

土壤中水溶性有机质的结构特征及其与富里酸、胡敏酸的比较

周江敏^{1,2} 代静玉^{1*} 潘根兴¹

(1 南京农业大学资源与环境学院 南京 210095; 2 四川农业大学环境保护系 雅安 625014)

摘要 采用元素分析、¹H-NMR 和 FTIR 研究了黄泥土中水溶性有机质组成及结构特征,并与富里酸、胡敏酸进行比较。结果表明:胡敏酸含有大量的芳香族不饱和物质,烷基链烃多,支链长;富里酸以含有大量的羧基为主要结构特征;水溶性有机质主要由碳水化合物组成,含有大量的羟基,芳香族不饱和物质少。

关键词 水溶性有机质;结构特征;富里酸;胡敏酸

中图分类号 X705

水溶性有机质 (Dissolved Organic Matter, DOM) 是指土壤与水体中由一系列大小、结构不同的分子组成的,且能通过 0.45 μm 滤膜的,能溶于水的有机物的总称^[1]。研究表明,虽然 DOM 在土壤中的含量不到土壤总有机质的 1%,但对土壤营养物质的活化、重金属和有机污染物的迁移转化有极其重要的作用^[2]。对于土壤有机物的研究,过去大多集中在腐殖质方面,而关于 DOM 近 10 年来受到不断重视。已有的研究表明^[3],DOM 与富里酸、胡敏酸在组成上有相似之处,DOM 组分中有一部分由富里酸和胡敏酸组成,但总体上在化学结构、分子量和极性方面都存在很大区别。进一步认识 DOM 的组

成与结构特征是阐明其与环境污染物作用机理的重要基础工作。

本研究对黄泥土中 DOM 的结构特征进行研究,并与胡敏酸、富里酸进行比较,为阐明 DOM 在环境中的作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

土壤样品采自江苏省吴江市黄泥土,轮作方式为水稻-油菜。在田间按蛇形采样法随机采取 0~15 cm 表层土,带回室内并用塑料袋密封置于 4℃ 避光保存。土壤的基本理化性质见表 1。

表 1 供试土壤基本性质

Table 1 Basic properties of the soil studied

供试土壤	pH	SOC (g/kg)	DOC (mg/kg)	总 N (g/kg)	颗粒组成 (g/kg)		
					砂粒 (20~200 μm)	粉砂粒 (2~20 μm)	粘粒 (<2 μm)
黄泥土	5.90	21.80	12.03	0.88	276.9	389.0	248.3

1.2 土壤水溶性有机质、富里酸、胡敏酸样品的制备

水溶性有机质 (DOM) 采用水浸提。将新鲜土样作水分校正后与超纯水 1:2 混合,连续振荡 5 h,然后 4000 r/min 离心 10 min,上清液过 0.45 μm 滤膜,滤液中的有机物即为 DOM^[4],其浓度采用 TOC 仪测定。滤液经电渗析去离子后,40℃ 旋转蒸发浓缩冻干,磨碎备用。

富里酸 (FA) 和胡敏酸 (HA) 样品的分离与制备采用国际腐殖酸协会 (International humic substance society, IHSS) 分组制备方法^[5]。

1.3 分析测定

用 Foss Heraeus CHN-O-Rapid 型元素分析仪进行元素分析,在 750℃ 温度下灰化 4 h,称重确定灰分含量,O 的含量由总重量减去灰分、C、H、N 的重量计算,以除去灰分的纯有机质为基数计算各

项目来源:国家自然科学基金(20177009)

*通讯作者

元素的相对百分含量;用 KBr 压片法在 Nexus 870 型傅里叶红外光谱仪上测定红外光谱;在 Bruker DRX500 仪器上进行核磁共振测定, ^1H 的共振频率为 79.452 MHz, DMSO- d_6 为溶剂。

2 结果与分析

2.1 元素组成

元素组成分析是判别有机质结构和性质最简单、最重要的方法之一。通过计算其 H/C、O/C、

N/C 等,可以简单判断有机质的可能组成与结构^[6]。表 2 列出了 DOM、FA 与 HA 的元素组成。

从表 2 可以看出,DOM 的 C、N 含量均少于 FA 和 HA,而 O、H 含量则大于 FA 和 HA,表明 DOM 是一种富氢氧的有机物质。DOM 的 H/C 和 O/C 均大于 FA 与 HA,表明 DOM 中 C、H 饱和度高,芳香族类不饱和物质少,含有较多碳水化合物、羧基或羟基类物质^[7],而 FA 与 HA 则 C、H 饱和度低,表明含有较多芳香族不饱和物质^[7]。

