

滴定分析法在土壤胡敏酸研究中的应用

汤海明^{1,2}, 肖保华^{1,*}

(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, 贵阳 550002; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 胡敏酸是土壤有机质的重要组成部分, 是研究土壤有机质物理化学性质的重要环节之一。本文综述了国内外在土壤胡敏酸研究中所采用的各种分析方法, 详细论述了滴定分析方法在土壤胡敏酸官能团测定、土壤胡敏酸带电性质测定以及胡敏酸与金属相互作用研究中的应用, 并使用滴定分析法测定了贵州喀斯特地区石灰土胡敏酸中酸性官能团及其与 Ca^{2+} 形成络合物的稳定系数。通过总结对比滴定分析法在研究胡敏酸方面的应用, 本文认为现代滴定分析法在表征土壤胡敏酸物化特性和研究土壤胡敏酸演化规律等方面具有广泛应用前景。

关键词: 土壤有机质; 胡敏酸; 表征; 滴定分析方法

中图分类号: S153 文献标识码: A 文章编号: 1672-9250(2017)01-0151-06 doi: 10.14050/j.cnki.1672-9250.2017.02.005

土壤腐殖质是动植物残体进入土壤后, 被降解碎片在多种物理、化学以及微生物作用的共同作用下重新聚合形成的一类复杂的非均质的有机混合物^[1]。依据腐殖质溶解特性的不同, 研究者将其进一步分为三个相对均质的组分, 即 1) 富里酸(Fulvic acid, FA), 既可溶解于酸性溶液也可以溶解于碱性溶液; 2) 胡敏酸(Humic acid, HA), 只溶解于碱性溶液, 碱萃取液酸化后生成沉淀($\text{pH} < 2$); 3) 胡敏素(Humin), 既不溶解于酸性溶液也不溶解于碱性溶液^[2]。土壤胡敏酸是土壤腐殖质的一个重要组成。土壤胡敏酸分子结构中含有大量的活性官能团和芳香性结构, 如羧基、醇羟基以及酚羟基等, 能够与土壤中的金属元素(如 Cu、Fe、Zn、Pb 等) 以及其他有机物(如酶、细菌、有机污染物等) 发生相互作用, 同时土壤胡敏酸是土壤的肥力的重要指标, 影响上覆植物生长^[2-5]。因此, 对土壤胡敏酸的性质特征和演化规律以及土壤胡敏酸的环境行为的研究引起研究人员的关注。

滴定分析法是土壤胡敏酸研究的经典方法^[6]。滴定分析法凭借操作简单、定量测定相关数据等优点, 在土壤胡敏酸物理化学性质研究中具有重要地位。滴定分析法在土壤胡敏酸研究中的应用早期,

受仪器设备和相关理论的限制, 主要用于测定土壤有机质含量等物理参数^[7]。随着现代滴定仪器的发展与电化学理论在滴定分析法中应用, 滴定分析法逐渐扩展到土壤胡敏酸官能团组成与分布等胡敏酸理化特性的研究中^[5]。同时, 基于滴定数据的数理分析方法不断发展, 使得滴定分析法也广泛应用于土壤胡敏酸带电性质、胡敏酸与重金属或有机污染物的相互作用等研究中。

1 土壤胡敏酸的常用分析方法

在实际研究中, 由于土壤胡敏酸分子量巨大, 官能团种类繁多, 结构复杂, 且是一类非均质的有机混合物。因此, 想全面深入地研究土壤胡敏酸物理化学性质存在一定困难。目前, 研究人员主要采用元素分析、红外光谱、紫外可见光谱、核磁共振以及滴定分析等方法对胡敏酸的物理化学性质进行综合表征。

元素分析是测定化合物的元素组成与书写化合物结构式的关键手段。但由于胡敏酸的非均质性, 胡敏酸的元素分析数据难以推演出确定的有机分子式^[8]。红外光谱分析研究多采用傅里叶变换红外光谱(FTIR)。FTIR 可以对胡敏酸的结构进行

收稿日期: 2015-04-28; 改回日期: 2016-07-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(41273149); 国家重大研究计划项目(2013CB956702); 贵州科技攻关项目(黔科合 SY 字[2011]3109); 中科院百人计划项目。

