

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2020.06.001

周萌, 肖扬, 刘晓冰, 等. 土壤活性有机质组分的光谱分析方法及应用. 土壤, 2020, 52(6): 1093–1104.

土壤活性有机质组分的光谱分析方法及应用^①

周 萌^{1,2,3}, 肖 扬^{1,2}, 刘晓冰^{1,2*}

(1 东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150030; 2 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150081; 哈尔滨市农业科学院生物中心, 哈尔滨 150028)

摘 要: 光谱分析方法是利用光谱学的原理和实验方法, 来确定所测物质的结构及其化学组成和相对含量的方法。土壤活性有机质 (labile organic matter, LOM) 是生态系统管理措施早期且快速的敏感指标, 对土壤质量的变化研究有重要意义。近年来, 土壤 LOM 的含量变化逐渐成为土壤科学工作者研究的焦点。土壤 LOM 的组分有物理、化学、生物学和联合分组所分离出来的各种不同组分。土壤 LOM 组分的数量测定方法具有不确定性和难比较性, 而应用光谱特性的质量变化的分析方法可以补充和验证数量变化的规律, 由此获得准确、详实的结果。本文对利用现代分子技术进行有机质结构表征的紫外-可见光谱 (UV-vis)、傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、三维荧光光谱 (3DEEM) 和固态核磁共振碳谱 (¹³C-NMR) 的光谱分析方法进行了详述, 并对这些方法在 LOM 研究的应用进展进行了概述。提出应针对不同的研究目的, 选择适合的光谱分析技术, 推荐了每种土壤 LOM 组分所适用的光谱分析方法, 为研究解析土壤 LOM 的数量和质量变化规律提供了技术参考。

关键词: 土壤活性有机质; 光谱技术; 结构分析; 土壤质量

中图分类号: S158.5; O433.4 **文献标志码:** A

Methods and Applications of Spectral Analysis for Soil Labile Organic Matter Components

ZHOU Meng^{1,2,3}, XIAO Yang^{1,2}, LIU Xiaobing^{1,2*}

(1 College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2 Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China; 3 Department of Biological Center, Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150028, China)

Abstract: Spectral analysis is a method that applies the principles of spectroscopy and experimental means to determine the structure, chemical composition and relative content of the measured substance. Soil labile organic matter (LOM) is an early and rapid sensitive indicator to ecosystem management measures, which is of significance to the study of soil quality changes. Soil LOM has been a study focus in recent years, it has various components separated by physical, chemical, biological and combined grouping. The quantitative methods in determining soil LOM components have uncertainty and difficulty, in which the analytical approach of quality change by applying spectral analysis can complement and validate the quantitative changes in obtaining accurate and detailed results. In this paper, the spectroscopic analysis methods for structural characterization of organic matter using modern molecular technologies including ultraviolet-visible spectrum (UV-vis), Fourier transform infrared spectrum (FTIR), three-dimensional fluorescence spectrum (3DEEM) and solid-state nuclear magnetic resonance spectrum (¹³C-NMR) were described in detail, and their applications and advances in soil LOM determination were also summarized. It is proposed that appropriate spectral analysis techniques should be selected according the study purposes. Specific spectral analysis method is recommended suitable for each soil LOM component. The paper could provide a technical reference for examining the quantity and quality changes of soil LOM.

Key words: Soil labile organic matter; Spectral technique; Structural analysis; Soil quality

①基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFC0504202、GX18B028), 国家自然科学基金项目 (41671274), ANSO 世界黑土联合会项目 (ANSO-PA-2020-12) 和国家土壤质量数据中心观测监测项目 (ZX02S080400) 资助。

* 通讯作者(liuxb@iga.ac.cn)

作者简介: 周萌(1988—), 女, 黑龙江哈尔滨人, 农艺师, 博士研究生, 主要从事土壤肥力管理研究。E-mail: zhoumeng0416@neau.edu.cn

土壤有机质(soil organic matter, SOM)是生态系统中非常重要的物质,它不仅对土壤团聚体结构和透水性有改善作用,对土壤物理化学和生物学以及“温室效应”有调控作用,而且对重金属的吸收与转化也有促进作用^[1-3]。SOM 对陆地生态系统(尤其是生物圈和大气圈)的可持续发展有决定作用^[4],研究 SOM 的含量变化可以为土壤质量、土地利用以及土壤健康评价等方面提供一定的理论依据,同时为全球气候变化和碳氮循环研究提供一定的数据基础^[5]。

但是,Stevenson^[6]研究发现,SOM 降解慢并存在滞后性,研究其短期含量变化实际意义不大,而土壤活性有机质(labile organic matter, LOM)的含量虽然较少,其对环境条件的变化比 SOM 更敏感,是生态系统管理措施的早期且快速的指标。土壤 LOM 指的是土壤有机质的活性部分,其在土壤中具有较高的有效性和一定的溶解性,容易被土壤微生物氧化、矿化,而且对植物的养分供应有最直接的作用^[7]。土壤 LOM 在生态系统中至少起着 3 方面作用:①它对土壤物质循环具有表征意义,有助于土壤质量的评价;②它对土壤结构有一定的稳定作用,对团粒结构稳定性的维持具有重大意义;③它是植物的养分库,对养分周转有重要作用,能够提供氮、磷、硫等植物需要的养分。因此,土壤 LOM 具有很大的研究潜力和研究价值,是近些年来土壤科学工作者研究的焦点^[8]。

土壤 LOM 通过物理、化学、生物学^[9]以及联合分组^[10]的方法可以分离出不同的组分,诸如:①物理组分:轻组有机质(light fraction organic matter, LFOM)、颗粒有机质(particulate organic matter, POM)、大团聚体有机质(macro-aggregate organic matter, MAOM);②化学组分:酸碱提取有机质(富啡酸, fulvic acid, FA)、溶解性有机质(dissolved organic matter, DOM)、酸水解有机质(acid hydrolyze organic carbon, AHOC)和易氧化有机质(readily oxidized organic matter, ROOM);③生物学组分:微生物生物量碳、氮(microbial biomass carbon and nitrogen, MBC、MBN)和潜在可矿化碳、氮(potentially mineralizable carbon and nitrogen, PMC、PMN);④联合分组组分:物理保护有机质(iPOM)和游离活性有机质(cPOM、fPOM)^[11]。

针对土壤 LOM 组分的数量,学者们已经开展了广泛的研究^[12-17]。但由于土壤 LOM 组分的数量测定的分析方法至今还没有完全统一,加之每次试验外部条件的控制不可能完全相同,分析结果通常存在不确定性和难比较性,需要对土壤 LOM 组分的质量(分子

结构)进行深入研究。光谱分析不仅可以了解 LOM 内部分子的结构特性,而且具有操作简便、分析速度快、选择性好、灵敏度高和所需样品量少等优势^[18],越来越受到科研工作者的关注。各种结构的物质都有其独一无二的特征光谱,光谱分析是利用光谱学的原理(特征光谱)和实验方法来确定所测物质的结构及其化学组成和相对含量(化学成分分析)的方法^[19],它的基础理论为原子光谱学和分子光谱学。光谱法主要分为吸收光谱(物质粒子对光的吸收)和发射光谱(光源所发出的光谱),吸收光谱是在连续发射光谱的背景中所呈现出的暗线^[20-21]。常见的吸收光谱有紫外-可见吸收光谱、红外吸收光谱和原子吸收光谱等,而常见的发射光谱有荧光发射光谱和原子发射光谱等^[22]。

对于土壤 LOM 组分来说,由于生物学组分分离出的组分是气态的已知成分,因此没有必要进行光谱分析,而其他 3 种分组方法分离出的组分并不是单一的物质,而是混合物,因而有必要对它们进行光谱分析,探究其内部物质的结构组成。本文对研究土壤 LOM 内部结构的紫外-可见光谱(ultraviolet-visible spectrum, UV-vis)、傅里叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectrum, FTIR)、三维荧光光谱(three-dimensional fluorescence spectrum, 3DEEM)和固态核磁共振碳谱(solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy, ¹³C-NMR)分析技术进行了详述,并提出了每种土壤 LOM 组分所适宜的光谱分析方法,以期为研究解析土壤 LOM 的数量和质量变化规律提供技术参考。

