

黑土、栗钙土和潮土胡敏酸分子结构的差异性分析^①

郑殷恬, 赵红, 赵楠, 吕贻忠*

(中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193)

摘要: 以北方典型的黑土、栗钙土和潮土提取的胡敏酸为研究对象, 通过元素分析、傅里叶红外光谱仪及 ¹³C 核磁共振仪对三者进行结构分析。不同胡敏酸的各种元素含量略有差别, 各种官能团含量也不同。元素分析结果来看 H/C 原子比潮土最高, 栗钙土次之, 黑土最少; O/C 的原子比三者没有明显的差别; C/N 比呈现由高到低的次序分别为黑土、栗钙土、潮土。3 种胡敏酸的红外光谱吸收峰相似, 但吸收强度有差别, 如 3352 cm⁻¹ 和 2931 cm⁻¹ 处潮土和栗钙土信号强度相当, 黑土较低, 而在 2580 cm⁻¹ 处三者信号差异不明显, 1720, 1620, 1420, 1220 cm⁻¹ 这 4 个吸收峰信号强弱均为黑土最强, 栗钙土次之, 潮土最弱。而从核磁共振图谱可以看出潮土结构中含有更多的多糖和蛋白质类结构单元; 黑土有机质含量高, 芳香化程度也较高。

关键词: 胡敏酸; 元素分析; 红外; 核磁共振

中图分类号: S153.6

胡敏酸是土壤有机物质在微生物作用下形成的一类结构复杂、性质稳定、分子大小不同的一类具有特殊性质的高分子混合物^[1], 其分子结构十分复杂, 物理及化学性质明显受气候、母质、海拔、植被类型等因素影响。所以不同类型土壤的胡敏酸在分子水平有很大的区别。

随着化学仪器分析方法的广泛应用, 光谱分析方法在胡敏酸分子结构分析方面也渐渐有所应用, 包括陆地及海洋土壤、煤炭、石油等各个领域, 但对我国北方典型的黑土、栗钙土和潮土这 3 种土壤分析较少^[2-6]。有文献报道, 如李光军等^[7]研究了内蒙古羊草草原不同管理措施对栗钙土胡敏酸光谱特性的影响; 吕贻忠等^[8]研究了不同耕作措施对黑土腐殖酸组成与红外光谱特性的影响。本文研究来源不同的黑土、栗钙土、潮土的化学结构在分子水平的细微差别, 希望从三者结构上的区别能对解释三者抵抗环境污染的耐受性及结构上的分子模拟有所帮助。

1 材料和方法

1.1 土壤来源地描述

供试土壤样品采自 3 个地点, 分别为: ①黑土取自吉林省公主岭市吉林省农科院长期定位试验站 (43°31'N, 124°48' E); ②栗钙土取自中国科学院内

蒙古草原生态系统定位站的羊草样地 (43°32'N, 116°40'E); ③潮土取自河北滦城保护性耕作试验站 (37°50' N, 114°40' E)。

1.2 胡敏酸提取方法

按照国际胡敏酸协会标准方法提纯胡敏酸, 提纯胡敏酸冷却干燥, 研磨后置于干燥器中备用。

1.3 胡敏酸元素组成测定

采用 Vario EL III 元素分析仪 (Elementar 公司, 德国) 测定胡敏酸样品中 C、H、N 含量, O 的含量通过差减法得到。

1.4 胡敏酸红外光谱分析

利用显微红外测试方法, 仪器型号为: Nicolet 750 显微红外仪, 将微量纯样品放置在金刚石窗片上压平后测试。测试范围为 4000~500 cm⁻¹, 检测器 MCT/A, 分束器 KBr, 扫描次数 128 次, 分辨率 8 cm⁻¹。

1.5 胡敏酸核磁共振分析

采用 Bruker DSX2300 型核磁共振仪上测定, ¹³C 的频率为 7 kHz。

2 结果和讨论

2.1 胡敏酸元素组成

如表 1 所示, 3 种不同土壤的胡敏酸 C、H、N、O 的元素含量均有差别。黑土含 C 及含 O 量居三者之

①基金项目: 十一五国家科技支撑课题项目 (2006BAD15B01) 和国家自然科学基金项目 (40771099) 资助。

* 通讯作者 (lyz@cau.edu.cn)

