

核磁共振波谱法在腐殖质研究中的应用

梁重山¹, 党志²

(1. 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550002; E-mail: chongshan@21cn.com;

2. 华南理工大学化工学院应用化学系, 广东 广州 510641)

摘要: 总结介绍了核磁共振波谱法在腐殖质研究中的应用情况及进展, 包括 ^{13}C 核磁共振波谱的应用、腐殖质的组成、腐殖质的网状结构模型及腐殖质研究的环境意义等。

关键词: 腐殖质; 核磁共振波谱法

中图分类号: S151.93 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0267(2001)04-0277-03

Application of NMR Spectroscopy in Research of Humic Materials

LIANG Chong-shan¹, DANG Zhi²

(1. The State Key Lab of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002 China; 2. Department of Applied Chemistry, South China University of Technology, Guangzhou 510641 China)

Abstract: Researches on humic materials have many important meanings in pedology, environmental chemistry and agriculture. Nuclear magnetic resonance (NMR) has been employed in the study of composition and structure of humic materials, and the applications of this analysis technology and the main conclusions are reviewed in this paper.

Keywords: humic materials; nuclear magnetic resonance

土壤有机质是土壤固相的组成部分,也是土壤形成的重要物质基础。土壤有机质来自自然回归到土壤中的各种动植物残体及人工施入的各种有机肥料。这些有机质在物理、化学、生物因素的共同作用下,绝大部分较快的分解为水和二氧化碳,只有一小部分转变为另一种形态的物质,就是土壤腐殖质。这些有机质是作物所需的各种养料的源泉,而且还能改善土壤的物理化学性质。土壤有机质与土壤的结构性、通气性、渗透性、吸附性和缓冲性等都有密切的关系。与土壤中金属离子、金属氧化物和氢氧化物,粘土矿物结合生成无机有机团聚体,有利于进行离子交换和氮、磷、硫的保存。其中腐殖质是土壤有机质的主要部分,约占总有机质的 50%—65%。因此对腐殖质的研究在土壤学、环境科学、农业生产上具有重要的意义。核磁共振波谱法已广泛的应用到腐殖质的研究中,并取得了许多新的进展,本文对此做一总结。

1 ^{13}C 核磁共振波谱 (^{13}C -NMR)

核磁共振波谱法包括 ^1H 、 ^{13}C 和 ^{15}N 波谱,其中 ^1H 和 ^{15}N 的应用较少,本文着重介绍 ^{13}C 的应用。 ^1H 核磁共振波谱图的直观性较差,分辨率较低,只能测定液体样品;另外样品残留水会严重干扰测定,需要进行前处理过程^[1]。 ^{15}N 核磁共振波谱

的缺点是测定时间较长, ^{15}N 的丰度低(0.37%),磁旋比小,因此灵敏度比 ^{13}C 低 50 倍左右。目前对含氮有机物的测定缺少合适的方法,因此 ^{15}N -NMR 很有发展前景,必将成为测定含氮有机物的有效方法^[2]。 ^{13}C -NMR 开始只能测定液体样品,灵敏度不高,由于腐殖质是部分可溶的,因此实验结果的可靠性存在很大的问题,这就限制了它的应用。采用固体参差极化魔角样品自旋核磁共振波谱(CPMAS ^{13}C -NMR)能对不同的样品进行测定,提高了测定腐殖质的灵敏度,并且能直接测定土壤样品,这样可以真实的反映腐殖质的结构特征,因此 ^{13}C 核磁共振波谱已成为腐殖质研究中主要的分析手段之一^[3-6]。

在分子体系中,由于各种碳核所处的化学环境不同,所以它们具有不同的共振频率,即产生化学位移现象。从核磁共振波谱能获得许多关于腐殖质的结构信息,从组峰的数目可以知道分子中不同种类的氢核数目;从化学位移值可推测碳核所处的官能团;从各种峰的积分高度比可求得对应的碳核个数比。

