性中心浓度呈正比($S-L$)^[22]。首先,有机酸配体吸附在(氢)氧化物表面,生成络合物,破坏矿物表面结构,促进离子的解吸溶解;其次 LMWOAs 影响土壤的表面电荷性质,进而影响离子在土壤中的吸附—解吸^[23]。LMWOAs 通过还原作用形成的络合物吸附在土壤颗粒表面,进一

步降低离子在土壤中的吸附^[24]。

不同有机酸在相同浓度下,金属阳离子释放量相同,离子释放总量呈现 $\text{Fe}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Na}^+$,基本呈现高价金属离子对 LMWOAs 的释放敏感性强于低价金属离子。HARTIKAINEN^[25]的研究指出,外源质子的增加使 2 价盐基离子淋溶量大大增加,但对 1 价阳离子的影响要小得多。本研究中, Fe^{3+} 释放量最大,首先归因于紫色土中富含的大量 Fe_2O_3 。当植物根系分泌的有机酸 Fe^{3+} 离子接触时^[26],能够形成稳定的络合物或螯合物,从而有效降低 Fe^{3+} 离子与土壤颗粒之间的结合力。 Fe^{3+} 离子在黏土颗粒或晶胞表面的吸附会改变颗粒表面的电场强度,从而影响 Fe^{3+} 离子的释放过程。 Mg^{2+} 释放速率在 Fe^{3+} 后,其紫色土的 Mg^{2+} 主要以络合物的形式大量存在,位于晶层间。由于试验用的紫色土黏土矿物伊利石含量较高,其伊利石层间域中不是水化阳离子,结构单元之间静电相互作用较强,伊利石在水中膨胀性能差,阳离子交换容量也较小,所以在浸泡开始阶段 Mg^{2+} 可以快速溶解释放^[27],后期随着浸泡次数的增加,阳离子交换容量减小, Mg^{2+} 释放量陡然下降。所以 Mg^{2+} 的释放量贡献率随浸泡循环试验的进行而降低。有研究^[28]表明,土壤中 Mn^{2+} 的溶解受土壤中锰的储量、pH 和氧化还原电位的影响。紫色土通气良好,锰含量低,不同的有机酸对 MnO_2 的还原溶解能力不同。研究^[29]表明,一元羧酸一般络合能力较弱,二元和多元羧酸由于可形成螯合物而具有较强的络合能力,部分脂肪酸和大部分酚羟基酸还具有一定的还原能力,能与土壤中的锰氧化物发生氧化还原反应。本研究与前人^[30]研究结果一致,不同有机化合物对 MnO_2 还原溶解能力的大小为柠檬酸>草酸。与二价离子相比, K^+ 和 Na^+ 对强酸的敏感性较弱, K^+ 的释放量高于 Ca^{2+} ,可能与母岩特征及土壤形成过程有关。本研究主要紫色土伊利石含量高,其结构由错开叠置的四面体片与配位八面体片构成基本单元层,层间由 K^+ 离子充填以平衡电价。由于 K^+ 离子被硅氧四面体直接吸附,难以与溶液中的 H^+ 交换,且钾长石风化难度大,因此在紫色母岩浸泡过程中, K^+ 的释放量相对较小; Na^+ 主要来自钠长石的风化,最终的风化产物则是蛭石、高岭石和水云母等次生黏土矿物。紫色母岩中 Na^+ 与 Mg^{2+} 类似,主要存在于黏土矿物的晶层间,因此在溶液中极易被溶出,但由于一价离子风化过程中所需的能量小,因此 H^+ 浓度增加对一价离子的交换作用影响不大。 Ca^{2+} 的释放速率低于 K^+ 离子,经分析其原