表 2 DOM、FA 与 HA 的元素组成

Table 2 Elemental composition of DOM, FA and HA

有机组分	元素组成 (g/kg)				原子比		
	C	H	O*	N	H/C	O/C	N/C
DOM	411.6	81.2	464.9	42.3	2.37	0.85	0.088
FA	513.1	51.4	392.8	42.7	1.20	0.57	0.071
HA	535.0	55.0	354.0	52.7	1.31	0.50	0.084

* O (g/kg) = 1000 - C - H - N - 灰分。

2.2 FTIR 图谱分析

3 种不同有机组分的红外图谱见图 1。根据 Kaisert^[8]、顾志忙等^[9]的图谱解析,具体各波数处的归属列于表 3。

由图 1 可见,3 种有机组分各吸收峰的强度有明显差异,预示着不同有机质在官能团的组成及结构特征上有较大差别。HA 在 2930 cm^{-1} 处吸收峰明显比 FA、DOM 强,而且 HA 在 2850 cm^{-1} 有一肩峰出现,表明 HA 脂肪族类物质多于 FA 和 DOM。同时,HA 图谱在 1600 cm^{-1} 处也出现了很强的吸收峰,

表明含有较多芳香族不饱和物质,这与元素分析结果一致。

FA 的红外光谱图强吸收峰出现在 3370 cm^{-1} 、1720 cm^{-1} 、1210 cm^{-1} 和 1050 cm^{-1} 处,其中 1720 cm^{-1} 信号峰最强,3500 cm^{-1} ~3370 cm^{-1} 宽吸收带和 1720 cm^{-1} 强吸收峰是-COOH 的表征^[10],表明 FA 富含-COOH,而 HA 和 DOM 中吸收峰强度明显偏弱。蒋疆等^[11]研究草炭提取的 FA、HA、DOM 官能团组成特征也表明 FA 中-COOH 含量显著高于 DOM 与 HA。