作者简介: 郑殷恬 (1986—), 女, 福建漳州人, 硕士研究生, 主要从事土壤有机质方面的研究。E-mail: zhengyintian@163.com

最, 而含 H 与含 N 量则潮土最高, 栗钙土的这 4 种元素含量均居三者中。综合来看, H/C 原子比潮土最高, 栗钙土次之, 黑土最少, 说明黑土胡敏酸的氢饱和度最低。而 O/C 的原子比三者没有明显的差别, 说明三

者的胡敏酸结构中含氧的官能团差不多, 如烷氧基等。C/N 比呈现由高到低的次序分别为黑土、栗钙土、潮土, 说明黑土胡敏酸含有较多含氮官能团, 如来源于蛋白质的酰胺基团等。

表 1 3 种土壤胡敏酸元素特征

Table 1 Elemental compositions and atomic ratios of humic acids in three kinds of soils

土样	元素含量 (g/kg)				摩尔比		
	C	H	N	O	H/C	O/C	C/N
黑土	530.7	40.9	40.7	387.7	0.92	0.55	15.21
栗钙土	522.8	49.3	49.8	378.1	1.13	0.54	12.25
潮土	519.1	52.9	56.6	371.4	1.22	0.54	10.70

2.2 胡敏酸红外光谱

胡敏酸的红外光谱具有专性分子结构特征的各种谱带, 可以提供胡敏酸含氧官能团的本性、反应性和结构排列的主要性质; 可以用来确认胡敏酸分子中蛋白质和碳水化合物的存在, 也可以用来判断提纯的胡敏酸样品的纯净度(灰分的多少), 并对胡敏酸进行定量的分析^[9-10]。3 352 cm^{-1} 处强而宽的吸收峰来源于胡敏酸分子中羟基, C-H 不饱和碳的碳氢、酚和醇的多

聚体, 仲胺的伸缩振动频率; 2 931 cm^{-1} 处 C-H 饱和碳、饱和羧酸的伸缩振动; 2 580 cm^{-1} 处代表胺盐 (NH_3^+ , NH_2^+)、硫醇-SH 等官能团的吸收; 1 720 cm^{-1} 处强而窄的吸收峰为羰基和 COOH 的 C=O 伸缩振动; 而 1 620 cm^{-1} 为苯环或芳香杂环 C=C 的伸缩振动; 1 420 cm^{-1} 为醇或羧酸的 O-H 的弯曲振动和酚类的 C-O 的伸缩振动; 1 220 cm^{-1} 处为芳基醚 C-O 伸缩振动及 R-OH 的弯曲振动。

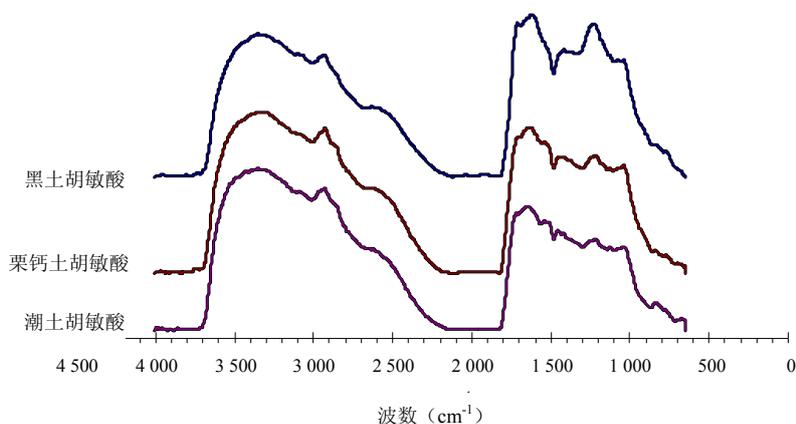


图 1 3 种土壤胡敏酸的红外光谱图

Fig. 1 FTIR spectra of humic acids in three kinds of soils

由表 2 可看出在 3 352 cm^{-1} 和 2 931 cm^{-1} 处潮土和栗钙土信号强度相当, 黑土较低, 说明黑土中羟基含量、醇和酚含量、饱和碳、饱和羧酸等含量较少。而在 2 580 cm^{-1} 处三者信号差异不明显, 说明铵盐及硫醇含量相当。1 720, 1 620, 1 420, 1 220 cm^{-1} 这 4 个吸收峰信号强弱均为黑土最强, 栗钙土次之,