因,草酸和柠檬酸分别为二元酸和三元酸,均可解离产生氢离子(H^+)和相应的酸根离子,同时,草酸根离子和柠檬酸根离子都能与钙离子结合,形成溶解度不同的化合物。

4 结 论

(1)扫描电镜研究结果显示,紫色土主要由单个块状体、片状单元、片状单元叠聚体和片状与块状混合堆积体组成。随着不同有机酸浓度浸提,表面颗粒增多,存在容易剥落的片状,且结构逐渐松散,微空隙个数增多,面积和深度增加,块状逐渐分离为颗粒状。通过定量分析,不同处理下颗粒平均值系数为 0.017~0.156,颗粒的均匀程度较差;不同处理下孔隙平均值系数为 0.035~0.105,孔隙大小不均匀。不同处理下的形状因子为 0~0.013,所以不同处理下孔隙似圆形较差。

(2)不同浓度的 LMWOAs 对土壤金属阳离子释放具有显著影响,但随着浸提时间的持续,释放速率逐渐降低,由于矿物的溶解特征不同,同一体系中离子的释放机理也存在差异。由于组成紫色母岩的理化性质及矿物组成等特征的差异,导致各金属阳离子释放特征有所差异,有机酸处理下离子释放总量整体呈现为 $\text{Fe}^{3+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Na}^+$ 。

(3)基于金属阳离子的释放速率及随浸提时间的变化情况,结合不同有机酸处理条件下金属阳离子释放速率随时间的变化规律,通过多元非线性回归建立溶液酸度变化条件下的金属阳离子释放速率的定量分析模型,结果显示,金属阳离子的释放速率与时间之间存在显著的指数函数关系 $y = A_1 e^{-\frac{x}{a}} + k$ 和 $z^2 = \frac{(x-a)}{b}$; $y = k - A e^{[-e^{(-z)} - z + 1]}$,这一发现在统计学上具有较高可信度($p < 0.01$)。本研究结果不仅加深有机酸对紫色土金属阳离子释放机制的认识,而且为后续机理研究和实际应用提供重要的理论支撑。

(4)有机酸处理能显著提高紫色土风化产物的 CIA 值,增幅为 7.25%~15.42%。在相同浓度下,柠檬酸较草酸更能加速风化过程。不同有机酸在低、中、高浓度下的风化效果存在显著差异,其中高浓度柠檬酸与草酸效果最为显著,可为紫色土的风化机制提供新的见解。

参考文献:

- [1] 孙明照,瞿书逸,李来峰,等.岩性对化学风化的影响:来自亚热带气候条件下花岗岩和安山岩的对比[J].地球科学与环境学报,2018,40(5):627-636.
- SUN M Z, QU S Y, LI L F, et al. Effects of lithology