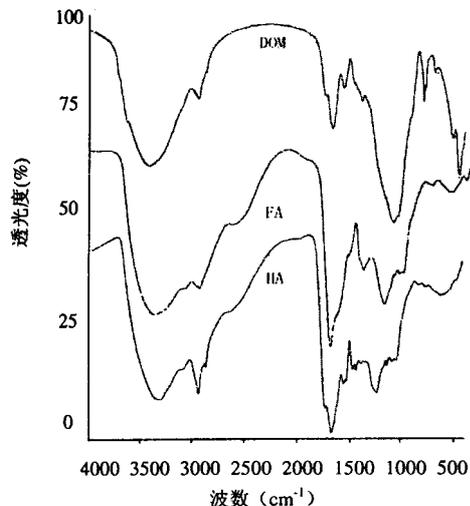


图 1 DOM、FA 与 HA 的红外图谱

Fig. 1 Infrared spectra of DOM, FA and HA

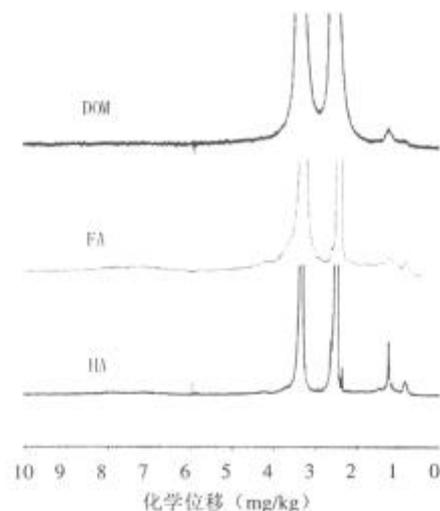


图 2 DOM、FA 与 HA 的 ^1H -NMR 图谱

Fig. 2 ^1H -NMR spectra of DOM, FA and HA

表 3 红外光谱的特征吸收带归属
Table 3 Attribution of absorption bands in FTIR spectra

吸收带位置 (cm ⁻¹)	归 属
3500 ~ 3300	-COOH、苯酚及醇中的-OH 伸缩振动和 N-H 伸缩振动
3000 ~ 2800	脂肪族中-CH ₃ 、-CH ₂ -的-C-H 的伸缩振动
1720	分子间分子内形成的氢键的-C=O 的伸缩振动
1650~1600	醛、酮中-C=O 的伸缩振动或芳香基上的 C=C 伸缩振动
1555	酸伸酰胺的-N-H 的振动
1510	芳香基上的 C=C 的伸缩振动
1450~1400	脂肪族 CH ₃ 和 CH ₂ 中 C-H 的振动, 羧基上的不对称伸缩振动或 C-OH 的变形振动
1240~1200	羧基上的 C-O 不对称伸缩振动, 羧基上的 C-OH 变形振动
1170~1150	脂肪族上的 C-OH、C-O 伸缩振动
1080~1020	酚类或醇类上的 C-O 不对称伸缩振动

DOM 的红外光谱图强吸收峰出现在 3400 cm⁻¹ 和 1040 cm⁻¹, 其主要官能团为-OH和-C-O, 1600 cm⁻¹ ~ 1700 cm⁻¹ 处吸收峰明显变弱, 可见 DOM 组成中含有较多多糖成分, 芳香族不饱和物质含量少。Lin 等^[12]认为-C-O 是 1 价和 2 价金属离子的潜在螯合中心, DOM 对营养元素及重金属的络合可能与其含大量的-C-O 官能团有关。

2.3 ¹H-NMR 分析

DOM、FA 与 HA 的 ¹H-NMR 谱见图 2。根据已有的图谱解析^[13,14], 这些图谱的化学位移主要分

为 3 个区域:(1) 0.5~2.8 mg/kg, 信号主要归属于脂肪族物质中甲基或亚甲基中 H 的吸收, 其中 2.5 mg/kg 为 DMSO-d₆ 的溶剂峰;(2) 2.8~5.5 mg/kg, 信号主要归属于连 O (或 N) C 上的 H (主要为碳水化合物)与脂环族 H 的吸收;(3) 6.0~10.0 mg/kg, 信号主要归属于芳香结构中的 H 及连氧 H 的贡献。将样品的总积分面积扣除溶剂峰的积分面积后的总 H 量假定为 100%, 各段化学位移的积分面积占总 H 量的比值来表示它们的相对含量, 结果见表 4。

表 4 DOM、FA 和 HA 各类质子的相对含量 (g/kg)

Table 4 Relative contents of DOM, FA and HA

有机组分	0.5~1.0mg/kg	1.0~1.9mg/kg	1.9~2.8mg/kg	2.8~4.0mg/kg	4.0~5.5mg/kg	6.0~10mg/kg	烷基链烃-H	n
DOM	9.6	37.8	25.9	823.8	50.2	52.7	73.3	27.0
FA	26.7	81.4	32.8	767.5	32.8	58.7	140.9	40.3
HA	29.3	107.7	30.2	617.5	100.7	114.7	167.2	52.1

注: 烷基链烃-H 为化学位移 0.5 ~ 2.8 mg/kg 积分面积之和占总 H 量的比值;

n 由 \bar{a} -H、 \hat{a} -H 和 \acute{a} -H 的相对含量计算, $n = (\bar{a}/3 + \hat{a}/2) / (\acute{a}/2) + 1$ 。

由图 2 可见, DOM、FA 和 HA 均在化学位移 0.9 mg/kg 处有强度不等的共振信号, 归属于多支链脂肪族结构和聚亚甲基链的末端甲基中 H 的吸收, 即为 \bar{a} -H^[13]。其信号峰的强度表现为 HA>FA>DOM。在化学位移 1.0 ~ 1.9 mg/kg 段出现的信号峰归属于脂肪族结构中亚甲基 H 的吸收, 即为 \hat{a} -H^[13]。3 种有机组分在化学位移 1.14 mg/kg、1.23 mg/kg 等处都有强度不等的共振信号, 其信号峰的大小与 \bar{a} -H 趋势相同, 即 HA>FA>DOM。化学位