第一作者简介: 汤海明(1989-), 硕士研究生, 从事环境地球化学研究。E-mail: 541519423@qq.com。

* 通讯作者: 肖保华(1970-), 研究员, 从事环境地球化学研究。E-mail: xiaobaohua@vip.skleg.cn。

表征,利用胡敏酸分子中官能团振动吸收能量的差别,研究人员能够确定胡敏酸官能团的大致分布(表1)^[9]。但胡敏酸作为高度缩合的天然大分子有机混合物,化学结构复杂,使得分子中多种官能团的红外吸收通常相互叠加,极大地增加了数据解析的难度,因而傅里叶变化红外光谱一般只用于胡敏酸的定性或半定量研究^[10]。紫外可见分光光谱(UV-Vis)是另一种常用的胡敏酸分子结构分析的工具,其利用胡敏酸分子对紫外光(190~400 nm)与可见光(400~800 nm)的吸收所产生的紫外-可见光谱对胡敏酸的组成、结构以及含量进行相关的测定与分析,如通常采用胡敏酸在465 nm及665 nm处的吸光度比值(即E4/E6)来反应胡敏酸的腐殖化程度、官能团结构以及其在土壤中的残留时间等^[2],但其测定结果依然受到胡敏酸分子量、pH值等诸多因素的影响。核磁共振(NMR)技术是现代胡敏酸结构研究中最有效分析手段,其利用特定原子核在强磁场下发生能级分裂,对特定频率的电磁波产生共振吸收,从而确定物质分子结构。有研究人员通过¹H-NMR对土壤有机质分析,发现富里酸中存在CH₃、(-CH₂-)_n、-OCH₃以及-COOCH₃组分^[11]。随着固体-¹³C-核磁共振(CP/MAS-¹³C-NMR)的广泛应用,研究人员归纳出土壤胡敏酸中常见官能团的化学位移信号(表2)^[1,12]。虽然核磁共振谱可以对胡敏酸分子结构进行定性分析与定量分析,却不能准确反映胡敏酸的表面带电性质。

表1 土壤胡敏酸的FTIR特征吸收峰分布^[9]

Table 1 Absorption peak of the function groups of soil humic acid by FTIR^[9]

特征吸收峰位置/cm ⁻¹	归属
3 400~3 300	酚羟基或醇羟基
2 930	烃类CH ₂ 反对称伸缩振动
2 860	烃类对称伸缩振动
1 720	羰基
1 625	芳烃骨架振动
1 540	酸仲酰胺
1 400	脂肪烃类中的-CH ₂ -、CH ₃
1 150	烷氧基
900	脂类骨架振动

与上述表征测定方法不同,滴定分析能够直接观察到体系变化,并且能够对胡敏酸进行定量分析。滴定分析方法已被广泛应用于土壤胡敏酸含氧官能团研究,土壤胡敏酸带电性质以及土壤胡敏酸与金属离子相互作用等研究之中。本文将就土

壤胡敏酸常用分析方法与滴定分析法在土壤胡敏酸研究中的应用进行综述,旨在表明现代滴定方法在表征土壤胡敏酸物化性质等方面的应用前景。

表2 CP/MAS-¹³C-NMR各官能团分布^[1,12]

Table 2 Chemical shift of the function groups of soil humic acid by CP/MAS-¹³C-NMR^[1,12]

化学位移/ppm	归属
0~45	脂肪碳
45~63	甲氧基碳
63~110	碳水化合物中的碳
110~160	芳香碳
160~187	羧基碳
187~220	羰基碳

2 滴定分析法在土壤胡敏酸研究中的应用

2.1 滴定分析法在研究土壤胡敏酸含氧官能团研究中的应用

国内外文献报道都表明,胡敏酸含有多种不同的活性官能团,如COOH、酚羟基、烯醇式羟基、醌、羟基醌、内脂、乙醚以及醇羟基等^[2]。滴定分析方法常被用于测定普通的含氧官能团的含量,其测定原理则是以这些官能团的酸碱性质为基础。