1 紫外光谱

1.1 紫外光谱的基本原理

紫外和可见吸收光谱是由分子中价电子的跃迁所产生的,分子中价电子经紫外或可见光照射时,电子从低能级跃迁到高能级的过程中吸收了相应波长的光^[23]。紫外吸收光谱的波长范围是 100 ~ 400 nm,其中,100 ~ 200 nm 为远紫外区,200 ~ 400 nm 为近紫外区,一般的紫外光谱是指近紫外区,也就是 UV-vis 光谱^[24]。

1.2 紫外光谱分析方法的优缺点

UV-vis 光谱具有需样量小、操作简便、样品破坏少和灵敏度高优势。但是,在对被测物质进行分析时主要振动键有时会结合,而且由于在近紫外区只能观察到 $\pi \rightarrow \pi^*$ 和 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁,因此,它只适用于具有不饱和结构的化合物^[25]。

1.3 紫外光谱分析方法的适用对象和条件

UV-vis 光谱分析方法可用于 DOM 的半定量分析,用来揭示土壤和水体中有机质的结构组成与性质^[26]。对于土壤中的活性有机质组分,利用化学分组得到的 FA、AHOM、DOM 和 ROOM 的液态物质都可以用 UV-vis 光谱测定其结构特征,以下把这些组分统称为“液态有机质”。

1.4 紫外光谱分析方法的研究进展和应用

利用 UV-vis 光谱研究 DOM 的 π - π 共轭双键在紫外光区的吸光性,可以揭示有机质结构以及判定其来源^[27-28],因此 UV-vis 光谱被广泛用于土壤 DOM 的研究^[29-31]。李璐璐等^[29]利用新鲜沉积物质的降解程度的光谱斜率之比(S_R),对三峡库区典型消落带的土壤和沉积物中 DOM 的光谱特性进行了研究,揭示出表层沉积物的芳香性、腐殖化程度和疏水性要明显高

于深层土壤中的 DOM。研究认为,土壤中的紫外光谱在不同地理条件下不同,而在同一地点因植被的不同也有所差异^[30-31]。

此外,DOM 的分子量大小、含量组成、疏水性、腐殖化、团聚化、取代基复杂程度等性质,可以通过 UV-vis 光谱特定波长下的紫外-可见吸光度值和两个特定波长下的吸光度比值表示(表 1)^[32-33]。Nishijima 和 Speitel^[34]通过对 DOM 在 254 nm 处的紫外光谱研究发现,在浓度一致时,DOM 的吸光度值和芳香性碳含量与腐殖化程度呈正相关,即其比值越高,所测物质芳香性越强、腐殖质类物质含量越高。已有研究认为,DOM 在 280 nm 处的紫外吸光度与分子量大小呈正相关^[35-36]。然而,土壤活性有机质的其他化学组分(FA、AHOM 和 ROM)在 UV-vis 光谱上应用研究得很少,有必要加强紫外光谱分析在土壤活性有机质组分研究上的应用。

表 1 紫外-可见光谱特征参数的特性及表征意义
Table 1 Characteristics and representational significances of UV-vis spectral parameters

指标参数	特性	表征意义	参考文献
A_{240}/A_{420}	反映有机质分子量和团聚化	与团聚化程度和分子量大小呈负相关	[33]
A_{250}/A_{365}	反映有机质腐殖化程度	与芳香性和分子量大小呈负相关	[37-38]
A_{253}/A_{203}	反映有机质分子结构和取代基情况	与取代基复杂程度呈正相关	[39]
A_{300}/A_{400}	反映有机质腐殖化和分子量状况	与腐殖化程度和分子量大小呈负相关	[33,40]
A_{465}/A_{665}	反映有机质聚合度和芳构化程度	与聚合度、芳构化程度和分子量大小呈负相关	[41]

注： A_{240}/A_{420} 指波长 240 nm 和 420 nm 处的紫外吸光度比值，其余指标参数含义类似。

2 红外光谱

2.1 红外光谱的基本原理

任何样品都可以得到一张红外光谱,基于被测物质红外光谱中吸收峰的位置、强度和形状,能够确定其分子中含有哪些基团,从而推断其分子结构^[42]。土壤 LOM 中最常用的红外光谱是 FTIR,连续波长的光源照射红外样品后,样品中的分子会吸收某些波长的光,检测器将检测到的未被吸收的光信号经过模数转换,再经过傅里叶变化,即得到所测样品的单光束光谱^[42]。在红外光谱中,被吸收的光的波长或波数位置会出现吸收峰,某一波长的光被吸收得越多,透射率越低、吸收峰越强,当样品中分子吸收多种波长的光时,所得的谱图中就会出现很多吸收峰^[42]。表 2 是土壤有机质的红外光谱特征吸收峰的归属信息。

2.2 红外光谱分析方法的优缺点

20 世纪 70 年代,FTIR 光谱的出现为红外光谱在土壤有机质结构测定中的研究提供了强有力的保障^[42]。然而,由于红外光谱很复杂,至今还不能完

全得到所有有机质的内部分子结构信息,但是它所提供的现有信息已经对探究土壤有机质的结构起到了至关重要的推动作用^[43]。FTIR 光谱具有灵敏度高、所需样品少、破坏性小、波数准确、重复性好、信噪比好、分辨率高等优点^[44],其不仅可以分析超薄薄膜(纳米级)的样品,而且利用红外光谱附件(例如红外显微镜)可以分析微克级甚至纳克级的样品^[42]。此外,FTIR 光谱不仅可以用于定性和定量(半定量)分析,还可以对未知物的结构组成进行剖析;其应用范围特别广泛,固液气各种形态、单一组分的纯净物和多种组分的混合物都可以用 FTIR 光谱测定^[45]。

2.3 红外光谱分析方法的适用对象和条件

对于土壤 LOM 的组分来说,物理分组和联合分组得到的都是固态有机质,而化学分组分离的是液态有机质,虽然上文中提到 FTIR 对物质的各种形态都可以进行分析,但是液态有机质在 FTIR 上的测试效果并不理想,最理想的物质形态为固态,这是因为水是强极性溶剂,其体系中含有大量的氢键,水溶液中的溶质会发生水化作用,使得溶质的光谱发生变化,

表 2 土壤有机质红外光谱特征吸收峰的归属^[9,43]
Table 2 Assignment of absorption bands in infrared spectroscopy of SOM

吸收峰位置(cm^{-1})	强度	归属
3 400	br	$\nu(\text{OH}\dots)$ 或 (NH) , 氢键缔合
3 030 ~ 3 060	w	$\nu(\text{CH})$, 芳烃
2 950	sh	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$, 脂肪族
2 925	s	$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$, 脂肪族和脂环族; $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$, 芳- CH_3
2 900	w, sh	$\nu(\text{CH})$, 脂肪族和脂环族
2 870	w, sh	$\nu_s(\text{CH}_3)$
2 850	m ~ s	$\nu_s(\text{CH}_2)$
2 600	v, br	$\nu(\text{OH}\dots)$, 羧酸
1 690 ~ 1 720	v	$\nu(\text{C}=\text{O})$, 酮、醛、酸
1 648 ~ 1 658	v w	$\nu(\text{C}=\text{O})$, 高度共轭
1 600 ~ 1 630	s	$\nu(\text{C}=\text{C})$, 酚芳环
1 560 ~ 1 590	s	$\nu_{\text{as}}(-\text{COO}-)$
1 490 ~ 1 550	sh	$\nu(\text{C}=\text{O})$, 芳环; $\text{U}(\text{N}-\text{H})$
1 450 ~ 1 460	m	$\text{W}_s(\text{CH}_2, \text{CH}_3)$
1 390 ~ 1 400	s	$\nu(\text{C}-\text{O})$, $\nu_{\text{as}}(-\text{COO}-)$, $\text{U}(\text{O}-\text{H})$ 酚
1 375 ~ 1 380	m	$\text{W}(\text{CH}_3)$
1 220 ~ 1 240	br	$\nu(\text{C}-\text{O})$, 酚、醚、醇、酯; $\text{U}(\text{O}-\text{H})$; $\nu(\text{C}-\text{C})$
1 440*	v	$\nu(-\text{CO}_3^{2-})$, 硅酸盐矿物
1 100 ~ 1 000*	v	$\nu(\text{Si}-\text{O})$, 硅酸盐矿物; $\nu(\text{C}-\text{O})$, 多糖
870*	v	碳酸盐物质