潮土最弱。2 931/1 720 的比值可反映胡敏酸的氧化程度和脂肪性, 黑土胡敏酸的 2 931/1 720 为 0.826, 潮土胡敏酸 2 931/1 720 为 1.22, 黑栗钙土胡敏酸的 2 931/1 720 则为 1.09, 其值越大, 说明其氧化程度越低, 脂肪性越高, 则潮土胡敏酸氧化程度最低, 脂肪性最高。

表 2 3 种土壤胡敏酸的各吸收峰相对吸光度

Table 2 Relative absorbance of spectra of HA in three kinds of soils

土样	各吸收峰相对吸光度 (cm^{-1})						
	3 352	2 931	2 580	1 720	1 620	1 420	1 220
黑土	0.88	0.76	0.42	0.92	1.00	0.79	0.94
潮土	1.00	0.88	0.47	0.72	0.75	0.60	0.56
栗钙土	0.99	0.90	0.51	0.82	0.90	0.72	0.73

2.3 胡敏酸核磁共振

解析胡敏酸的 NMR 谱主要是查看胡敏酸共振信号的数目、位置、强度和裂分情况,对确定胡敏酸的官能团位置是十分必要的。 ^{13}C -NMR 谱主要用于分析胡敏酸的碳素骨架结构,因为不同杂化态碳的化学位移分布区间不同,根据一个或

多个共振吸收峰信息便可推导特定的结构单元^[4, 11-16]。图 2 为胡敏酸的 CPMAS-NMR 波谱图,表 3 为通过不同代表性碳含量进行积分后的各自百分量,包括烷基碳 ($\delta 0-45$)、烷氧基碳 ($\delta 45-110$)、芳香碳 ($\delta 110-160$)、羧基碳 ($\delta 160-195$)、羰基碳 ($\delta 195-200$)。

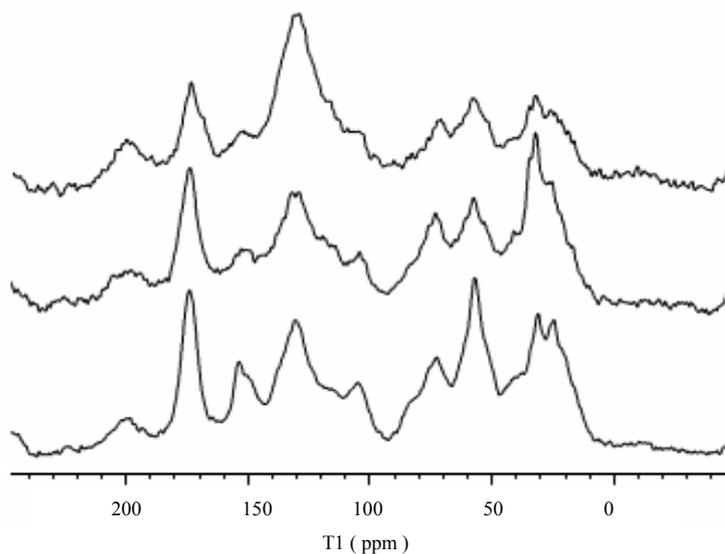
图 2 3 种土壤的胡敏酸 ^{13}C 核磁共振图

Fig. 2 CPMAS-NMR spectra of humic acids in three kinds of soils

表 3 3 种土壤胡敏酸 ^{13}C 核磁共振图各基团面积比 (%)Table 3 Intensity distributions in CPMAS ^{13}C NMR spectra of humic acid in three kinds of soils

土样	烷基碳 $\delta 0-45$	烷氧基碳 $\delta 45-110$	芳香碳 $\delta 110-160$	羧基碳 $\delta 160-195$	羰基碳 $\delta 195-200$	芳香度
黑土	17.48	25.70	39.51	12.06	5.24	47.78
栗钙土	25.97	28.57	27.01	15.06	3.37	33.12
潮土	23.42	32.32	28.10	13.11	3.04	33.52