2.1.1 土壤胡敏酸中羟基含量测定

胡敏酸总酸度是COOH、酚羟基以及烯醇式羟基的总量^[2]。测定胡敏酸的总酸度,Schnitzer提出的Ba(OH)₂法(氧化钡吸收法)是最为常用的方法。其利用Ba(OH)₂与胡敏酸中酸性官能团中释放的H⁺反应,过滤掉残留物质,使用标准HCl对滤液进行滴定计算^[13]。该方法最大的优点在于简单,但是反应程度、氧含量等因素影响测定结果。有研究人员使用CH₂N₂对胡敏酸进行甲基化之后,采用Zeisel法测定甲氧基含量,最终换算为胡敏酸总酸度,则是另一种比较有效的方法^[14]。但Farmer与Morrison研究发现在重金属的催化下,容易副反应,导致胡敏酸甲基化不完全,导致测定结果偏小^[15]。为了解决甲基化不完全的问题,Wershaw与Pinckney提出三步甲基化方法:(1)在二甲基甲酰胺中,使用CH₂N₂将羧基和多数羟基甲基化;(2)同样在二甲基甲酰胺中,使用碘甲烷与具有碳负离子二甲基亚磺酰基将额外的羟基进行烷基化;(3)在二氯甲烷中,使用CH₂N₂将前面两步中水解的酸性基团进行甲基化^[16]。另一方面,Dubach与Martin等

则使用乙硼烷来测定腐殖质中的活性氢^[17], 从而计算胡敏酸总酸度。有研究人员使用 LiAlH_4 试剂(此前该试剂已在煤中活性氢的测定中广泛应用) 对胡敏酸进行分析, 显著提高测定结果的准确程度^[2]。

2.1.2 土壤胡敏酸中羧基含量测定

在测定胡敏酸中所含的羧基含量时, 有研究人员提出了醋酸钙法, 即使用醋酸钙与胡敏酸中的羧基进行离子交换, 然后再使用标准 NaOH 溶液对醋酸含量进行滴定, 最终计算出样品中羧基的含量^[13]。但是这种测定方法也有可能除羧基以外的基团释放出质子, 因此 Perdue 等建议使用醋酸钠代替醋酸钙作为离子交换剂^[18]。而酚羟基与醇羟基的含量, 则常用总酸度与羧基的含量关系就可以计算得出。

根据研究需求选取相应的滴定分析法也很重要。Roy 等研究发现, 测定土壤胡敏酸酸性官能团时, 电势滴定的结果略高于电导滴定法^[19]。随着研究的深入, Borggaard 通过电位滴定法区分出胡敏酸中的酚羟基、弱羧基和强羧基三类酸性基团^[20]。Arai 和 Kumada 采用电导滴定法测定胡敏酸的解离常数, 也划分出三类不同的强度的酸性基团, 并推测出在腐殖质中可能含有邻苯二甲酸型结构单元^[21]。同时采用酸碱电位滴定法研究石灰土胡敏酸的酸性官能团分布, 发现土壤胡敏酸酸性官能团的含量还可能与其表现分子量大小相关(表 3)^[22]。

表 3 不同分子量的石灰土胡敏酸酸性官能团分布^[22]

Table 3 Acidic function group contents in humic acids with different molecular weights^[22]

样品名称 /MW	总酸度 /(mol/kg)	羧基 /(mol/kg)	酚羧基 /(mol/kg)
LF1(MW>500K)	3.30	2.34	0.96
LF2(300K<MW<500K)	3.77	2.83	0.94
LF3(100K<MW<300K)	4.20	3.20	1.00
LF4(50K<MW<100K)	4.44	3.29	1.15
LF5(MW<50k)	5.26	3.78	1.49

2.1.3 胡敏酸中羰基含量测定

羰基是胡敏酸中另一类重要的含氧基团。对于羰基含量测定, 通常采用将羰基与羟胺、苯肼等试剂反应, 生成肟、腙等衍生物, 然后使用高氯酸进行回滴定的方法^[23]。但胡敏酸可能与氨基合成不能够水解的化合物, 并且某些含羰基的结构(如羟基醌, 芳香性的酮基等) 不能与上面所提到的羟胺、苯肼等试剂反应^[24], 使得测定结果不够准确。因