注: ν 强度变化, w 弱, v w 很弱, m 中等, s 强, sh 肩吸收, br 宽吸收; ν 伸缩振动, ν_{as} 不对称伸缩振动, ν_s 对称伸缩振动, U 面内弯曲振动, W 变形振动, W_s 对称变形振动; *为腐殖酸含有杂质时出现的吸收。

最终导致水溶液中溶质的光谱和固态的光谱会有很大的差异^[42]。因此, 如果不是特意研究水溶液状态下溶质的光谱, 就应该将水分除去, 最后测试固态样品的光谱。去除水分的方法有自然晾干、低温(40°C)烘箱烘干、氮气吹干和在干燥器中除水, 切忌不要用加热的方法或是真空泵除水, 以防止挥发性大的物质损失掉或样品发生化学变化^[46]。

2.4 红外光谱分析方法的研究进展和应用

红外光谱能够得到土壤的不同组分(如总碳、有机碳、无机碳、活性有机碳和可用碳等)信息^[46-47], 可以预测土壤有机质物理分组的团聚体不同粒径以及 POM 不同大小的结构组成^[47]。任雅阁等^[48]利用红外光谱技术的研究发现, 不同粒径的土壤水稳性团聚体中的有机质组成一致, 其丰度有差别; 微团聚体中稳定的芳香碳趋多, 而大团聚体有机碳中含有活性较高的碳(如脂肪碳、多糖碳等)。

红外光谱能够解析不同耕作措施下土壤 FA 的结构特征, 土壤 FA 主要以脂肪族碳(烷基碳和烷氧碳)为主, 随着土壤深度的增加, 免耕促进土壤 FA 中羰基、羧基和酚羟基含量的增加, 降低甲氧基和醇羟基的含量, 使其芳构化程度和氧化程度增强^[49],

2920/1620 的比值最低, 脂肪链烃分支程度最高^[50]; 而在垄作措施下, 土壤 FA 的芳香性较弱、脂族性较强^[50]。同时, 利用红外光谱也可以揭示施入秸秆后, 土壤 FA 的结构变化。土壤中施入玉米秸秆后, FA 的羧基含量减少, 并且由羧酸盐的形式向游离的羧基形式逐渐过渡, 降低了芳香碳的含量、氧化程度和芳香度, 增加了酰胺成分和脂族链烃结构成分, 最终使 FA 的分子结构趋于简单化^[51]。随着水稻秸秆燃烧次数的增加, 土壤 FA 中含有脂肪族的 C-O 和羟基碳含量也增加^[52]。

此外, 红外光谱在不同的信号峰区间能够鉴别出 DOM 中不同的基团大小, 同时也可以用于不同样本间的比较。DOM 的主要组成物质是碳水化合物, 多糖成分较多, 芳香族不饱和和烷基链烃物质少且支链短, 分子结构简单^[53-54]。倪文海等^[55]利用 FTIR 光谱研究水稻秸秆腐殖化过程中的 DOM 结构变化特性, 发现 DOM 的成分变化呈阶段性发展, 最初多为小分子物质的降解, 中期是纤维素分解, 最后是腐殖化时期, 因此 DOM 的分子结构逐渐从简单到复杂化。Santos 等^[56]还将 FTIR 光谱应用到雨水 DOM 的探索上, 研究表明, 雨水中的脂肪族 C-Hx 官能团多于自

然水体。因此,应用红外光谱分析方法将为深入探讨有机质活性组分及其结构的变化提供更多的信息。但是,基于我们的认知,发现 LFOM、AHOC、ROOM 和联合分组的组分在红外光谱上的应用不多,今后应该加强这些组分在红外光谱上的探讨。

3 荧光光谱

3.1 荧光光谱的基本原理

分子荧光光谱是利用某些物质分子受光照射所发生的荧光特性和强度,进行定性或定量分析的检测方法^[57]。其主要原理是:当被测物质吸收了特征频率的光子后,由最初的基态能级跃迁至电子激发态的各个不同振动能级,激发态分子经与周围分子撞击而消耗了部分能量,迅速下降至第一电子激发态的最低振动能级,并停留约 10^{-9} 秒之后,直接以光的形式释放出多余的能量^[58]。

3.2 荧光光谱分析方法的优缺点

荧光光谱包括荧光发射光谱、荧光激发光谱、同步荧光光谱和三维荧光光谱(three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy, 3DEEM)等^[58]。荧光发射光谱是在扫描过程中保持激发光的波长和强度不变,让荧光物质所发出的荧光通过发射单色器照射于检测器上,以荧光波长和荧光强度分别为横纵坐标所作出的谱图^[59]。荧光激发光谱是在扫描过程中保持发射光的波长和强度不变,让不同波长的激发光激发荧光物质使之发生荧光,而让荧光以固定的发射波长照射到检测器上,以激发光波长和荧光强度分别为横纵坐标所绘制的谱图^[59]。同步荧光光谱是在扫描过程中保持激发光与发射光的波长差不变,它与前两种相比,可以提供更多的官能团和结构信息,但是其受拉曼散射的影响程度很大,导致检测的选择性差、灵敏度低^[59]。3DEEM 可以同时获得激发波长和发射波长的荧光强度信息,是一种有用的光谱指纹技术^[60],与前面三者相比,其具有灵敏度高、破坏性和所需样品量小、操作简单、选择性好、信息量丰富、检测线低等优势^[18, 58, 60],以下主要对 3DEEM 进行介绍。

3.3 荧光光谱分析方法的适用对象和条件

3DEEM 和 UV-vis 光谱的适用范围类似,都是适合测定液态有机质的化合物,如上述 1.3 中提到的利用土壤有机质化学分组所得到的液态组分(FA、AHOM、DOM 和 ROM)均可以用 3DEEM 进行分析。

3.4 荧光光谱分析方法的研究进展和应用

3DEEM 的研究有普通寻峰法(peak picking)、平

行因子分析(PARAFAC)和荧光区域积分(FRI)等方法。普通寻峰法基于激发和发射波长分成的 5 个区域(表 3)所代表的不同物质种类可以追踪活性有机质的来源和比较腐殖化程度的大小^[61-62]。PARAFAC 和 FRI 技术可以克服所测样品中单个荧光组分的异质性困难^[63],其分析简便并且适用于多变量的数据分析,PARAFAC 将荧光光谱(EEM)分解成各自单独的荧光成分,并提供相对完整的有机质组分(例如 FA)的数据分析^[64];FRI 能够分析每个激发发射区域下的体积积分,并分析从 EEM 得到的所有波长的相关荧光强度的光谱数据^[65]。

表 3 激发和发射波长范围的 EEM 峰的位置归属和特征描述^[61-62]

Table 3 Locations and descriptions of EEM peaks in ranges of excitation and emission wavelengths

区域	激发波长(nm)	发射波长(nm)	特征描述
I	200 ~ 250	280 ~ 330	芳香类蛋白质荧光
II	200 ~ 250	330 ~ 380	芳香类蛋白质荧光
III	200 ~ 250	380 ~ 550	类富里酸荧光
IV	250 ~ 400	280 ~ 380	可溶性微生物类副产物荧光
V	250 ~ 400	380 ~ 550	类胡敏酸荧光