- on chemical weathering: Comparison of granite and andesite in subtropical climate[J]. *Journal of Earth Sciences and Environment*, 2018, 40(5): 627-636.
- [2] 赵吉霞, 邓利梅, 陆传豪, 等. 模拟酸雨淋溶对紫色母岩风化成土特征的影响研究[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2021, 43(11): 151-161.
ZHAO J X, DENG L M, LU C H, et al. Effects of simulated acid rain leaching on weathering and soil forming characteristics of purple parent rock[J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2021, 43(11): 151-161.
- [3] 陈田圆, 吕镔, 李嘉伟, 等. 化学蚀变指数(CIA)反映湿润亚热带风化壳型土壤风化强度的适用性探讨[J]. *第四纪研究*, 2024, 44(2): 551-562.
CHEN T Y, LÜ B, LI J W, et al. The applicability of chemical index of alteration(CIA) to reflect weathering intensity of humid subtropical weathering crust soil[J]. *Quaternary Sciences*, 2024, 44(2): 551-562.
- [4] MCLENNAN S M. Weathering and global denudation[J]. *The Journal of Geology*, 1993, 101(2): 295-303.
- [5] PARKER A. An index of weathering for silicate rocks[J]. *Geological Magazine*, 1970, 107(6): e501.
- [6] NESBITT H W, YOUNG G M. Early proterozoic climates and plate motions inferred from major element chemistry of lutites[J]. *Nature*, 1982, 299: 715-717.
- [7] 方治国, 谢俊婷, 杨青, 等. 低分子有机酸强化植物修复重金属污染土壤的作用与机制[J]. *环境科学*, 2022, 43(10): 4669-4678.
FANG Z G, XIE J T, YANG Q, et al. Role and mechanism of low molecular-weight-organic acids in enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(10): 4669-4678.
- [8] LIN S M, YU Y L, ZHONG M F, et al. The dissolution behavior of feldspar minerals in various low-molecular-weight organic acids[J]. *Materials*, 2023, 16(20): e6704.
- [9] SOKOLOVA T A. Low-molecular-weight organic acids in soils: Sources, composition, concentrations, and functions: A review[J]. *Eurasian Soil Science*, 2020, 53(5): 580-594.
- [10] CHEN H X, DOU J F, XU H B. The effect of low-molecular-weight organic-acids (LMWOAs) on treatment of chromium-contaminated soils by compost-phytoremediation: Kinetics of the chromium release and fractionation[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 70: 45-53.
- [11] 何沅洁, 刘江, 江韬, 等. 模拟三峡库区消落带优势植物根系低分子量有机酸对土壤中铅的解吸动力学[J]. *环境科学*, 2017, 38(2): 600-607.
HE Y J, LIU J, JIANG T, et al. Simulated desorption kinetics of lead by the dominant plant roots released low molecular weight organic acids from the water-level-fluctuating zone in the Three Gorges Reservoir[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(2): 600-607.
- [12] XIAO M, WU F C, WANG L Y, et al. Investigation of low-molecular weight organic acids and their spatiotemporal variation characteristics in Hongfeng Lake, China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2013, 25(2): 237-245.
- [13] ZUO S M, YANG J L, HUANG L M, et al. Assessment of plant-driven mineral weathering in an aggrading forested watershed in subtropical China[J]. *Pedosphere*, 2016, 26(6): 817-828.
- [14] KHAYAMIM F, KHADEMI H, SABZALIAN M R. Effect of Neotyphodium endophyte-tall fescue symbiosis on mineralogical changes in clay-sized phlogopite and muscovite[J]. *Plant and Soil*, 2011, 341(1): 473-484.
- [15] 刘俐, 周友亚, 宋存义, 等. 模拟酸雨淋溶下红壤中盐基离子释放及缓冲机制研究[J]. *环境科学研究*, 2008, 21(2): 49-55.
LIU L, ZHOU Y Y, SONG C Y, et al. Release of basic cations in red soil under simulated acid rain and buffering mechanism[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2008, 21(2): 49-55.
- [16] CHEN J R, SHAFI M, WANG Y, et al. Organic acid compounds in root exudation of Moso Bamboo (*Phyllostachys pubescens*) and its bioactivity as affected by heavy metals[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2016, 23(20): 20977-20984.
- [17] ADELEKE R A, CLOETE T E, BERTRAND A, et al. Iron ore weathering potentials of ectomycorrhizal plants[J]. *Mycorrhiza*, 2012, 22(7): 535-544.
- [18] ZHU Y G, DUAN G L, CHEN B D, et al. Mineral weathering and element cycling in soil-microorganism-plant system[J]. *Science China Earth Sciences*, 2014, 57(5): 888-896.
- [19] WANG H J, SHI X Z, YU D S, et al. Factors determining soil nutrient distribution in a small-scaled watershed in the purple soil region of Sichuan Province, China[J]. *Soil and Tillage Research*, 2009, 105(2): 300-306.
- [20] 熊平生, 袁道先, 谢世友. 衡阳市区高兴剖面红土化学风化强度与物源分析[J]. *干旱区资源与环境*, 2017, 31(7): 74-78.
XIONG P S, YUAN D X, XIE S Y. Chemical weathering intensity and material source of red earth of Gaoxing profile in Hengyang city[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2017, 31(7): 74-78.
- [21] 胡华锋, 程璞, 王兴祥, 等. 柠檬酸、草酸和苹果酸对高岭