此, 研究人员常采用硼氢化钠将羰基还原为醇基, 然后使用标准 HCl 溶液滴定未被利用的硼氢化钠, 从而计算羰基的含量^[17]。另一方面由于胡敏酸结构复杂, 使得醌酮结构中的羰基的测定较为复杂。目前研究常用三种不同的方法对土壤胡敏酸中的羰基进行还原: (1) 在酸性溶液中利用 SnCl_2 进行还原; (2) 在碱性溶液中利用 SnCl_2 进行还原; (3) 在碱性三乙醇胺溶液中, 使用 Fe^{2+} 进行还原^[25-27]。Schnitzer 和 Riffaldi 观察到, 酸性条件下, SnCl_2 还原方法的测定值较高, 但碱性条件下, SnCl_2 还原与 Fe^{2+} -三乙醇胺还原结果则相当一致^[28]。

2.2 滴定分析法在研究土壤胡敏酸表面带电性质研究中的应用

土壤胡敏酸具有高分子量、多样官能团以及复杂空间结构等特点, 极易形成胶体, 而土壤胡敏酸胶体表面通常带有电荷, 其表面电荷性质直接影响土壤胡敏酸与土壤中酶、有机污染物和重金属的相互作用。所以, 准确测定土壤胡敏酸表面电荷量与电荷分布特性也就相当重要。

酸碱滴定法(早先被广泛应用于研究蛋白质表面的电荷密度等方面的研究^[29]), 加之 NICA-DONNAN 模型对胡敏酸的酸碱滴定曲线进行拟合, 能够获得关于胡敏酸表面结构的信息^[30]。STAT-pH 滴定法(恒定溶液 pH 值的滴定方法) 则可以更为深入研究胡敏酸胶体表面的质子性质^[31]。当胡敏酸表面的质子发生吸附-解吸时, 必然会导致溶液体系 pH 值发生变化, 加入酸碱使溶液体系的 pH 值保持不变, 通过酸碱滴定剂的加入量可以计算出胡敏酸表面质子的吸附量与释放量^[32]。不过上述两种方法只能够测定胡敏酸表面质子与 pH 变化量的关系, 却不能够准确测定土壤胡敏酸表面所带有的绝对电荷量。聚电解质滴定法(即用已知电荷量的聚电解质为滴定剂滴定土壤胡敏酸, 当滴定达到体系的电势零点时, 胡敏酸表面的电荷被完全中和) 根据电荷守恒原理可以计算出胡敏酸表面所带的电荷量^[33]。研究表明, STAT-pH 滴定法的滴定结果明显低于聚电解质滴定结果, 因此聚电解质滴定法更适宜于测定胡敏酸表面绝对电荷^[34]。

2.3 滴定分析法在胡敏酸解离平衡研究中的应用

土壤胡敏酸作为一类有机络合剂与聚电解质, 其质子解离过程是影响胡敏酸-金属络合过程和产物稳定性的重要因素。电位滴定分析法常应用于测定胡敏酸解离平衡的研究, 以玻璃电极作为指示

电极,饱和甘汞电极为参比电极,测定溶液体系 pH 值。使用铂电极测定氧化还原电位,利用标准碱溶液进行滴定,绘制 pH-V 滴定曲线,以确定滴定终点计算解离常数^[35]。滴定终点确定直接影响解离常数的准确计算,而利用近似样条函数确定终点的数值计算方法是较为准确的方法^[36]。另一方面,胡敏酸解离常数的准确计算在于拟合模型的选择,目前较为成熟的数学模型有离散模型和连续亲和谱模型。通过实验发现,使用离散模型与连续亲和谱模型同时处理胡敏酸和富里酸的电位滴定数据,两种模型所计算出的胡敏酸与富里酸解离常数均在误差允许范围内^[35-38]。由于胡敏酸的非均质性与结构复杂性,要更为准确计算胡敏酸解离常数,研究理论以及数据处理技术仍需要不断发展和改进。