2 核磁共振波谱测定腐殖质的组成

腐殖质根据其在酸碱溶液中的溶解度分为胡敏酸、富里酸和胡敏素 3 个部分。腐殖质主要由 C、H、O、N、S、P 等元素组成,元素组成相对固定,40%—60% 碳,30%—50% 氧,4%—5% 氢,1%—4% 氮,1%—2% 硫,0—0.3% 磷。不同来源的腐殖质在核磁共振谱图上都有这几个特征峰:32 ppm 处指示是甲基、亚甲基、次甲基 C;56 ppm 处指示与木质素及其类似物有关的甲氧基 C;73 ppm 指示与纤维素有关的氧基 C;105 ppm 指

收稿日期: 2000-07-26; 修改稿收稿日期: 2001-02-27

基金项目: 国家自然科学基金(20077008)及国家攀登预选项目“95-预-39”5-4 专题联合资助

作者简介: 梁重山(1974-),男,中国科学院地球化学研究所博士研究生,研究方向是土壤环境化学。

示多糖的芳香 C; 130 ppm 指示芳香基、非饱和 C; 150 ppm 指示酚基 C; 172 ppm 指示羧基 C; 200 ppm 指示羰基、醛基、酮基 C。由此可确定腐殖质的官能团主要有羧基、醇羟基、酚羟基、酮型羟基和酮型羰基等, 其中富里酸含羧基、醇羟基、酚羟基和酮型羰基的量要比胡敏酸多, 而胡敏酸含酮型羟基的量要比富里酸高。

另外, 一般使用碱溶液来提取土壤腐殖质, 这样提取的腐殖酸的有效性和可靠性一直受到人们的怀疑。采用 ^{13}C -NMR 谱对土壤样品和腐殖质各组分测定, 表明虽然提取过程中腐殖质有较大损失, 但提取物完全能反映其原有组成^[7](表 1)。

表 1 土壤和其腐殖酸(胡敏酸、富里酸和胡敏素)NMR 谱中的官能团组成

Table 1 Component of Function Groups of NMR Spectrum in Humic Acids (Humic Acid, Fulvic Acid and Humin) in Soil

类型	化学位移 / ppm						芳化度 / %	烷烃度 / %
	190-165	165-140	140-110	110-90	90-50	50-0		
土壤	5.4	6.0	9.0	10.5	49.7	19.4	15.0	79.6
各组分总和	5.7	7.3	12.6	9.2	46.9	18.3	19.2	74.4

芳香基是腐殖质的基本结构单元, 并且通过其芳化度的大小, 可近似的估计出侧链烃的长度。而 Hatcher^[11] 在实验中发现热解过程中含氧产物比例很高, 而模型中缺少含氧官能团, 因此这一模型需要进行必要修改, 甚至根本就不对。后来, Cool 和 Langford^[12] 通过参差极化魔角样品自旋(CP-MAS) ^{13}C -NMR 测定了土壤腐殖质的结构特征。指出富里酸的结构特点是骨架由脂肪烃构成, 芳香基是主要变化的部分, 羧基是主要变化的官能团; 而胡敏酸由绝大部分固定组分脂肪烃与很少的变化组分(芳香基)构成。

4 不同来源腐殖质的差异

Krosshavn 等^[13] 研究表明土壤腐殖质结构受到腐殖化度和植被的影响。发现随着腐殖化度的提高, 土壤的脂肪 C 增加, 羟基减少, 羧基增加, 而芳香 C 几乎不变。植物类型对腐殖质组成有较大影响, 树林土壤和沼泽土壤中腐殖质的芳化度有较大的差异, 分别为 16.2% 和 8.5%。Wershaw 和 Pinckney^[14] 研究了各种类型土壤中和沉积物中胡敏酸的结构组成, 发现这些胡敏酸都部分的包含原有植物组织。通过 ^{13}C -NMR 谱标识这些植物组织主要含有木质素、碳水化合物和长链烷烃等结构单元。因此植被类型不同会导致腐殖质组成不同是必然的。Saiz-Jimenez et al.^[15] 通过核磁共振光谱法测定了不同地点土壤样品中腐殖质, 表明不同土壤中胡敏酸、富里酸和胡敏素的结构特征相似。胡敏酸与胡敏素的芳化度接近, 富里酸比胡敏酸的芳化度要低, 胡敏酸和富里酸是两种类型的有机质, 富里酸不是胡敏酸的降解产物。腐殖质中有木质素的降解产物, 因此腐殖质中的芳香结构可能来自木质素的降解, 而腐殖质中链烷结构可能是角质和软木脂等生物聚合物的后期加入。