移 2.0 ~ 2.8 mg/kg 的信号峰, 主要归属于与各官能团连接的脂肪族 \acute{a} -H^[13]。其中溶剂峰 DMSO-d₆ 也在此出现, 掩蔽了其它一些信号。 \acute{a} -H 的相对含量以 FA 最高, DOM 最少。由表 3 可见, 不同有机组分烷基链烃-H 相对含量表现为 DOM<FA<HA。同时, n 值的大小依次为 DOM<FA<HA, 表明 DOM 与 FA 和 HA 相比, 具有烷基链烃含量少, 支链短, 分支多的特点, 而 HA 则含有大量的长链烷烃。

图 2 图谱中化学位移 2.8 ~ 4.0 mg/kg 段各有机

组分均出现了很强的信号峰,可见各类有机组分中均含有较多的碳水化合物,其中溶剂中残余水的吸收峰(3.3 mg/kg)也在此出现,可能夸大了其相对含量,但在同一溶剂中水峰所占的比例相同,因此并不影响相对比例。由表 3 可见,此信号峰所占的比例在不同有机组分中存在差异,HA 中所占的相对比例最少,为 61.75%,碳水化合物的相对含量较少;而 DOM 中其相对比例为 82.38%,表明碳水化合物是 DOM 的主要组成物质,同时也验证了元素分析与 FTIR 的分析结果。FA 中碳水化合物的相对含量介于 HA 与 DOM 之间。

各有机组分在化学位移 6.0~10.0 mg/kg 段均没有出现尖锐的信号峰,根据积分面积的相对含量,HA 中芳香族-H 的相对含量最大,为 100.7 g/kg 左右。据 Dou^[15]研究表明黄泥土 HA 中芳香族 C 的含量为 300~400 g/kg,¹H-NMR 中芳香族 H 较少的的原因,主要是芳香环上的 H 被其它官能团所取代。FA 中芳香族 H 的相对含量略高于 DOM。FA 与 DOM 中芳香族 H 也可能由于官能团的取代导致相对含量偏低,而使得芳香族类物质的含量在 3 种有机质中无法比较。但综合上述元素分析与 FTIR 分析的结果,仍表明 HA 中含有较多的芳香族类物质,DOM 中芳香族和不饱和物质少。

3 讨论

DOM 的组成及结构特征是土壤学、生态学及环境学领域共同关注的问题。Candler 等^[10]研究云杉林土壤中不同剖面层次不同季节 DOM 的结构特征表明,碳水化合物是 DOM 的主要组成物质,芳香族物质含量少,烷基 C 的含量从 L 到 Bhs 呈增加的趋势,且 ¹³C-NMR 证实碳水化合物的结构类似于糖醛酸与蔗糖;不同层次不同季节 DOM 的化学组成不同主要在于碳水化合物组成的不同。Armando^[16]等研究表明不同土地利用方式下土壤 DOM 的主要组成成分为碳水化合物,从而使得 DOM 在营养元素的迁移与转化中有重要作用。蒋疆等^[11]采用红外光谱和 ¹³C-NMR 研究了由草炭提取 HA、FA 和 DOM 的组成与结构特征,结果表明 DOM 的结构以碳水化合物及多糖为主。本研究由黄泥土提取的 DOM 主要组成物质为碳水化合物,芳香族物质含量少,烷基链烃含量少且支链短。

关于比较 DOM 与 FA、HA 结构特征的研究资料较少。Grass 等^[3]认为,DOM 组分中大约 25%~

50% 为腐殖酸和富里酸组成,其余的组分主要是蛋白质、多糖和亲水性有机酸。Homann 等^[17]认为,DOM 中分子量小于几千道尔顿的成分主要包括脂肪酸、芳香酸、氨基酸、单糖、低聚糖和低分子量的富里酸,而高分子量的 DOM 主要包括结构复杂的物质,如高分子量的富里酸和胡敏酸。蒋疆等^[11]研究结果显示,HA 含有大量的长链烷烃,FA 与 DOM 结构相近,以碳水化合物及多糖为主,FA 羧基含量最多。本研究 DOM 与 FA 和 HA 结构特征有明显差异,HA 含有大量的芳香族物质,烷基链烃物质多且支链长,分支少;FA 以含有大量的羧基为主要结构特征,DOM 则以碳水化合物为主要组成物质,含有较多的多糖成分,芳香族不饱和物质少,烷基链烃物质少且支链短,分子结构简单。DOM、FA 以及 HA 结构特征不同与其形成有密切关系,HA 与 FA 是土壤中经高度腐殖化作用的有机质,而 DOM 是微生物降解腐殖质和动植物残体产生的小分子物质。DOM、FA 与 HA 组成结构的差异,预示着它们对污染物环境行为具有不同的作用。