2.4 滴定分析法在胡敏酸与金属离子络合作用研究中的应用

胡敏酸与金属离子络合作用的研究主要采用电导滴定法与电势滴定法。电导滴定法无需离子选择技术,滴定结果更好解释,并且能够研究更多种类的金属离子与胡敏酸的相互作用。电势滴定法需要使用离子选择电极,但目前可用的离子选择电极数量较少。因此,目前实际研究中,电导滴定法较电势滴定法更为常用,如 Makaychev 与 Motuzova 就利用电导滴定法测定胡敏酸与金属盐溶液体系等电点电导率的变化来研究胡敏酸与金属离子的络合作用过程^[39]。但两种滴定法在分析胡敏酸与金属离子络合作用时均受到络合金属性质、胡敏酸化学性质、酸碱条件以及溶液中的离子组成等因素的影响^[40]。

研究胡敏酸-金属络合物,胡敏酸官能团稳定常数以及络合物稳定常数是描述络合过程热力学稳定性的重要参数。在实际实验中,对于胡敏酸酸性基团(如羧基和酚羟基等)稳定常数的测定常使用电势滴定法^[41]。而 Stevenson 等通过电势滴定法测定腐殖酸与几种金属所形成的络合物的稳定系数,发现高分子量低电荷密度的胡敏酸络合金属离子能力强于低分子量高电荷密度的富里酸^[42]。Pendeya 与 Singh 则通过电势滴定法测定 Fe^{3+} 与不同来源的富里酸形成的络合物的稳定系数,发现在土壤环境中,富里酸-Fe 络合物也是相对稳定的^[43]。多种金属存在的体系中,滴定分析法能够研究体系内胡敏酸与某种或多种金属的作用过程和变化。采用自动电势滴定法研究石灰土剖面上土壤胡敏

酸与 Ca^{2+} 的络合作用,发现石灰土胡敏酸与 Ca^{2+} 的络合能力与含氧官能团的含量呈正相关,与胡敏酸的芳香性呈负相关^[22]。同时发现不同表观分子量的胡敏酸组分样品与 Ca^{2+} 络合,低分子量的胡敏酸 ($30\text{K} < \text{MW} < 100\text{K}$) 与 Ca^{2+} 的络合物的稳定系数大于高分子量胡敏酸 ($\text{MW} > 500\text{K}$) 与 Ca^{2+} 形成的络合物,这表明胡敏酸结合 Ca^{2+} 的能力与胡敏酸分子量呈负相关(图 1)^[22]。

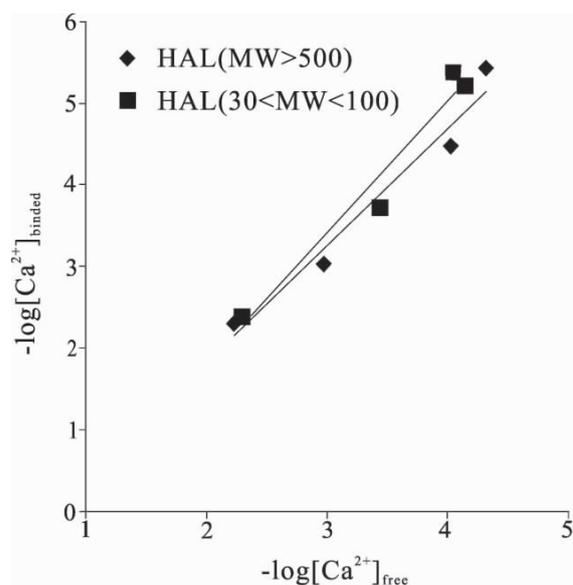


图 1 石灰土中不同分子量胡敏酸与 Ca^{2+} 作用(据文献 [22])

Fig.1 Reaction of Ca^{2+} with different molecular weights of humic acids in a lime soil(After ref. [22])

3 问题与展望

目前,滴定分析法已经能够定量测定土壤中有机的含量、胡敏酸官能团的组成、胡敏酸表面电荷特性与电荷量以及金属-胡敏酸络合物的相关物理化学参数。

近年来,滴定分析法,受到胡敏酸化学性质、实验环境温度、体系酸碱条件以及体系离子组成等因素的影响,其测定结果精确性饱受争议。为尽可能提高测定数据准确性,以电化学理论为基础的滴定方法成为土壤胡敏酸研究中的主要滴定方法,其中电势滴定与电导滴定是两种重要的滴定方式。电势滴定法测定体系内电势变化,辅以工作曲线能准确测定体系内各种离子浓度,适宜于胡敏酸与金属离子或有机污染物相互作用的研究。电导滴定法,能够直接测定体系中电导率的变化,更适宜于胡敏酸表面性质与官能团研究。然而随着热力学测量