研究表明表层土中胡敏酸的酚基含量较高, 随着降解过程加剧含量会下降; 芳化度随土壤深度和降解过程会升高, 原因可能是芳香基不易被降解, 或土壤微生物会合成出芳香化合物加入到腐殖质中。Malcolm^[16] 比较了土壤、河流沉积物和

3 腐殖质的网状结构模型

从 ^{13}C -NMR 谱可以知道胡敏酸中含有大量的长链烷烃, 同时含有一定量的芳香基、羧基和碳水化合物为其主要结构特征; 富里酸以含有大量的羧基、碳水化合物及多糖, 同时含有一定量的芳香基和链烷基为主要结构特征; 胡敏素含有许多羧基、碳水化合物及多糖结合在脂肪链上, 同时含有一定量的甲基、醚、羧基和酰胺基团等^[6]。Schulten^[9] 通过 ^{13}C -NMR 数据和热解方法提出一个胡敏酸分子的化学结构模型, 认为胡敏酸分子的核心结构是烷基芳香烃, Zhang^[10] 等人也认为带侧链烃的

海洋沉积物腐殖酸结构的差异。海洋沉积物的富里酸中的烷烃含量最高, 芳化度最低, 而土壤中富里酸的芳化度、C-O 键和羧基含量最高。海洋沉积物胡敏酸中的芳化度、酚基和甲氧基含量最低; 河流和土壤的胡敏酸芳化度相同。由于气候、地理位置、植被的不同, 腐殖质的组成存在很大的差异, 通过对腐殖质的研究可以了解一个地区的气候和环境的变化过程。

5 腐殖质研究的环境意义

将 ^{13}C -NMR 法应用于土壤环境化学中, 取得了许多新的认识。用 ^{13}C -NMR 测定土壤有机质的极性碳含量后, 发现它与吸附量有直接的关系, 而不是原先笼统的认为有机质含量与污染物吸附量有直接的关系^[17]。Thorn^[18] 用 ^{15}N 羟胺标记物研究了腐殖质中羰基的衍生化反应机理, 探讨了含氮有机污染物在土壤中的吸附、固定和降解过程。Guthrie et al.^[19] 研究了有机污染物在土壤的吸附和迁移过程。 ^{13}C -NMR 谱显示它与土壤腐殖质存在非共价键关系, 即存在范氏力和氢键力, 这些作用力避免了有机污染物对地下水的污染。LU^[20] 将腐殖质在 ^{13}C -NMR 谱图上的特征峰定义了四个比值, 分别具有特殊的意义: 73ppm/105ppm 大小代表纤维素和木质素的相当含量; 73ppm/130ppm 大小表示纤维素 C 和芳香基 C 的分配特征; 172ppm/130ppm 表示腐殖质的氧化程度; 56ppm/130ppm 表示腐殖质的矿化程度。他们测定了沼泽水、土壤、泥炭及褐煤中的腐殖质, 发现沼泽和土壤腐殖质比泥炭及褐煤含有较多的碳水化合物和羧酸化合物, 并且腐殖化程度要比泥炭及褐煤的低。可见通过这 ^{13}C -NMR 谱可以标识不同来源的腐殖质。人们已证实了沉积物中的腐殖质是藻类生物的降解产物, 而不是原先认为的主要来自陆地植物。

