

土壤腐殖物质的固体¹³C核磁共振技术研究

李今¹, 季宏兵^{1,2*}

(1. 首都师范大学资源环境与旅游学院首都圈生态环境过程重点实验室, 北京 100048; 2. 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)

摘要 土壤腐殖物质的组成和结构复杂, 其中含有多官能团, 是土壤碳库中的重要组成部分。固态¹³C NMR 是研究有机化合物结构的有效手段, 特别对于不溶性 HM, 已成为其研究的重要技术方法。本文主要介绍了固体¹³C NMR 在土壤腐殖物质中的应用概况, 总结、归纳了土壤腐殖物质中不同官能团所对应的信号区间, 对比分析了腐殖物质中不同组分的结构区别, 讨论分析了固体¹³C NMR 在土壤腐殖物质结构与形态研究中的应用, 以期借助固体¹³C NMR 更加深入地对腐殖物质整体结构进行研究, 推进对腐殖物质形成、转化的探讨。

关键词 腐殖物质; ¹³C NMR; 化学位移

中图分类号 S153.6⁺22 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)10-111-02

Study on Solid State ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Technology of Soil Humic Substances

LI Jin-jin¹, JI Hong-bing^{1,2*} (1. Key Laboratory of Metropolitan Eco-Environmental Processes, College of Resource Environment and Tourism, Capital Normal University, Beijing 100048; 2. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Science, Guiyang, Guizhou 550002)

Abstract The composition and structure of humic substances is very complex, and there are many functional groups in it. Soil humic substances is an important part of soil carbon pool. Solid state ¹³C Nuclear Magnetic Resonance is an efficient method to study the structure of organic compounds, especially to insoluble Humin. Nuclear magnetic resonance technology has become an important technique method of Humin research. The application situation of solid ¹³C NMR in soil humic substances was introduced, the signal interval corresponding to different functional groups of soil humic substances were summarized, the different components of the structural difference in humic substances were compared and analyzed, the application of solid ¹³C NMR in soil humic substance in the study of structure and morphology was discussed. Therefore by means of solid state ¹³C NMR in more details on the overall structure of humic substances research, promote the formation of humic substances and discussion of transformation.

Key words Humic substances; ¹³C NMR; Chemical shift

土壤腐殖物质是土壤有机质的主要部分, 是全球碳平衡过程中重要的碳库, 是植物所需营养物质主要来源, 对重金属、有机污染物的迁移转化起重要作用。腐殖物质是由一系列具有不同分子量和大量含氧官能团的大分子有机质组成的非均质深色混合物。利用腐殖物质在酸碱溶液中的溶解性, 对其进行化学分组, 可分为胡敏酸(HA)、富里酸(FA)和胡敏素(HM)。其中, 胡敏酸溶于碱但不溶于酸, 富里酸既溶于酸又溶于碱, 胡敏素既不溶于酸又不溶于碱^[1]。

近年来, 对土壤腐殖物质的研究主要集中在元素组成、官能团含量、化学降解分析和同位素分异等方面。现阶段, 对腐殖物质的官能团研究以红外光谱技术和核磁共振技术(NMR)为主。虽然红外光谱的应用广泛, 但它只对研究某些官能团较有效。而核磁共振技术既可用于溶液态又可用于固态样品, 在测试过程中极大地减少对样品结构的破坏。特别是对于难溶的 HM 样品, 固体核磁共振技术是解决其研究的一大重要技术。

通过对相关文献及书籍的整理和分析, 笔者对现阶段腐殖物质的固体¹³C核磁共振技术的研究进展进行了阐述, 以期通过对固体¹³C NMR 的分析, 为土壤腐殖物质的形态结构研究提供理论依据。

1 固态¹³C NMR

自1963年 Schnitzer 和 Barton 首次将核磁共振技术引入土壤有机物质研究这一领域以来, 该技术已在土壤、水体、泥炭、污泥和煤炭等原材料中的有机物质的组成、结构及转化等研究中获得广泛的应用^[2-4]。

近年来, 固体和液体的¹H NMR 和¹³C NMR 都已成功地应用于腐殖物质的研究, 但由于 C 是有机化合物的骨架, 因此与¹H NMR 相比, ¹³C NMR 能够得到更多的结构信息, 对于研究腐殖物质的结构有着十分重要的意义。而对于难溶的 HM 样品, 固态¹³C NMR 成为解决 HM 研究困难的一大重要技术。