电极的发展,量热滴定法可以直接准确测定溶液体系内的反应焓。在研究胡敏酸与金属离子或有机污染物作用过程中,相较于电势滴定与电位滴定,量热滴定法能更为准确测定作用过程的 ΔG 、 ΔH 以及 ΔS ,并精确计算作用过程的热力学常数^[44-48]。因此,量热滴定法更为适用于胡敏酸与金属离子或有机污染物作用机理的研究。目前,滴定法还不能准确测定胡敏酸与金属离子或有机污染物相互作用过程的动力学参数,致使无法完整描述胡敏酸作用过程的发生趋势。随着自动化滴定仪器的广泛应用以及测量方法不断改进,准确测定胡敏酸与金属离子或有机污染物相互作用过程的动力学参数将成为滴定方法主要研究方向。

滴定分析法中,除了采用滴定直接获得相关数据以外,对滴定数据进行数理分析则是对土壤胡敏酸定量研究的重要基础。早先,研究人员使用含有相似官能团的有机化合物(如聚丙烯酸类

物质等)对胡敏酸进行简化研究^[2],但测定结果与其他测定方法获得结果差距较大。目前,NICA-Donnan 模型等模型的提出,使得直接处理土壤胡敏酸滴定数据成为可能,这些模型被广泛应用于土壤胡敏酸、胡敏酸电荷分布测定以及胡敏酸与金属离子络合研究等方面,其中 NICA-Donnan 模型是最为广泛采用的模型^[30,49-50]。然而,土壤胡敏酸的非均质性以及结构的复杂性也限制了 NICA-Donnan 模型的应用。因此,提出更为合理更为精确的模型对滴定数据进行分析,已然成为在分析原理与实验方法之后,滴定分析法重要的发展方向与研究重点。

综上所述,滴定法作为一类重要的经典化学分析方法,仍是获得土壤胡敏酸相关数据的重要手段之一。随着与其他学科紧密结合,将数据进行更为深刻地解读,使滴定分析法将在土壤胡敏酸研究中得到更为广泛的应用。