6 总结

综上所述, 核磁共振波谱法在腐殖质研究中应用, 使我们对腐殖质有了更多的认识。但从目前腐殖质研究的现状来看, 仍有许多有待解决的问题, 而其中大部分问题的解决必须依

依赖于核磁共振波谱法和其他分析测试方法(IR, FS, ESR)

6.1 N、P 和 S 组分

N、P 和 S 是植物生长所需的重要元素,在农业上有特殊的地位。要认识这些元素在土壤中的赋存状态、迁移形式和化学反应,前提是要确定这含 N、P、S 有机质。但至少 50% 的 N 有机化合物和更高比率的有机 P 和有机 S 化合物没有被确定下来,因此需要加强这方面的研究。

6.2 腐殖质的化学结构

目前,对腐殖质的化学结构存在两种认识:①认为胡敏酸、富里酸及胡敏素都包含由一个酚和部分氧化了的木质素单体和双体组成网状结构。其他羧酸类、脂肪类等有机物吸附在这种结构上,所以,实验中发现有机质分子的结构形状决定了其物理性质,而化学性质则由表面的酚基和羧基等官能团决定的;②通过扫描电镜、粘度测定、表面张力测定发现胡敏酸和富里酸胶团的大小和形状受 pH 值的影响极大。认为是不同组分的有机化合物依靠氢键力、范氏力及色散力等作用力聚合在一起,形成弹性海绵状结构。吸附和固定有机和无机组分。pH 值升高时有利于羧基和羟基的离子化,所以胶团变小了。这两种结构模型是在大量实验基础上的推测,还需要做进一步研究。

6.3 单一组分的腐殖质

尽管做了许多努力,至今未能成功分离出单一组分的腐殖质。包括使用多次色谱柱分离。进行物质结构分析的前提,是要得到其单一的组分。可见在土壤腐殖质结构的研究中最大障碍是分离的腐殖质组分不是单一组分。在今后的研究中应优先发展先进的分析方法解决这一难题。

6.4 无机成分与土壤有机质的相互作用

需要进一步研究金属离子和黏土与土壤有机质的相互作用关系。原因是对于土壤的起源、土壤结构的形成及养分的可利用性有很大的影响,而且能了解主要有用养分的化学性质及它们在土壤中的迁移、转化和赋存形式。在缺乏土壤有机配体时,土壤中过渡元素因发生水解而沉淀或吸附在土壤胶体表面会在环境中迁移,而土壤有机质与过渡元素的配合能形成稳定的结构,有利于消除这些元素对环境的污染。有些土壤腐殖质与矿物质颗粒形成稳定的结构而不易被萃取,被认为是胡敏素。用二甲亚砷-盐酸溶解它们后,发现这些有机质的性质与胡敏酸和富里酸类似,只是含羧基较多。如能释放这些腐殖质可为植物提供更多的养分。

6.5 土壤有机质与有机污染物的相互作用

土壤有机质是多电荷的胶团,在自然系统中重要的作用——吸附有机污染物(农药和杀虫剂等)及促使污染物的降解。有机污染物在土壤中的存在时间、降解过程、生物可利用性及挥发性取决于土壤有机质的性质和浓度。土壤有机质含量高有利于有机污染物的吸附和降解,自然的消除有机污染而保持生态平衡。现在的许多研究只是初步的探索过程,借助于先进的分析方法和测试手段,对土壤有机质与有机污染物相互作用的机理需要做进一步详细的研究。

参考文献:

[1] Lee G D H, Wilson M A, Young B R. The application of the

"WATERGATE" suppression technique for analyzing humic substances by nuclear magnetic resonance[J]. *Org Geochem*, 1998, 28: 549 - 559.