注: 芳香度 = $\text{C}\% (\delta 110-160) / \text{C}\% (\delta 0-160)$

在 $\delta 45-110$ 区域内,潮土胡敏酸的烷氧基碳含量最高,栗钙土次之,黑土最小。说明潮土胡敏酸结构中含有更多的多糖和蛋白质类结构单元。而 $\delta 110-160$ 区域内黑土胡敏酸明显高于二者,黑土有机质含量高,

微生物对胡敏酸进行降解旺盛,则导致其芳香化程度升高。

3 种不同来源的胡敏酸的核磁谱图,可细分一些官能团并将所在的化学位移区域进行积分(表

4), $\delta 209-185$ 区域黑土胡敏酸的相对百分比明显大于其他二者, 代表其不饱和酮与不饱和醛比二者含量相对较多; 而 $\delta 183-165$ 区域代表羧酸、酰氯、酰胺、酰亚胺、硫脲含量, 从表中可以看出栗钙土相对百分比最高, 潮土次之, 黑土最少; $\delta 145-109$ 区域三者也有明显差别, 黑土最高且大大高于其他二者, 栗钙土及潮土较为接近, 说明黑土相对二者

含有较多的氰化物、硫氰化物、杂芳环、烯烃。 $\delta 75-65$ 范围代表季碳、季碳氮结构、季碳硫结构, 栗钙土和潮土差别不大, 黑土明显较低; $\delta 65-46$ 为卤素、叔碳化学位移区域范围, 则潮土含此些官能团最多; $\delta 39-25$ 为伯碳; $\delta 25-15$ 为伯碳与硫结合结构代表的化学位移区域, 间接反应潮土相对含硫元素最多^[17]。

表4 3种土壤的胡敏酸各特征官能团的面积百分比 (%)

Table 4 Area percentages of different functional groups of humic acid in three kinds of soils

土样	$\delta 209-185$	$\delta 183-165$	$\delta 145-109$	$\delta 75-65$	$\delta 65-46$	$\delta 39-25$	$\delta 25-15$
黑土	7.65	12.92	42.81	5.35	13.46	8.02	9.29
栗钙土	6.22	18.87	28.02	10.15	17.12	14.07	5.54
潮土	4.40	16.56	21.22	11.58	21.75	10.52	13.96

3 结论

(1) 黑土、栗钙土、潮土3种土壤提取的胡敏酸在化学结构上都相似, 都主要含有C、H、O、N4种元素, 都具有烷基碳、烷氧基碳、芳香碳、羧基碳、羰基碳结构。但各自在化学结构上也有自己的特征。

(2) 3种腐殖酸的各种元素含量略有差别, H/C、C/N原子比有高低之分, 而O/C的原子比三者没有明显的差别。

(3) 从红外光谱图分析, 潮土胡敏酸含有较多羟基, C-H不饱和碳的碳氢、酚和醇的多聚体, 仲胺结构; 而栗钙土胡敏酸有较多的饱和碳、饱和羧酸基团; 黑土胡敏酸则含有更多的羰基、苯环或芳香杂环和醇或羧酸的O-H、酚类的C-O、芳基醚C-O等官能团。但三者的铵盐及硫醇含量相当。

(4) 从NMR谱图可以看出, 潮土胡敏酸的烷氧基碳含量最高, 结构中含有更多的多糖和蛋白质类结构单元。而黑土胡敏酸芳香碳的含量明显高于二者, 黑土有机质含量高, 芳香化程度也较高。栗钙土胡敏酸主要官能团含量均居三者中。

参考文献:

- [1] 吕贻忠, 李保国. 土壤学. 北京: 中国农业出版社, 2006: 94-95
- [2] Peuravuori J, Simpson AJ, Lam B, Zbankova P, Pihlaja K. Structural features of lignite humic acid in light of NMR and thermal degradation experiments. *Journal of Molecular Structure*, 2007, 826: 131-142
- [3] Adani F, Genevini P, Tambone F, Tambone F, Montoneri E. Compost effect on soil humic acid: A NMR study *Chemosphere*, 2006, 65: 1414-1418
- [4] Conte P, Spaccini R, Piccolo A. Advanced CPMAS-¹³C NMR techniques for molecular characterization of size-separated fractions from a soil humic acid. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2006, 386: 382-390
- [5] Sachs S, Bubner M, Schmeide K, Choppin GR, Heise KH, Bernhard G. Carbon-¹³NMR spectroscopic studies on chemically modified and unmodified synthetic and natural humic acids. *Talanta*, 2002, 57: 999-1009
- [6] Shin HS, Lim KH. Spectroscopic and elemental investigation of microbial decomposition of aquatic fulvic acid in biological process of drinking water treatment. *Biodegradation*, 1996, 7: 287-295
- [7] 李光军, 吕贻忠, 李保国. 内蒙古羊草草原不同管理措施对栗钙土胡敏酸光谱特性的影响. *光谱学与光谱分析*, 2009, 29(6): 1508-1511
- [8] 吕贻忠, 丛巍巍, 廉晓娟. 不同耕作措施对黑土腐殖酸组成与红外光谱特性的影响. *光谱学与光谱分析*, 2009, 29(10): 2642-2645
- [9] Havers N, Burba P, Lambert J, Klockow D. Spectroscopic characterization of humic-like substances in airborne Particulate matter. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 1998, 29: 49-52
- [10] 陈兰, 唐晓红, 魏朝富. 土壤腐殖质结构的光谱学研究进展. *中国农学通报*, 2007, 23(8): 233-237
- [11] Keeler C, Eugene K, Gary M. Chemical-structural information from solid-state ¹³C NMR studies of a suite of humic materials from a lower montane forest soil, Colorado, USA. *Geoderma*, 2006, 260(130): 124-140

- [12] 梁重山, 党志. 核磁共振波谱法在腐殖质研究中的应用. 农业环境保护, 2001, 20(4): 277-279
- [13] Rivera FM, Brouwer EB, Masset S, Deslands Y, Dumonceau J. Combination of X-ray photoelectron and solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy in the structural characterisation of humic acids. *Analytica Chimica Acta*, 2000, 424: 243-255
- [14] Keeler C, Maciel E. ^{13}C NMR spectral editing of humic material. *Journal of Molecular Structure*, 2000, 550/551: 297-305
- [15] Francioso O, Cortes SS, Casarini D, Garcia-Ramos JV, Ciavatta C, Gessa C. Spectroscopic study of humic acids fractionated by means of tangential ultrafiltration. *Journal of Molecular Structure*, 2002, 609: 137-147
- [16] Golchin A, Clarke P, Baldock JA, Higashi T, Skjemstad JO, Oades JM. The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter in a volcanic ash soil as shown by ^{13}C NMR spectroscopy. I. Whole soil and humic acid fraction. *Geoderma*, 1997, 76: 155-174
- [17] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学. 北京: 科学出版社, 2000

Molecular Structure Differences of Humic Acid in Black Soil, Chestnut Soil and Fluvo-aqulc Soil

ZHENG Yin-tian, ZHAO Hong, ZHAO Nan, LV Yi-zhong

(College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: This study studied humic acid structures of the typical northern soil, i.e., black soil, chestnut soil and fluvo-aqulc soil by using elemental analyzer, Fourier transform infrared spectrometer and ^{13}C NMR. Both the contents of various elements and functional groups in humic acids of three kinds of soils were different. H/C atomic ratio was in an order of fluvo-aqulc soil > chestnut soil > black soil, O/C atomic ratio was not significantly different in the three kinds of soils. C/N atomic ratio presented in an order of black soil > chestnut soil > fluvo-aqulc soil. The positions of the absorption peaks in infrared spectra of humic acids were similar in the three kinds of soils but different in the peak intensity, the signal intensities at $3\ 352\ \text{cm}^{-1}$ and $2\ 931\ \text{cm}^{-1}$ of fluvo-aqulc soil and chestnut soil were equivalent while black soil was lower; the signal intensities at $2\ 580\ \text{cm}^{-1}$ of the three kinds of soils differed little. The signal intensities at $1\ 720$, $1\ 620$, $1\ 420$ and $1\ 220\ \text{cm}^{-1}$ were all in an order of black soil > chestnut soil > fluvo-aqulc soil. ^{13}C NMR showed more polysaccharides and protein structural units contained the structure of fluvo-aqulc soil; black soil had higher organic matter and a higher degree of aromatization.

Key words: Humic acid, Elemental analysis, IR, ^{13}C NMR