参 考 文 献

- [1] Aiken G R. Humic Substances in soil, sediment, and water: Geochemistry, isolation, and characterization [M]. New York: John Wiley & Sons, 1985: 1-9.
- [2] Stevenson F J. Humus chemistry: Genesis, composition, reactions [M]. New York: John Wiley & Sons, 1994: 24-54.
- [3] Chiou C T. Physical concept of soil-water equilibria for non-ionic organic-compounds [J]. Science, 1979, 206(4420): 831-832.
- [4] Hayes M. Dynamic behavior of persistent organic pollutants in soil and their interaction with organic matter [A]. In molecular environmental soil science at the interfaces in the earth's critical [C]. Berlin Heidelberg: Springer, 2010, 1: 217-222.
- [5] 马连刚. 中国西南喀斯特地区典型土壤/泥炭胡敏酸特性及演化研究 [D]. 贵阳: 中国科学院地球化学研究所, 2014.
- [6] Takamatsu T, Yoshida T. Determination of stability-constants of metal humic acid complexes by potentiometric titration and ion-selective electrodes [J]. Soil Science, 1978, 125(6): 377-386.
- [7] 李鸿恩, 刘惠容, 张建新, 等. 测定土壤有机质丘林法的改进 [J]. 土壤通报, 1987, 4: 187-188.
- [8] Rice J A, MacCarthy P. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances [J]. Organic Geochemistry, 1991, 17(5): 635-648.
- [9] 顾志忙, 王晓蓉. 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 [J]. 分析化学研究简报, 2000, 3: 314-317.
- [10] 李丽. 不同级分腐殖酸的分子结构特征及其对菲的吸附行为的影响 [D]. 广州: 中国科学院广州地球化学研究所, 2003.
- [11] Schnitzer M, Barto D H R. A new experimental approach to the humic acid problem [J]. Nature, 1963, 198: 217-219.
- [12] 卓苏能, 文启孝. 核磁共振技术在土壤有机质研究中的应用的进展(上) [J]. 土壤学进展, 1994, 22(1): 46-52.
- [13] Schnitzer M. Chemical, spectroscopic, and thermal methods for the classification and characterization of humic substances [C]. In Proc. Intern Meetings on Humic Substances, Pudoc, Wageningen, 1972: 293-310.
- [14] Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). Methods of analysis [S]. Banta Menasha Wisconsin, 1955.
- [15] Farmer V C, Morrison R I. Lignin in sphagnum and phragmites and in peats derived from these plants [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1964, 28: 1537-1546.
- [16] Wershaw R L, Princkney D J. Methylation of humic-acid fractions [J]. Science, 1978, 199(4331): 906-907.
- [17] Dubach P, Mehta N C, Jakab T, et al. Chemical investigations on soil humic substances [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1964, 28(10): 1567-1578.
- [18] Perdue E M, Reuter J H, Ghosal M. The operational nature of acidic functional group analyses and its impact on mathematical descriptions of acid-base equilibria in humic substances [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1980, 44(11): 1841-1851.
- [19] Roy M M. On the electrometric titration of humic acid prepared from coal [J]. Kolloid-Zeitschrift, 1957, 153(2): 174-178.
- [20] Borggaard O K. Experimental conditions concerning potentiometric titration of humic acid [J]. Soil Science, 1974, 25(2): 1891-1895.
- [21] Arai S, Kumada K. Fractional determination of functional groups of humic acids by conductometric titration [J]. Geoderma, 1977, 19(4): 307-317.
- [22] 汤海明. 贵州喀斯特地区石灰土胡敏酸性质及其与 Ca^{2+} 络合研究 [D]. 贵阳: 中国科学院地球化学研究所, 2015.
- [23] Schnitzer M, Gupta U C. Some chemical characteristics of the organic matter extracted from the O and B2 horizons of a gray wooded soil [J]. Soil Sci Soc, 1964, 28(3): 374-377.
- [24] Leenheer J A, Wilson M A, Malcolm R L. Presence and potential significance of aromatic-ketone groups in aquatic humic substances [J]. Org Geochem, 1987, 11(4): 273-280.