由于¹³C 的天然丰度很低, 检测较困难, 直到 20 世纪 80 年代初, 固体¹³C NMR 才被用于土壤腐殖物质的研究。此前, 由于在空气中用碱液提取腐殖物质易使腐殖物质各组分发生结构上的变化, 用化学方法提取腐殖物质存在一定局限性, 特别是对于不溶的胡敏素几乎无法进行结构分析, 因此采用固体¹³C NMR 技术对土壤腐殖物质进行原位测试就显得十分必要。1980 年 Schnitzer 和 Barton 首次将固体¹³C NMR 用于土壤有机质的结构研究, 之后又应用 CP/MAS 技术(交叉极化/魔角转动样品)使得波谱质量大为提高。

2 土壤腐殖物质的¹³C-NMR 化学位移

在核磁共振技术中, ¹³C 化学位移是重要的参数。它直接反映测试物质中所含基团的情况。在一般情况下, 固体¹³C-NMR 的化学位移范围在 0~250 ppm 之间。除化学位移偶然重合的情况外, 每个含碳基团都有自己的特征峰。

不同结构与化学环境的碳原子的化学位移基本表现为:

基金项目 国家自然科学基金(批准号:41073096); 国家自然科学基金(批准号:41173113); 中国科学院“百人计划”资助。

作者简介 李今(1988-), 女, 河南安阳人, 硕士研究生, 研究方向: 环境地球化学。* 通讯作者, 教授, 博士, 从事环境生物地球化学方面的研究。

收稿日期 2015-02-28

饱和碳在较高场,炔碳次之,烯碳和芳碳在较低场,而羰基在更低场^[5]。

在以往对腐殖物质的固态¹³C核磁共振的研究中,对所含基团所在信号区间的划分略有不同,但对不同官能团的归属基本一致,主要分为烷基碳、烷氧碳、芳香碳、羧基碳和羰基碳5个不同类型碳区间。有些研究也将羧基碳与羰基碳合并为一类。一般认为,在0~100 ppm之间属于脂肪碳,包含不直接连氧、氮、氟等杂原子的饱和碳(烷基碳)和炔碳(烷氧碳)。腐殖物质中主要¹³C信号区间0~50、50~100、100~160、160~190、190~220 ppm的归属分别为烷基碳、烷氧碳、芳香碳、羧基碳、羰基碳。

固体¹³C NMR与液体¹³C NMR的化学位移各向异性相差小于3 ppm,因此可以相互借鉴套用。Schnitzer等^[4]于1974年首次测定甲基化FA的¹³C NMR波谱,发现在53、166 ppm处有吸收信号分别归属于-OCH₃和与-OCH₃相连的芳香碳。随后Vila等^[6]发现,随着样品含N量的提高,50~70 ppm吸收增强,说明HA、FA中有与N相连的碳(氨基酸)。根据以往对土壤HA、FA的研究,174 ppm为COO⁻、-COOH和-COONH₂等的吸收;101 ppm为乙缩醛的信号。对于<60 ppm的烷基碳可以分辨出末端CH₃(14.2 ppm)、β-CH₂(17.8 ppm)和γ-CH₂(30 ppm)3种类型的C。

综合以往的研究结果,可以将土壤腐殖物质的官能团类型与对应的化学位移分为以下几个部分,即化学位移13、20、31、40、56、76、93、101、113、126、140、153、167、178、187、202 ppm处的官能团类型分别为甲基碳、亚甲基碳、与氧相连的脂肪碳、与碳、氢相边的芳香碳、与氧相连的芳香碳、羧基碳、羰基碳^[7]。

在早期用化学方法对腐殖物质的研究中,学者普遍认为腐殖物质是芳香本性的。而在固体¹³C NMR的研究中,几乎所有研究都检测到大量的脂族C信号,而芳香C信号较弱^[8]。这表明土壤腐殖物质中相当一部分碳是以脂肪碳的形式存在。这与过去用化学方法得出的认为腐殖物质是芳香本性的推论不一致^[2,8]。可知,芳香结构和脂族结构在土壤腐殖物质中都是极为重要的组分,其中脂族C含量一般较芳香碳多。