- 石的溶解作用[J].土壤通报,2013,44(3):635-640.
- HU H F, CHENG P, WANG X X, et al. Dissolution of kaolinite induced by citric, oxalic and malic acids[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2013, 44(3): 635-640.
- [22] AMRHEIN C, SUAREZ D L. The use of a surface complexation model to describe the kinetics of ligand-promoted dissolution of anorthite[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1988, 52(12): 2785-2793.
- [23] XU R K, ZHAO A Z, JI G L. Effect of low-molecular-weight organic anions on surface charge of variable charge soils[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2003, 264(2): 322-326.
- [24] WANG Y X, HUANG D Y, GE C H, et al. Amendment of organic acids significantly enhanced hydroxyl radical production during oxygenation of paddy soils[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 457: e131799.
- [25] HARTIKAINEN H. Soil response to acid percolation: Acid-base buffering and cation leaching[J]. Journal of Environmental Quality, 1996, 25(4): 638-645.
- [26] 花敏, 张笛, 姜艾伶, 等. 铁细菌培养过程中低分子有机酸钠盐对含硫酸根铁矿物形成的影响[J]. 岩石矿物学杂志, 2021, 40(4): 786-794.
- HUA M, ZHANG D, JIANG A L, et al. Effects of low molecular organic sodium salts on the formation of sulfate-containing iron minerals during the cultivation of *Acidithiobacillus ferrooxidans* [J]. Acta Petrologica et Mineralogica, 2021, 40(4): 786-794.
- [27] 李平, 王兴祥. 模拟酸雨和几种低分子量有机酸淋溶对土壤交换性盐基的影响[J]. 土壤, 2006, 38(3): 322-327.
- LI P, WANG X X. Effects of leaching with simulated acid rain and low molecular weight organic acids on soil exchangeable base[J]. Soils, 2006, 38(3): 322-327.
- [28] HERNANDEZ-SORIANO M C, DEGRYSE F, LOMBI E, et al. Manganese toxicity in barley is controlled by solution manganese and soil manganese speciation[J]. Soil Science Society of America Journal, 2012, 76(2): 399-407.
- [29] 刘源, 徐仁扣. 低分子量有机化合物对 MnO_2 和土壤氧化锰的还原溶解作用[J]. 环境化学, 2015, 34(6): 1037-1042.
- LIU Y, XU R K. Reductive dissolution of MnO_2 and manganese oxides in soils by low-molecular-weight organic compounds[J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(6): 1037-1042.
- [30] 杨杰文, 钟来元, 郭荣发. 有机酸溶解砖红壤过程中 $Mn(II)$ 的释放规律[J]. 环境化学, 2011, 30(7): 1348-1353.
- YANG J W, ZHONG L Y, GUO R F. Release of $Mn(II)$ during organic acid promoted dissolution of latosol[J]. Environmental Chemistry, 2011, 30(7): 1348-1353.
- (上接第 342 页)
- [34] 邵祎婷, 何毅, 穆兴民, 等. 秦巴山区降雨侵蚀力时空变化特征[J]. 长江流域资源与环境, 2019, 28(2): 416-425.
- SHAO Y T, HE Y, MU X M, et al. Spatiotemporal variation of rainfall erosivity in Qin-Ba Mountains region [J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2019, 28(2): 416-425.
- [35] 刘纪远, 宁佳, 匡文慧, 等. 2010—2015 年中国土地利用变化的时空格局与新特征[J]. 地理学报, 2018, 73(5): 789-802.
- LIU J Y, NING J, KUANG W H, et al. Spatio-temporal patterns and characteristics of land-use change in China during 2010—2015[J]. Acta Geographica Sinica, 2018, 73(5): 789-802.
- [36] 王明浩, 王文杰, 吴坤, 等. 人类活动干扰下土地利用强度异质性特征分析: 以中山市为例[J]. 环境工程技术学报, 2015, 5(4): 284-292.
- WANG M H, WANG W J, WU K, et al. Characterizing land use spatial heterogeneity driven by human activities: A case study in Zhongshan city[J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2015, 5(4): 284-292.