- [25] Kukhareno T A , Yekaterina L N. Method of determining quinoid groups in humic acids[J]. *Soviet Soil Sci* , 1967 , 7: 933.
- [26] Vasilyevskaya N A , Glebko L I , Maximov O B. Determination of quinoid groups in humic acids[J]. *Soviet Soil Sci* , 1971 , 3: 224.
- [27] Glebko L I , Ulkina Zh I , Maximov O B. Semi-micro-method for determination of quinoid groups in humic acids[J]. *Mikrochim Acta* , 1970 , 6: 1247.
- [28] Riffaldi R , Schnitzer M. Effects of diverse experimental conditions on ESR spectra of humic substances[J]. *Geoderma* , 1972 , 8(1) : 1-10.
- [29] Scheele R B , Lauffer M A. Acid-base titrations of tobacco mosaic virus and tobacco mosaic virus protein[J]. *Biochemistry* , 1967 , 6(10) : 3076-3081.
- [30] Milne C J , Kinniburgh D G , Tipping E. Generic NICA-Donnan model parameters for proton binding by humic substances[J]. *Environ Sci Technol* , 2001 , 35(10) : 2049-2059.
- [31] Tan W F , Koopal L K , Norde W. Interaction between humic acid and lysozyme , studied by dynamic light scattering and isothermal titration calorimetry[J]. *Environ Sci Technol* , 2009 , 43(3) : 591-596.
- [32] 李艳. 土壤腐殖酸与酶蛋白相互作用的机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- [33] Tan W F , Norde W , Koopal L K. Humic substance charge determination by titration with a flexible cationic polyelectrolyte[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta* , 2011 , 75(19) : 5749-5761.
- [34] 胡书燕. 腐殖酸对重金属的吸附作用及金属竞争吸附特征[D]. 南京: 南京林业大学, 2008.
- [35] Thakur A K. Characterization of ligand-binding systems by continuous affinity distributions of arbitrary shape[J]. *Anal Biochem* , 1980 , 103: 240-254.
- [36] 李伟娟. 土壤腐殖酸的质子解离平衡研究[J]. *辐射防护通讯* , 1999 , 04: 9-13.
- [37] Marinsky J A , Ephraim J. A unified physicochemical description of the protonation and metal ion complexation equilibria of natural organic acid (humic and fulvic acids) . 1. Analysis of the influence of polyelectrolyte properties on protonation equilibria in ionic media: Fundamental concept [J]. *Environ Sci Technol.* , 1986 , 20: 349-354.
- [38] Richard A T , Choppin G R. Europium(III) and Americium(III) stability constants with humic acid[J]. *Radiochem Acta* , 1984 , 35: 143-148.
- [39] Makaychev I P , Motuzova G V. Complexation between metal ions and water soluble organic soil substances as analyzed by electrochemical techniques[J]. *Moscow University Soil Science Bulletin* , 2013 , 68(1) : 41-47.
- [40] De Wit J C M. Determination of H^+ and metal ion affinity distributions for humic substances[J]. *Water Air and Soil Pollution* , 1991 , 8(57) : 339-349.
- [41] Khil'ko S L , *et al.* Potentiometric titration of humic acid[J]. *Solid Fuel Chemistry* , 2011 , 5(45) : 337-348.
- [42] Stevenson F J. Nature of divalent transition ion metal complexes of humic acids as revealed by a modified potentiometric titration method[J]. *Soil Sci* , 1977 , 123: 10-17.
- [43] Pandeya S B , Singh A K. Potentiometric measurement of stability constants of complexes between fulvic acid carboxylate and Fe^{3+} [J]. *Plant and Soil* , 2000 , 223: 13-21.
- [44] Kimuro S. Determination of the protonation enthalpy of humic acid by calorimetric titration technique[J]. *The Journal of Chemical Thermodynamics* , 2015 , 82: 1-8.
- [45] Kitano H , Onishi Y , Kirishima A , *et al.* Determination of the thermodynamic quantities of complexation between Eu(III) and carboxylic acids by microcalorimetry[J]. *Radiochimica Acta* , 2006 , 94: 541-547.
- [46] Kirishima A , Onishi Y , Sato N. *et al.* Thermodynamic study on the U(VI) complexation with dicarboxylates by calorimetry[J]. *Radiochimica Acta* , 2008 , 96: 581-589.
- [47] Kirishima A , Onishi Y , Sato N , *et al.* Determination of the thermodynamic quantities of uranium(VI) -carboxylate complexes by microcalorimetry [J]. *Chem Thermodynamics* , 2007 , 39: 1432-1438.
- [48] Kirishima A , Sato N. Determination and comparison of the thermodynamic quantities of U(VI) complexation with "aliphatic" and "aromatic" dicarboxylic acids by calorimetry[J]. *Chem Thermodynamics* , 2014 , 70: 227-232.
- [49] 赵雪涛, 郝洪文. NICA-Donnan 模型对重金属吸附的应用进展[J]. *离子交换与吸附* , 2009 , 23(2) : 185-192.
- [50] Tan W , Xiong J , Li Y , *et al.* Proton binding to soil humic and fulvic acids: Experiments and NICA-Donnan modeling[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* , 2013 , 436: 1152-1158.

Application of Titrimetric Analysis in Humic Acid of Soil

TANG Haiming^{1,2} , XIAO Baohua¹

(1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry , Institute of Geochemistry , Chinese Academy of Sciences , Guiyang 550081 , China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences , Beijing 100049 , China)

Abstract: Humic acid is an important component of soil organic matter and is a key substance in understanding the physical-chemical property of soil organic matter. This paper reviewed the development of titrimetric methods for characterization analysis of soil humic acid , especially , in identification of functional groups of soil humic acid and in measurement of electric properties of soil humic acid , and discussed the application of titrimetric analysis methods in studying interactions of humic acids and metals in soils. We employed titrimetric analyses as an example to quantify acidic function group contents in humic acids from a limestone soil sample and evaluated the complex stability of Ca^{2+} and different humic acid fractions. By summarizing the new progress in titration analysis method and comparing titration method with others , this paper concluded that the titration analysis method is an important approach and has broad applications in studying the physicochemical property and the evolution rule of soil humic acid.

Key words: soil organic matter; humic acid; characterization; titrimetric analysis method