由核磁共振波谱计算得到的腐殖化指数(HI)和芳香度(fa),可以用来评价有机质的结构特征^[8-9]。Ussiri等^[9-13]认为,烷基C是难以降解的稳定有机碳组分,而烷氧C则相对易分解,因此通常将HI作为土壤有机质分解程度的评价指标。腐殖化指数的计算公式如下:

$$\text{腐殖化指数} = \text{烷基C}(0 \sim 50) / \text{烷氧C}(50 \sim 100)$$

芳香度常被用来描述土壤有机质的腐殖化程度,其计算公式如下:

$$\text{芳香性} = \text{芳香C}(100 \sim 160) / (\text{芳香C} + \text{烷基C} + \text{烷氧C})$$

文启孝等^[2]列出了全土中不同形态碳的相对含量,发现全土有机质中芳香碳的含量并不高,一般仅在20%左右,主要为链烷碳和碳水化合物(烷基碳和烷氧碳)。核磁共振技

术测得的fa较低,一般比化学方法低20%以上。这可能是由碱性KMnO₄氧化降解的原因造成的。

Lu等^[14-15]将腐殖物质在¹³C NMR谱图上的特征峰定义了4个比值,分别具有特殊的意义:73 ppm/105 ppm表示纤维素和木质素的相当含量;73 ppm/130 ppm表示纤维素C和芳香C的分配特征;172 ppm/130 ppm表示腐殖物质的氧化程度;56 ppm/130 ppm表示腐殖物质子的矿化程度。

3 腐殖物质中不同组分的¹³C-NMR

腐殖物质中的含氧官能团使其表现出离子交换性、配合性、氧化还原性及生理活性等^[15],同时含氧官能团的含量反映腐殖物质组分的氧化程度。腐殖物质中HA、FA和HM在性质上表现出一定的差异性。利用¹³C NMR对其组分和结构进行比对,对于腐殖物质各组分之间的形成与转化有重要的研究意义。目前,在对于腐殖物质不同组分的研究中,较多的集中在HA和FA上,而对于HM组分的研究较少,主要是由于其与无机矿物结合紧密,提取和纯化较困难造成的。

窦森等^[16-18]对土壤腐殖物质不同组分进行了固体¹³C NMR测定,并将胡敏素细分为铁结合胡敏素(HMi)和黏粒结合胡敏素(HMc)。研究表明,4种组分出峰点一致,均在30.25、54.31、71.69、101.5、131.11、172.25和211.82 ppm处表现出明显特征峰,分别代表聚亚甲基、甲基、碳水化合物羟基、乙缩醛、取代芳香碳、羰基碳、酰胺态碳。HA与HMi相近,芳香性和氧化程度较高,结构复杂;而HMc与FA相近,脂族性更强,结构相对简单。

不同分解程度植物残体的¹³C NMR的大量研究表明,随着腐殖化程度的增加,腐解产物中烷基C和羰基C的含量增加,而烷氧C含量下降。至于芳碳,不同研究人员之间得到的结果差异较大。一部分学者认为,随着腐殖化程度增加,芳碳含量也增加。但大多数研究者观察到,芳碳基本保持稳定。以往大量研究是通过核磁共振技术测定不同土壤中腐殖物质的不同组分,从而得到HA、FA和HM的结构特征相似的结果。同时,他们认为HA与HM的芳化度接近,而富里酸的芳化度低于胡敏酸。综合大量研究材料,土壤胡敏酸、富里酸的芳化度大多分别在30%~45%和10%~20%之间^[2]。一些研究者报道某些土壤HA的芳化度较高,但亦在55%以下。但是,对于HA和FA芳化度的比较,以往研究中也存在FA的芳化度高于HA的情况出现。这可能与样品制备、测定方法有关。所以,在FA和HA芳化度的比较中,目前尚没有一致的结果。

在FA的¹³C NMR谱中,普遍在74和105 ppm表现出很强的信号,表明其中碳水化合物的含量很高。据此,可以认为FA以多糖结构为主。

在提取HA、FA后的剩余残渣中灰分含量较高,因此需用HCl-HF进行处理后,得到较纯净的HM,方可进行核磁共振测试。大部分报道认为,HM与HA的谱图较为相似,但也有部分报道认为HM的谱图更接近于FA。

有的数据关系。在运用神经网络方法来检测冻土水分时,应该提供尽可能多的样本数据、尽可能多的全部模式。输入的所有变量应该相互独立,而不是彼此影响和制约。提供的样本数一方面随着网络映射关系的复杂程度的增大而增加,另一方面样本数随着数据噪音的增大而增加。