3DEEM 的普通寻峰法适用于研究非根际和根际(如玉米和大豆)土壤 DOM 的结构和组分^[66-68];苏打盐碱型水稻土中类富里酸、类腐殖物质以及含有不饱和和双键的芳香族化合物含量随种植年限而增加;施用有机肥有利于增加水稻土中 DOM 的质量分数^[69],中国东部土壤 DOM 具有相似的荧光光谱特征^[70]。应用 EEM-PARAFAC 和 FRI 方法,可以研究河口环境中有色溶解有机物(CDOM)^[63,71]、填埋型城市固体废弃物中的水提取有机物(DOM)^[72]以及土壤、堆肥中的 DOM 和 FA 的来源及腐殖化程度^[62,73]。Wu 等^[74]利用 EM-PARAFAC 和 EEM-FRI 两种方法对 DOM 的物质组成进行划分,能够快速准确地评价城市生活垃圾的生物学稳定性。谷思玉等^[75]利用 EEM-PARAFAC 技术对 FA 组分进行分析,揭示出盐渍土施用有机肥后主要增加生物可利用富里酸组分的比例,其次可增加陆生来源富里酸组分的比例。Zhao 等^[62]同样应用 EEM-PARAFAC 技术对不同材料的堆肥中 FA 组分的含量和分布进行研究,表明其腐殖化程度存在明显差异的原因是不同物料堆肥中的 FA 组成相似但其各组分的分布不同。杨威衫等^[76]应用 EEM-PARAFAC 技术揭示了草甸土 DOM 的来源、组成和性质对不同海拔气候条件的响应特性。

由此可见,对于土壤中的活性有机质组分,土壤

中 DOM 和 FA 组分应用荧光光谱进行研究的很多,但是,尚无利用化学分组提取出的 AHOC 和 ROC 进行 3DEEM 的研究,而利用该项技术研究这两个活性有机碳组分的来源,将为深入剖析土壤有机质的结构特征提供有价值的信息。

4 核磁共振

4.1 核磁共振的基本原理

20 世纪 40 年代,鉴定化合物结构的核磁共振(NMR)技术开始发展起来^[77]。原子核在外加磁场中发生能级裂分,在与外磁场垂直的方向上加交变电场,当射频频率等于进动频率时,发生共振,低能态原子核吸收射频能量,跃迁至高能态,称为核磁共振^[78]。产生核磁共振有 3 个必要条件:①原子核为磁性原子核(自旋量子数 $I \neq 0$);②磁性原子核处于强的外磁场中发生能级裂分,能级差与磁场强度成正比;③辐射的射频能量等于两个能级之间的能级差^[79]。

4.2 核磁共振分析方法的优缺点

NMR 是一种无损检测技术,样品预处理简单,谱图内容丰富,可以全面地提供被测物质的成分信息^[78-80]。此外,NMR 由于其分析测定技术的多样

化,可以分析固态和液态样品^[81]。鉴于此,NMR 技术在土壤科学(有机质)、植物科学(生物多样性)和生命科学(医药、生理和发育)等领域广泛应用^[82-86]。但是,在被测物质检测时,有时不同功能组的光谱峰由于重叠而不能区分开,其使用和分析成本也很高;而且,检测要求必须是纯物质,对混合物检测前必须进行萃取分离等预处理,这就对科研工作者处理土壤样品的技术提出了更高的要求^[78]。

4.3 核磁共振分析方法的适用对象和条件

SOM 检测中常用的 NMR 技术有 ^1H -NMR、液态 ^{13}C -NMR 和固态 ^{13}C -NMR。 ^1H -NMR 是发展最早且最简单的一维氢谱,具有灵敏度高、信息丰富、技术成熟、参数选择简单和规范性强等优势^[27]。SOM 成分很复杂(如土壤腐殖质中包括富啡酸、胡敏酸和胡敏素等多种多样的有机化学成分),利用 ^1H -NMR 谱图可以快速地鉴定这些成分,也可以用于物质的指认和追踪测量等方面,为科学试验提供指示性信息。但是, ^1H -NMR 只能测定液态样品,由于样品中残留的水可能会干扰试验结果,其检测的谱图具有较差的直观性和较低的分辨率^[87]。表 4 是 ^1H -NMR 图谱的划分区域及其具体的结构信息。

表 4 土壤有机质 ^1H -NMR 图谱的划分区域及其结构信息^[9,72]
Table 4 Division of ^1H -NMR spectrum of SOM and its structural information

化学位移 (mg/kg)	质子类型	化学结构
1.75 ~ 1.90	甲基质子(methyl proton)	$\text{CH}_3\text{-R}$
1.25 ~ 2.25	亚甲基质子(methylene proton)	$\text{R-CH}_2\text{-R}'$
1.75 ~ 2.75	亚甲基质子(methylene proton)	$\text{C=C-CH}_2\text{-R}$
1.75 ~ 3.75	次甲基质子(methine proton)	C=C-CHR_2
2.00 ~ 2.50	甲基质子(methyl proton)	$\text{CH}_3\text{-NR}_2$
2.25 ~ 2.75	亚甲基质子(methylene proton)	$\text{RCH}_2\text{-NR}_2$
2.75 ~ 3.25	次甲基质子(methine proton)	$\text{R}_2\text{CH-NR}_2$
2.25 ~ 4.25	甲基质子(methyl proton)	$\text{CH}_3\text{-X}$
3.20 ~ 4.50	亚甲基质子(methylene proton)	$\text{R-CH}_2\text{-X}$
3.50 ~ 5.00	次甲基质子(methine proton)	$\text{R}_2\text{CH-X}$
3.80 ~ 8.00	烯烃质子(olefinic proton)	C=CH
6.50 ~ 9.00	芳香烃质子(aromatic proton)	苯环-H
9.00 ~ 11.00	醛基质子(aldehydic proton)	RCHO
9.75 ~ 12.00	羧酸质子(carboxylic acid proton)	RCOOH

注: R 代表烷基; X 代表卤素、-OR、-NHCOR 和 -OCOR。

^{13}C -NMR 可以检测液态和固态的物质,液态 ^{13}C -NMR 具有较大的谱宽和很高的分辨率,可以指示更明确的信息,这为复杂体系的土壤样品中信号的归属提供了有力支撑^[88]。直到 20 世纪 70 年代,固态 ^{13}C -NMR 分析技术才开始应用于土壤学领域^[89],尽管其固态物质的偶极-偶极相互作用很强,分辨率

没有液态 ^{13}C -NMR 高,但是,固态 ^{13}C -NMR 技术的预处理简单方便,不需要用化学或者其他破坏内部结构的方法提取有机物质,谱图内容丰富,能够全面地提供被测物质的原始成分信息^[78]。表 5 是 ^{13}C -NMR 图谱的划分区域及其具体的结构信息,DOM 各组分的 ^1H 和 ^{13}C 图谱可参考代静玉等^[92]的研究。

表 5 土壤有机质 ¹³C-NMR 图谱的划分区域及其结构信息^[89-91]
Table 5 Division of ¹³C-NMR spectrum of SOM and its structural information

化学位移 (mg/kg)	结构信息	所代表的生物大分子化合物
0 ~ 45	烷基碳(alkyl carbon)	长链脂肪族(long chain aliphatic)、角质(cutins)、蜡质(waxes)、软木质(suberin)
45 ~ 60	甲氧基碳(methoxyl carbon)、含氧烷基碳(oxygen-alkyl carbon)	含氮烷基(nitrogen-alkyl)、木质素(lignin)、氨基酸(amino acids)
60 ~ 94	炔基碳(alkyne carbon)	醇类(alcohols)、聚炔烃(polyynes)、氨基糖(amino sugars)、塔日酸(tariric acid)、脱氢母菊脂(dehydromatricaria ester)
94 ~ 110	双氧烷基碳(di-oxygen-alkyl carbon)	半纤维素(hemicelluloses)
110 ~ 142	芳香碳(aromatic carbon)、苯环基碳(aryl carbon)	木质素(lignin)、单宁(tannin)
142 ~ 160	酚芳香基碳(phenolic carbon)	木质素(lignin)、软木质(suberin)、单宁(tannin)
160 ~ 190	羧基碳(carboxyl carbon)、酰胺碳(amide carbon)	酰胺(amide)、酯(ester)
190 ~ 220	羰基碳(carbonyl carbon)	醌(quinone)、酮(ketone)、醛(ester)