- [2] Benzing - purdie L, Cbeshire M V, Williams B L, et al. Interactions between peat and sodium acetate, ammonium sulphate, urea or wheat straw during incubation studied by ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy[J]. *J Soil Sci*, 1992, 43: 113 - 125.
- [3] Schnitzer M. Soil organic matter - the next 75 year[J]. *Soil Sci*, 1991, 151(1): 41 - 58.
- [4] Gaffney J S, Marley N A, Clark S B. Humic and fulvic acids isolation, structure, and environmental role[M]. American chemical society, American Chemistry Society, Washington. 1996.
- [5] Beck A J, Jones K C, Hayes M H B, et al. Organic substances in soil and water: natural constituents and their influences on contaminant behaviour[M]. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. 1993.
- [6] Wilson M A. N. M. R. techniques and applications in geochemistry and soil chemistry[M]. Pergamon press. New York, 1987.
- [7] Rosshavn M K, Koger - Knabner I, Southon T E, et al. The influence of humus fractionation on the chemical composition of soil organic matter studied by solid state ^{13}C NMR[J]. *J Soil Sci*, 1992, 43: 473 - 483.
- [8] 李云峰,王兴理. 腐殖质 - 金属离子的络合稳定性及土壤胡敏素的研究[M]. 贵阳:贵州科技出版社,1999.
- [9] Schulten H R, Schnitzer M. Temperature - resolved in - source pyrolysis - soft ionization mass spectrometry of soil humic acids[J]. *Org Geochem*, 1993, 20: 17 - 25.
- [10] Zhang J, Zhai J J, Zhao F Z, Tao Z Y. Study of soil humic substances by Cross - polarization magic angle spinning ^{13}C nuclear magnetic resonance and pyrolysis - spinning gas chromatography [J]. *Anal Chimica Acta*. 1999, 378: 177 - 182.
- [11] Hatcher P G, Faulon J L, Clifford D A, et al. In humic substances in global environment and implications on human health [A]. Senesi N, Miano T M, Eds. Elsevier, Amsterdam. 1994, 133 - 138.
- [12] Cook R L, Langford C H. Structural characterization of a fluvic acid and a humic acid using solid - state ramp - CP - MAS ^{13}C nuclear magnetic resonance[J]. *Environ Sci Technol*, 1998, 32: 719 - 725.
- [13] Krosshavn M, Southon T E, Steinnes E. The influence of vegetational origin and degree of humification of organic soils on their chemical composition, determined by solid - state ^{13}C NMR[J]. *J Soil Sci*, 1992, 43: 485 - 493.
- [14] Wershaw R L and Pinckney D L. NMR characterization of humic acid fractions from different Philippine soils and sediments [J]. *Anal Chimica Acta*, 1990, 232: 31 - 42.
- [15] Saiz - Jimenez C, Hawkins B L, Macifil G E. Cross polarization , magic - angle spinning ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy of soil humic fractions[J]. *Org Geochem*, 1986, 9(6): 277 - 284.
- [16] Malcolm R L. The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environment[J]. *Anal Chimica Acta*, 1990, 232: 19 - 30.
- [17] Kile D E, Wershaw R L, Chiou C T. Correlation of soil and sediment organic matter polarity to aqueous sorption of nonionic compounds[J]. *Environ Sci Technol*, 1999, 33: 2 053 - 2 056.
- [18] Thorn K A, Arterburn J B, Mikita M A. ^{15}N and ^{13}C NMR investigation of hydroxylamine - derivatized humic substances[J]. *Environ Sci Technol*, 1992, 26: 107 - 116.
- [19] Guthrie E A, Bortiatynski J M, Vanheemst J D H, et al. Determination of [^{13}C]Pyrene sequestration in sediment microcosms using flash Pyrolysis - GC - MS and ^{13}C NMR[J]. *Environ Sci Technol*, 1999, 33: 119 - 125.
- [20] Lu X Q, Hanna J V, Johnson W D. Source indicators of humic substances: an elemental composition, solid state ^{13}C CP/MAS NMR and Py - GC/MS study[J]. *Appl Geochem*, 2000, 15: 1019 - 1 033.