参考文献

- 1 Kalbitz K, Solinger S, et al. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils A Review. *Soil Science*, 2000, 165 (4): 277 ~ 304
- 2 Riffaldi R, Levi-Minzi R, et al. Adsorption on soil of dissolved organic carbon from farmyard manure. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1998, (69): 113 ~ 169
- 3 Grasso D, Chin YP, et al. Structural and behavioral characteristics of a commercial humic and natural dissolved aquatic organic matter. *Chemosphere*, 1990, 21(10-11): 1181 ~ 1198
- 4 陶澍, 曹军等. 土壤中水溶性有机碳测定中的样品保存和前处理方法. *土壤通报*, 2000, 31 (4): 174 ~ 176
- 5 Kuwatsuka S, Tsutsuki K, et al. Chemical studies on soil humic acids. I. Elemental composition of humic acids. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 1978, 24: 337 ~ 347
- 6 Ma Huizhong, Herbert E, et al. Characterization of isolated fraction of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. *Wat. Res.*, 2001, 35 (4): 985 ~ 996
- 7 Christensen JB, Jensen DL, et al. Characterization of the dissolved organic carbon in landfill leachate-polluted groundwater. *Wat. Res.*, 1998, 32(1): 125 ~ 135

- 8 Kaiser K, Zech W. Natural organic matter sorption on different mineral surfaces studies by DRIFT spectroscopy. *Science of Soils*, 1997, 2: 71 ~ 74
- 9 顾志忙, 王晓蓉等. 傅里叶变换红外光谱和核磁共振法对土壤中腐殖酸的表征. *分析化学*, 2000, 28 (3): 314 ~ 317
- 10 Candler R, Zech W, et al. characterization of water-soluble organic substances from a typic dystrochrept under Spruce using GPC, IR, ^1H -NMR and ^{13}C -NMR Spectroscopy. *Soil Sci.*, 1988, 146: 445 ~ 452
- 11 蒋疆, 王果等. 草炭溶解态有机物质与 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 络合稳定性的研究. *土壤与环境*, 2002, 11(2): 116 ~ 120
- 12 Lin WO, Alt HG. ^1H and ^{13}C -NMR spectroscopic evidence for the complexation of potassium cations by cyclohexanedioxydiacetamides. *Z. Naturforsch.*, 1985, 406: 441 ~ 442
- 13 Wilson MA., Collin PJ, et al. ^1H -nuclear magnetic resonance study of a soil humic acid. *Jounal of Soil Science*, 1983, 34: 297 ~ 304
- 14 奚森, 华士英. 施用有机肥料对胡敏酸结构特征的影响 — 胡敏酸的 ^1H -核磁共振波谱. *土壤学报*, 1997, 34 (3): 225 ~ 234
- 15 Dou S, Tan SW, et al. Effect of pig manure application on structural characteristics of humic acid. in *Brown soil. Pesosphere*, 1991, 1 (4): 345 ~ 354
- 16 Armando SN, Darwin L, et al. Cultivation effects on the nature of organic matter in soils and water extracts using CP/MAS ^{13}C -NMR spectroscopy. *Plant and soil*, 1996, 184: 207 ~ 217
- 17 Homann PS, Grigal DF. Molecular weight distribution of soluble organics from laboratory-manipulated surface soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1992, 56: 1305 ~ 1310

STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF DISSOLVED ORGANIC MATTER: FULVIC AND HUMIC ACIDS IN SOIL

ZHOU Jiang-min^{1,2} DAI Jing-yu¹ PAN Gen-xing¹

(1 *College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095;*

2 Department of Environmental Protection, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014)

Abstract Dissolved organic matter (DOM) from the Huangnitu was studied by means of elemental composition analysis, FTIR and ^1H -NMR and compared with fulvic and humic acids. Results show that DOM, fulvic and humic acids differ widely. Humic acid has a high content of aromatic unsaturated substances and alkyl hydrocarbons with long branched chains; fuvic acids is characterized by large amount of carboxylic functional group, and DOM consists primarily of carbohydrate, containing a lot of hydroxyl and little of aromatic unsaturated substances .

Key words Dissolved organic matter (DOM), Structural characteristics; Fulvic acids (FA), Humic acids (HA)