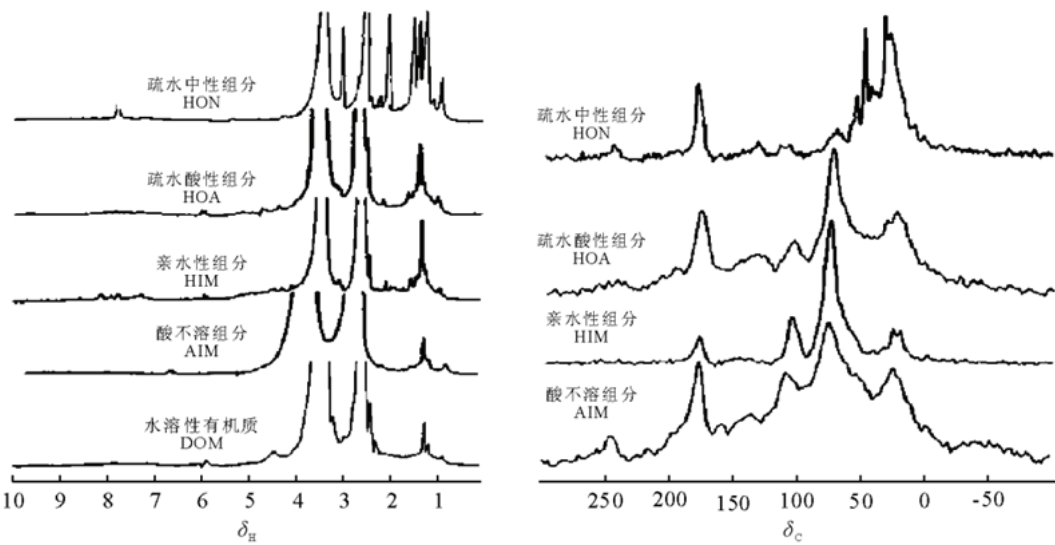


图 1 溶解性有机质(DOM)及其各组分的 ¹H 和 ¹³C 谱^[92]
Fig. 1 ¹H NMR and ¹³C NMR spectra of dissolved organic matter (DOM)

基于上面的分析,对于土壤活性有机质的不同组分来说,经过物理分组和联合分组分离出的固态活性有机质组分可以直接通过固态 ¹³C-NMR 检测,而经过化学分组提取出的液态活性有机质组分则要去除水分呈固态后再通过固态 ¹³C-NMR 检测,务必保证所提取的土壤活性有机质组分的杂质降到最低,这与红外光谱的适用范围相似。

4.4 核磁共振分析方法的研究进展和应用

利用固态 ¹³C-NMR 分析方法可以揭示出不同粒径团聚体组分的结构差异。通常情况下,随着团聚体粒径的减小,有机碳中的烷氧碳所占比例降低^[93-94],烷基碳和羧基碳相对含量逐渐增高^[95],但是芳香碳所占比例在不同土壤中变化不一致,有的增加^[96],有的减少^[97-98]。这可能是由于植物残体有机碳的组成

部分 50%~70% 为烷氧碳^[99],外源植物残体进入土壤后,优先聚集在大团聚体的有机碳中,大粒径的团聚体比微团聚体的植物分解程度低,随着植物残体的分解程度增加,逐渐转移至小粒径的团聚体有机碳中^[88];相对来说,随着分解过程的增加,选择性保留的有机物质(如软木脂和角质等)和微生物再次合成的物质会在小粒径的团聚体中积累,这导致了烷基碳和羧基碳的比例增加;芳香碳比例减少的原因可能是在分解初期,大团聚体中植物残体来源的木质素选择性保留的结果^[100]。

此外,利用固态 ¹³C-NMR 技术也可以对 LFOM、POM 和 DOM 的内部结构进行解析。LFOM 的来源主要是植物,其含有丰富的脂肪酸、软木脂、木质素二聚物、固醇和油脂,且 LFOM 对木质素进行选择

性富集的时候, 烷氧碳含量同时减少^[101-102]。不同土地利用方式下, LFOM 中烷氧碳的比例约为 50%, 烷基碳和芳香碳次之; LFOM 比闭蓄态有机质中的烷氧碳多, 而烷基碳少^[96,103]。江西水稻土的 POM 是由烷氧碳、烷基碳、芳香碳和羧基酚基碳组成, 其所占比例分别为 46%~53%、20%~26%、15%~21% 和 6%^[104]。DOM 中腐殖酸和富里酸的组成大约为 25%~50%, 其他的组分主要是多糖、蛋白质和亲水性有机酸^[105]。目前对于土壤活性有机质的液态组分应用 NMR 技术研究的很少, 今后可以尝试这些组分在

NMR 上的应用, 以期为土壤活性有机质不同状态的组分研究提供全面的技术参考。

5 结语与展望

综上所述, 土壤 LOM 常用的光谱分析方法有 UV-vis、FTIR、3DEEM 和固态 ¹³C-NMR, 基于各种分析方法的优点, 总结出每种活性有机质组分所对应适用的光谱分析方法(图 1)以及作用和劣势(表 6)。鉴于以上每种光谱的作用和劣势, 我们认为今后的研究应该从以下几个方面开展。

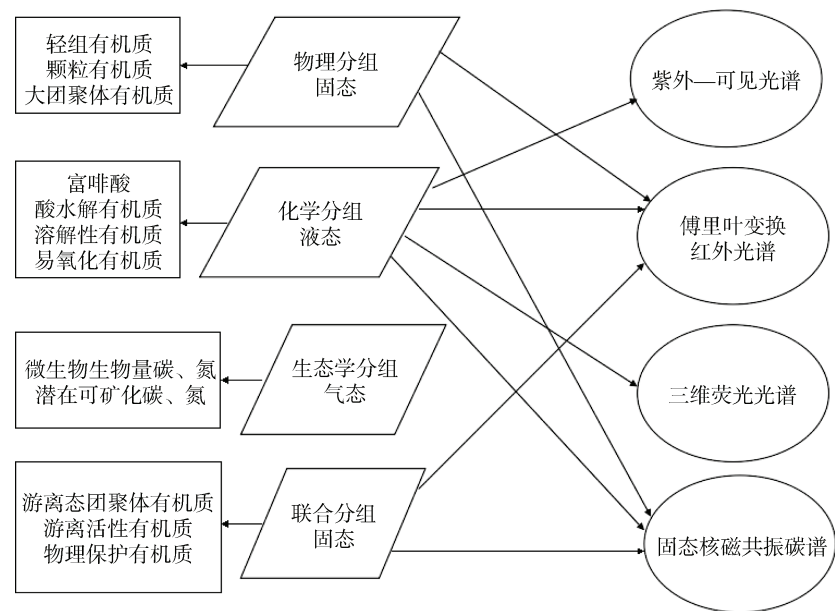


图 1 土壤各个活性有机质组分所适用的光谱分析方法
Fig. 1 Spectral analysis methods for soil LOM components

表 6 土壤活性有机质光谱分析方法的作用和劣势
Table 6 Roles and disadvantages of spectral analysis methods of soil LOM

光谱分析方法	作用	劣势	参考文献
紫外可见吸收光谱 (UV-vis)	用于土壤中活性有机质的半定量分析, 揭示其结构组成与性质	不适合分析含水样品, 其定量分析误差大, 主要振动键有时会结合, 而且图谱解析主要凭借经验	[29,106-107]
傅里叶变换红外光谱 (FTIR)	识别基本的含碳官能团, 特别是碳水化合物和脂肪族化合物	不适合分析含水样品, 其定量分析误差大, 主要振动键有时会结合, 而且图谱解析主要凭借经验; 主要是对化学成键进行鉴定, 而对于有机碳结构的识别能力有限; 检测要求必须是纯物质, 对混合物检测前必须进行萃取分离等预处理	[42,106-110]
三维荧光光谱 (3DEEM)	追踪活性有机质的来源和比较腐殖化程度的大小	只能大致检测出活性有机碳的来源归属, 检测前的样品如果浓度过高, 需要进行稀释, 要经过很多次重复才能掌握好稀释倍数, 且定量分析误差大	[111]
固态核磁共振碳谱 (solid-state ¹³ C-NMR)	识别活性有机质中的有机官能团, 其分子组成基于羧基、芳香族、烷氧基、甲氧基和烷基的化学峰位移不同而有所差异	不同的功能组的光谱峰由于重叠而不能区分开, 不能区分 O 替代的脂肪族碳和 N 替代的脂肪族碳, 同时也不能区分羰基和氨基化合物, 使用和分析成本很高; 检测要求必须是纯物质, 对混合物检测前必须进行萃取分离等预处理	[108-109, 112-114]

1) 将光谱学的定性、(半)定量分析和物理化学传统方法的定量分析有机结合, 共同探讨土壤 LOM 组分的数量和质量(内部分子结构)变化规律, 并根据不同的研究目的筛选切实可行的光谱分析技术, 多种分析技术相互印证, 才可能得出更为准确、详实的结果。

2) 将光谱分析方法与化学计量学结合, 利用各种模型深入、全面、准确地探讨土壤各活性有机质的结构信息。

3) 要真正了解有机化合物的分子量和官能团碎片的结构, 腐殖化过程中所形成的复杂化合物在聚合、缩合和多环芳烃共轭等性质方面的信息, 以及物质内部原子在空间分布状况结构的真正三维图像, 其他技术, 诸如热解-气相色谱法 (pyrolysis-gas chromatography, Py-GC)^[115]、质谱(mass spectrometry, MS)^[116]、拉曼光谱(raman spectroscopy, RS)^[117]、X 射线衍射(X-ray diffraction, XRD)图谱分析^[118]、扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)、透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)和电子力显微镜(atomic force microscope, AFM)^[119], 也是研究的有力工具。

参考文献:

- [1] 张启明, 陈仁霄, 管成伟, 等. 不同有机物料对土壤改良和烤烟产质量的影响[J]. 土壤, 2018, 50(5): 929-933.
- [2] 吴迪, 刘满强, 焦加国, 等. 不同有机物料接种蚯蚓对设施菜地土壤培肥及作物生长的影响[J]. 土壤, 2019, 51(3): 470-476.
- [3] 李敬王, 陈林, 张佳宝, 等. 砂姜黑土有机碳与微生物群落特性之间的关系[J]. 土壤, 2019, 51(3): 488-494.
- [4] 李小涵, 李富翠, 刘金山, 等. 长期施氮引起的黄土高原旱地土壤不同形态碳变化[J]. 中国农业科学, 2014, 47(14): 2795-2803.
- [5] Grandy A S, Porter G A, Erich M S. Organic amendment and rotation crop effects on the recovery of soil organic matter and aggregation in potato cropping systems[J]. Soil Science Society of America Journal, 2002, 66(4): 1311-1319.
- [6] Stevenson F J. "Humus chemistry: Genesis, composition, reactions"[M]. New York: John Wiley, 1994.
- [7] 沈宏, 曹志洪. 土壤活性有机碳的表征及其生态效应[J]. 生态学报, 1999, 18(3): 32-38.
- [8] 王清奎, 汪思龙, 冯宗炜, 等. 土壤活性有机质及其与土壤质量的关系[J]. 生态学报, 2005, 25(3): 513-519.
- [9] 窦森. 土壤有机质[M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [10] Stewart C E, Paustian K, Conant R T, et al. Soil carbon saturation: Implications for measurable carbon pool dynamics in long-term incubations[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(2): 357-366.
- [11] 周萌, 肖扬, 刘晓冰. 土壤活性有机质组分的分类方法及其研究进展[J]. 土壤与作物, 2019, 8(4): 349-360.
- [12] García-Díaz A, Marqués M J, Sastre B, et al. Labile and stable soil organic carbon and physical improvements using groundcovers in vineyards from central Spain[J]. Science of The Total Environment, 2018, 621: 387-397.
- [13] Li S, Zhang S R, Pu Y L, et al. Dynamics of soil labile organic carbon fractions and C-cycle enzyme activities under straw mulch in Chengdu Plain[J]. Soil and Tillage Research, 2016, 155: 289-297.
- [14] Shen Y F, Cheng R M, Xiao W F, et al. Labile organic carbon pools and enzyme activities of *Pinus massoniana* plantation soil as affected by understory vegetation removal and thinning[J]. Scientific Reports, 8(1): 1.
- [15] Stasik S, Wick L Y, Wendt-Potthoff K. Anaerobic BTEX degradation in oil sands tailings ponds: Impact of labile organic carbon and sulfate-reducing bacteria[J]. Chemosphere, 2015, 138: 133-139.
- [16] 关连珠, 姜雪楠, 张广才, 等. 添加稻草生物质炭对滨海水稻土有机质活性的影响[J]. 土壤, 2019, 51(1): 205-209.
- [17] 李奕, 刘玲玲, 房焕, 等. 长期施肥对水稻土碳氮矿化与团聚体稳定性的影响[J]. 土壤, 2019, 51(3): 451-457.
- [18] Henderson R K, Baker A, Murphy K R, et al. Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review[J]. Water Research, 2009, 43(4): 863-881.
- [19] 张顺平, 孙向阳, 祁娜, 等. 光谱分析法在土壤污染监测中的应用研究进展[J]. 吉林农业科学, 2012, 37(4): 21-24.
- [20] 刘勋, 李长春, 李双权, 等. 高光谱遥感技术在土壤研究应用中的进展[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(8): 18-21, 34.
- [21] 孙绮旋, 魏星, 刘珣, 等. 原子光谱/元素质谱在生命分析中的应用进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(5): 1340-1345.
- [22] 郭昊蔚, 李春霖, 龚淑英, 等. 光谱技术在茶叶理化指标检测中的研究进展[J]. 茶叶, 2019, 45(1): 9-12.
- [23] Dai D D, Wang X P, Yu Z, et al. Research on denoising ultraviolet spectrum signal with an improved effective singular value selection method[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(7): 2139-2143.
- [24] 代彩红, 吴志峰, 王彦飞, 等. 200 ~ 400 nm 短波紫外光谱辐射照度国家基准装置的研究与建立[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(8): 2640-2644.
- [25] Berrens L, Bleumink E. The influence of sugars on the U.V. absorption spectrum of proteins[J]. Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas, 1966, 85(1): 59-69.
- [26] 钱伟, 杨玉盛, 曾宏达, 等. 内河 DOM 降解的三维荧光、紫外光谱研究——以白马河为例[J]. 亚热带资源与环境学报, 2007, 2(3): 42-48.
- [27] 梁俭. 三峡库区消落带土壤溶解性有机质淹水释放行为与结构表征[D]. 重庆: 西南大学, 2016.
- [28] Fuentes M, González-Gaitano G, García-Mina J M. The usefulness of UV-visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils

- and composts[J]. *Organic Geochemistry*, 2006, 37(12): 1949–1959.
- [29] 李璐璐, 江韬, 闫金龙, 等. 三峡库区典型消落带土壤及沉积物中溶解性有机质(DOM)的紫外-可见光谱特征[J]. *环境科学*, 2014, 35(3): 933–941.
- [30] 张甲, 曹军, 陶澍. 土壤水溶性有机物的紫外光谱特征及地域分异[J]. *土壤学报*, 2003, 40(1): 118–122.
- [31] 徐秋芳. 森林土壤活性有机碳库的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2004.
- [32] Dilling J, Kaiser K. Estimation of the hydrophobic fraction of dissolved organic matter in water samples using UV photometry[J]. *Water Research*, 2002, 36(20): 5037–5044.
- [33] 李美娟. 秦岭不同植被条件下土壤可溶性有机碳及其紫外-可见光谱特征[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2018.
- [34] Nishijima W, Speitel G E. Fate of biodegradable Dissolved organic carbon produced by ozonation on biological activated carbon[J]. *Chemosphere*, 2004, 56(2): 113–119.
- [35] Chin Y P, Aiken G, O'Loughlin E. Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances[J]. *Environmental Science & Technology*, 1994, 28(11): 1853–1858.
- [36] 李鸣晓, 何小松, 刘骏, 等. 鸡粪堆肥水溶性有机物特征紫外吸收光谱研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2010, 30(11): 3081–3085.
- [37] Dorado J, González-Vila F J, Zancada M C, et al. Pyrolytic descriptors responsive to changes in humic acid characteristics after long-term sustainable management of dryland farming systems in Central Spain[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2003, 68/69: 299–314.
- [38] 谢理, 杨浩, 渠晓霞, 等. 滇池典型陆生和水生植物溶解性有机质组分的光谱分析[J]. *环境科学研究*, 2013, 26(1): 72–79.
- [39] Korshin G V, Benjamin M M, Sletten R S. Adsorption of natural organic matter (NOM) on iron oxide: Effects on NOM composition and formation of organo-halide compounds during chlorination[J]. *Water Research*, 1997, 31(7): 1643–1650.
- [40] Artinger R, Buckau G, Geyer S, et al. Characterization of groundwater humic substances: influence of sedimentary organic carbon[J]. *Applied Geochemistry*, 2000, 15(1): 97–116.
- [41] 康军, 张增强, 邵森, 等. 污泥堆肥过程中胡敏酸光谱特征变化与腐熟度的关系[J]. *西北农业学报*, 2010, 19(7): 181–185.
- [42] 翁诗甫, 徐怡庄. 傅里叶变换红外光谱分析(第三版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2017.
- [43] 吴景贵, 姜岩. 红外光谱在土壤有机质研究中的应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 1998, 18(1): 52–57.
- [44] 张福韬, 乔云发. 红外光谱与核磁共振在土壤有机质结构研究中的应用[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(7): 81–84.
- [45] 游敏, 张文凯. 红外光谱的检测灵敏度和选择性研究进展[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(S1): 1–2.
- [46] Peltre C, Bruun S, Du C W, et al. Assessing soil constituents and labile soil organic carbon by mid-infrared photoacoustic spectroscopy[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 77: 41–50.
- [47] Cozzolino D, Morón A. Potential of near-infrared reflectance spectroscopy and chemometrics to predict soil organic carbon fractions[J]. *Soil and Tillage Research*, 2006, 85(1/2): 78–85.
- [48] 任雅阁, 马玲玲, 成杭新, 等. 典型农耕地褐土水稳性团聚体有机碳的分布及组成[J]. *水土保持通报*, 2014, 34(2): 15–19.
- [49] 唐晓红. 四川盆地紫色水稻土腐殖质特征及其团聚体有机碳保护机制[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [50] 王清海. 耕作措施对黑土有机质数量和质量的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
- [51] 吴景贵, 王明辉, 姜亦梅, 等. 施用玉米植株残体对土壤富里酸组成、结构及其变化的影响[J]. *土壤学报*, 2006, 43(1): 133–141.
- [52] 黄兆琴, 胡林潮, 史明, 等. 水稻秸秆燃烧对土壤有机质组成的影响研究[J]. *土壤学报*, 2012, 49(1): 60–67.
- [53] 周江敏, 代静玉, 潘根兴. 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[J]. *土壤*, 2004, 36(1): 46–50.
- [54] Ellerbrock R H, Kaiser M. Stability and composition of different soluble soil organic matter fractions - evidence from $\delta^{13}\text{C}$ and FTIR signatures[J]. *Geoderma*, 2005, 128(1/2): 28–37.
- [55] 倪文海, 刘欢, 刘振涛, 等. 水稻秸秆腐解过程溶解性有机质红外光谱研究[J]. *土壤*, 2013, 45(2): 220–226.
- [56] Santos P S M, Otero M, Duarte R M B O, et al. Spectroscopic characterization of Dissolved organic matter isolated from rainwater[J]. *Chemosphere*, 2009, 74(8): 1053–1061.
- [57] Yang J, Gong W, Shi S, et al. Estimation of nitrogen content based on fluorescence spectrum and principal component analysis in paddy rice[J]. *Plant, Soil and Environment*, 2016, 62(4): 178–183.
- [58] 瞿园园. 胶州湾滨海湿地土壤有机质及其三维荧光特性[D]. 青岛: 青岛大学, 2017.
- [59] Lei H J, Han Y P, Liu X, et al. Using three-dimensional fluorescence spectrum technology to analyze the effects of natural dissolved organic matter on the pesticide residues in the soil[J]. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*, 2015, 35(7): 1926–1932.
- [60] 唐璐. 不同堆肥条件对堆肥过程中碳素损失及腐殖质形成的影响研究[D]. 杭州: 杭州师范大学, 2016.
- [61] Marhuenda-Egea F C, Martínez-Sabater E, Jordá J, et al. Dissolved organic matter fractions formed during composting of winery and distillery residues: Evaluation of the process by fluorescence excitation-emission matrix[J]. *Chemosphere*, 2007, 68(2): 301–309.
- [62] Zhao Y, Wei Y Q, Zhang Y, et al. Roles of composts in soil based on the assessment of humification degree of fulvic acids[J]. *Ecological Indicators*, 2017, 72: 473–480.
- [63] Stedmon C A, Markager S, Bro R. Tracing Dissolved organic matter in aquatic environments using a new

- approach to fluorescence spectroscopy[J]. *Marine Chemistry*, 2003, 82(3/4): 239–254.
- [64] He X S, Xi B D, Li X, et al. Fluorescence excitation–emission matrix spectra coupled with parallel factor and regional integration analysis to characterize organic matter humification[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(9): 2208–2215.
- [65] Wu J, Zhang H, Shao L M, et al. Fluorescent characteristics and metal binding properties of individual molecular weight fractions in municipal solid waste leachate[J]. *Environmental Pollution*, 2012, 162: 63–71.
- [66] 范春辉, 张颖超, 贺磊, 等. 秸秆还田对旱田黄土可溶性有机质三维荧光光谱的影响[J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(7): 1820–1823.
- [67] 李亚男, 武俊男, 高强, 等. 不同种植年限苏打盐碱型水稻土水溶性有机物三维荧光光谱特征分析[J]. *华南农业大学学报*, 2017, 38(1): 44–49.
- [68] 李明堂, 王继红, 赵兰坡. 大豆与玉米根部土壤水溶性有机物的荧光特性比较研究[J]. *水土保持学报*, 2013, 27(2): 140–144.
- [69] 陈涛, 杜丽君, 郝晓晖, 等. 长期施肥对水稻土活性有机碳的影响[J]. *土壤通报*, 2009, 40(4): 809–814.
- [70] 张甲坤, 陶澍, 曹军. 中国东部土壤水溶性有机物荧光特征及地域分异[J]. *地理学报*, 2001, 56(4): 409–416.
- [71] Roberts P, Gibbons J M, Hill P W, et al. Limited effects of land use on soil Dissolved organic matter chemistry as assessed by excitation-emission fluorescence spectroscopy and molecular weight fractionation[J]. *Soil Use and Management*, 2016, 32(4): 662–665.
- [72] Kim H C, Yu M J, Han I. Multi-method study of the characteristic chemical nature of aquatic humic substances isolated from the Han River, Korea[J]. *Applied Geochemistry*, 2006, 21(7): 1226–1239.
- [73] Cho H, Lee H, Kim S, et al. Potential application of fluorescence imaging for assessing fecal contamination of soil and compost maturity[J]. *Applied Sciences*, 2016, 6(9): 243.
- [74] Wu H Y, Zhou Z Y, Zhang Y X, et al. Fluorescence-based rapid assessment of the biological stability of landfilled municipal solid waste[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 110: 174–183.
- [75] 谷思玉, 何鑫, 聂艳龙, 等. 有机肥施用对盐渍土富里酸荧光特性的影响[J]. *环境科学研究*, 2016, 29(5): 724–730.
- [76] 杨威杉, 李猛, 孙笑蕾, 等. 不同海拔下青海草甸土中溶解性有机质的荧光光谱特征[J]. *光谱学与光谱分析*, 2019, 39(5): 1477–1482.
- [77] 孔祥宇, 朱垣晔, 闻经纬, 等. 核磁共振量子信息处理研究的新进展[J]. *物理学报*, 2018, 67(22): 1–20.
- [78] 王乃兴. 核磁共振谱学——在有机化学中的应用 [M]. 3版. 北京: 化学工业出版社, 2015.
- [79] 要世瑾, 杜光源, 牟红梅, 等. 核磁共振技术在土壤–植物–大气连续体研究中的应用[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(1): 315–326.
- [80] 王俊美, 欧阳捷, 尚倩, 等. 土壤有机质研究中的核磁共振技术[J]. *波谱学杂志*, 2008, 25(2): 287–295.
- [81] Preston C M. Applications of nmr to soil organic matter analysis: history and prospects[J]. *Soil Science*, 1996, 161(3): 144–166.
- [82] Dumas M E, Maibaum E C, Teague C, et al. Assessment of analytical reproducibility of ^1H NMR spectroscopy based metabonomics for large-scale epidemiological research: the INTERMAP study[J]. *Analytical Chemistry*, 2006, 78(7): 2199–2208.
- [83] Herr N, Webby M N, Bulloch E M M, et al. NMR chemical shift assignment of the C-terminal region of the Menangle virus phosphoprotein[J]. *Biomolecular NMR Assignments*, 2019, 13(1): 195–199.
- [84] Pontes J G M, Brasil A J M, Cruz G C F, et al. NMR-based metabolomics strategies: plants, animals and humans[J]. *Analytical Methods*, 2017, 9(7): 1078–1096.
- [85] 肖新生, 杨交如, 唐满生, 等. 核磁共振技术在食用油脂分析中的应用研究进展[J]. *中国油脂*, 2018, 43(12): 134–139.
- [86] 徐小俊, 王申林. ^{19}F 固体核磁共振技术研究膜蛋白相互作用的进展[J]. *波谱学杂志*, 2019, 36(2): 238–251.
- [87] Lee G S H, Wilson M A, Young B R. The application of the “WATERGATE” suppression technique for analyzing humic substances by nuclear magnetic resonance[J]. *Organic Geochemistry*, 1998, 28(9/10): 549–559.
- [88] 窦森, 华士英, 朱涛. 土壤胡敏酸的 ^{13}C 核磁共振研究[J]. *高等学校化学学报*, 1990, 11(7): 768–770.
- [89] 李娜, 盛明, 尤孟阳, 等. 应用 ^{13}C 核磁共振技术研究土壤有机质化学结构进展[J]. *土壤学报*, 2019, 56(4): 796–812.
- [90] Zhang Y L, Du J Z, Ding X P, et al. Comparison study of sedimentary humic substances isolated from contrasting coastal marine environments by chemical and spectroscopic analysis[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2016, 75(5): 1–14.
- [91] 李昌明, 王晓玥, 孙波. 基于固态 ^{13}C 核磁共振波谱研究植物残体分解和转化机制的进展[J]. *土壤*, 2017, 49(4): 658–664.
- [92] 代静玉, 秦淑平, 周江敏. 土壤中溶解性有机质分组组分的结构特征研究[J]. *土壤学报*, 2004, 41(5): 721–727.
- [93] Clemente J S, Simpson M J, Simpson A J, et al. Comparison of soil organic matter composition after incubation with maize leaves, roots, and stems[J]. *Geoderma*, 2013, 192: 86–96.
- [94] Faz Cano A, Mermut A R, Ortiz R, et al. ^{13}C CP/MAS-NMR spectra of organic matter as influenced by vegetation, climate, and soil characteristics in soils from Murcia, Spain[J]. *Canadian Journal of Soil Science*, 2002, 82(4): 403–411.
- [95] 张晋京, 窦森, 朱平, 等. 长期施用有机肥对黑土胡敏素结构特征的影响——固态 ^{13}C 核磁共振研究[J]. *中国农业科学*, 2009, 42(6): 2223–2228.
- [96] Steffens M, Kölbl A, Schörk E, et al. Distribution of soil organic matter between fractions and aggregate size classes

- in grazed semiarid steppe soil profiles[J]. *Plant and Soil*, 2011, 338(1/2): 63–81.
- [97] Pedersen J A, Simpson M A, Bockheim J G, et al. Characterization of soil organic carbon in drained thaw-lake basins of Arctic Alaska using NMR and FTIR photoacoustic spectroscopy[J]. *Organic Geochemistry*, 2011, 42(8): 947–954.
- [98] 郭素春, 郁红艳, 朱雪竹, 等. 长期施肥对潮土团聚体有机碳分子结构的影响[J]. *土壤学报*, 2013, 50(5): 922–930.
- [99] Kögel-Knabner I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter: Fourteen years on[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 105: A3–A8.
- [100] Baldock J A, Oades J M, Waters A G, et al. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy[J]. *Biogeochemistry*, 1992, 16(1): 1–42.
- [101] Leifeld J, Kögel-Knabner I. Soil organic matter fractions as early indicators for carbon stock changes under different land-use?[J]. *Geoderma*, 2005, 124(1/2): 143–155.
- [102] Schulten H R, Leinweber P. Thermal stability and composition of mineral-bound organic matter in density fractions of soil[J]. *European Journal of Soil Science*, 1999, 50(2): 237–248.
- [103] Helfrich M, Ludwig B, Buurman P, et al. Effect of land use on the composition of soil organic matter in density and aggregate fractions as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy[J]. *Geoderma*, 2006, 136(1/2): 331–341.
- [104] 周萍, Alessandro P 潘根兴, 等. 三种南方典型水稻土长期试验下有机碳积累机制研究Ⅲ. 两种水稻土颗粒有机质结构特征的变化[J]. *土壤学报*, 2009, 46(3): 398–405.
- [105] Grasso D, Chin Y P, Weber W J Jr. Structural and behavioral characteristics of a commercial humic acid and natural dissolved aquatic organic matter[J]. *Chemosphere*, 1990, 21(10/11): 1181–1197.
- [106] Zolfi Bavariani M, Ronaghi A, Ghasemi R. Influence of pyrolysis temperatures on FTIR analysis, nutrient bioavailability, and agricultural use of poultry manure biochars[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2019, 50(4): 402–411.
- [107] Sánchez-Sánchez A, Cerdán M, Jordá J D, et al. Characterization of soil mineralogy by FTIR: application to the analysis of mineralogical changes in soils affected by vegetation patches[J]. *Plant and Soil*, 2019, 439(1/2): 447–458.
- [108] Berns A E, Philipp H, Lewandowski H, et al. Interactions of ^{15}N -sulfadiazine and soil components as evidenced by ^{15}N -CPMAS NMR[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(6): 3748–3757.
- [109] Sarker T C, Maisto G, Marco A, et al. Explaining trajectories of chemical changes during decomposition of tropical litter by ^{13}C -CPMAS NMR, proximate and nutrients analysis[J]. *Plant and Soil*, 2019, 436(1/2): 13–28.
- [110] 张仲胜, 李敏, 宋晓林, 等. 气候变化对土壤有机碳库分子结构特征与稳定性影响研究进展[J]. *土壤学报*, 2018, 55(2): 273–282.
- [111] Zhao P Q, Wang Z L, Sun Z C, et al. Investigation on the pore structure and multifractal characteristics of tight oil reservoirs using NMR measurements: Permian Lucaogou Formation in Jimusaer Sag, Junggar Basin[J]. *Marine and Petroleum Geology*, 2017, 86: 1067–1081.
- [112] Knicker H. Solid state CPMAS ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy in organic geochemistry and how spin dynamics can either aggravate or improve spectra interpretation[J]. *Organic Geochemistry*, 2011, 42(8): 867–890.
- [113] Abdulla H A N, Minor E C, Dias R F, et al. Changes in the compound classes of Dissolved organic matter along an estuarine transect: a study using FTIR and ^{13}C NMR[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, 74(13): 3815–3838.
- [114] Forouzangohar M, Cozzolino D, Smernik R J, et al. Using the power of C-13 NMR to interpret infrared spectra of soil organic matter: A two-dimensional correlation spectroscopy approach[J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2013, 66: 76–82.
- [115] Li K, Zhang L Q, Zhu L, et al. Comparative study on pyrolysis of lignocellulosic and algal biomass using pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Biore-source Technology*, 2017, 234: 48–52.
- [116] 王鑫, 孙韶华, 贾瑞宝, 等. 高分辨质谱技术在有机污染物降解产物鉴定中的应用进展[J]. *安全与环境工程*, 2019, 26(2): 84–90.
- [117] 何蔚, 孙贤君. 拉曼光谱应用技术研究[J]. *标准科学*, 2018(3): 70–75.
- [118] Carl M, Doren B, Young M L. *In situ* synchrotron radiation X-ray diffraction study on phase and oxide growth during a high temperature cycle of a NiTi-20 at.% Zr high temperature shape memory alloy[J]. *Shape Memory and Superelasticity*, 2018, 4(1): 174–185.
- [119] Briand E, Gu C, Boujday S, et al. Functionalisation of gold surfaces with thiolate SAMs: Topography/bioactivity relationship-A combined FT-RAIRS, AFM and QCM investigation[J]. *Surface Science*, 2007, 601(18): 3850–3855.