尽管人工神经网络自适应性很好,但是也不能将各项数据不经整理就随便丢给处理。在检测冻土水分前,应首先将所有相关的资料及数据分析整理,将不重要的和错误的信息确定排除干净,将需要的原始数据保持在模型许可的范围内,在转换训练样本与测试样本时必须采取相同的比例。

在运用神经网络进行冻土水分检测时,注重分析影响冻土水分迁移的各个因素,进而确定输入层和输出层。此外,由于人工神经网络的泛化功能优良,还应该选择适宜次数的训练,选取合适的目标误差。

7 结语

随着人们对神经网络研究的深入,也发现一些方法中存在着缺陷。近年来,不断有人提出各种改进方法。但是,总体说来,神经网络在土壤冻土水分迁移中的运用已日臻成熟。

参考文献

- [1] HOLDEN J T. Approximate solutions for Muller's theory of secondary heave[C]//Proceedings of IVICCP,1983:498-503.
- [2] 徐学祖. 冻土与盐溶液系统中卷质迁移及变形过程试验研究[J]. 冰川冻土,1992,14(4):289-295.

(上接第 112 页)

4 小结

在现阶段腐殖物质的研究中,固态¹³C核磁共振技术起至关重要的作用,但对于腐殖物质的形成、转化机理至今仍未有一套详实的解释。由于腐殖物质本身过于复杂,其研究理论存在较大分歧。基于不同的土壤形成假说,出现了不同的观点。由于腐殖物质生成机制,各组分形成顺序和转化机理存在着多种可能性。在今后的研究中,仍需进一步的探讨和详细的研究,从而对土壤发生有新的认识。

由于土壤腐殖物质的组成和结构复杂且具有变异性,腐殖物质与土壤无机组分结合的多样性,通过腐殖物质的分组及核磁共振技术仅能对腐殖物质的整体结构进行研究,对腐殖物质结构的研究仍处在探索阶段,仍需进一步的探讨。

参考文献

- [1] 黄昌勇. 土壤学[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [2] 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新进展(上)[J]. 土壤学进展,1994,22(5):46-52.
- [3] 斯蒂文森 F J. 腐殖质化学[M]. 夏荣基,等,译. 北京:北京农业大学出版社,1994.
- [4] BARTON D H R, SCHNITER M. A new experimental approach to the humic acid problem[J]. Nature,1963,198:217-219.
- [5] 沈其丰. 核磁共振碳谱[M]. 北京:北京大学出版社,1988.
- [6] FRANCISCO J, GONZALEZ V. FT-C¹³ nuclear magnetic resonance spectra of natural humic substances[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications,1976,72(3):1063-1070.
- [7] 王永刚,周剑林,陈艳巨,等.¹³C 固体核磁共振分析煤中含氧官能团的研究[J]. 燃料化学学报,2013,41(12):1422-1426.

- [3] 徐学祖,王家澄,张立新,等. 土体冻胀和盐胀机理[M]. 北京:科学出版社,1995.
- [4] 徐学祖,王家澄,张立新,等. 温度梯度诱导薄膜水迁移的冻胀机理[J]. 科学通报,1997,42(9):956-959.
- [5] 王家澄,程国栋,张宏鼎,等. 饱水砂土反复冻融时成冰条件的实验研究[J]. 冰川冻土,1992,14(3):101-106.
- [6] 张立新,徐学祖,张招祥,等. 冻土未冻水与压力关系的实验研究[J]. 冰川冻土,1998,20(2):11-14.
- [7] 李萍,徐雪祖,王家澄,等. 不连续分凝冰发育规律的研究[J]. 兰州大学学报,2000,36(5):126-133.
- [8] 何平,程国栋,俞析浩,等. 饱和正冻土中的水、热、力场耦合模型[J]. 冰川冻土,2000,2(2):135-138.
- [9] 赵建军,董金梅,王沛,等. 正冻土中的水热耦合模型[J]. 天津城市建筑学院学报,2001,7(1):47-52.
- [10] 毛雪松,王秉刚,胡长顺. 多年冻土路基水分迁移热力学性能分析[J]. 路基工程,2006(4):1-4.
- [11] 尚松浩,毛晓敏. 基于 BP 神经网络的土壤冻结温度及未冻水含量预测模型[J]. 冰川冻土,2001,23(4):414-418.
- [12] 李强,杨平. 基于神经网络的声波法预测冻土强度的研究[J]. 建井技术,2002,23(6):26-28.
- [13] MA Q Y, ZHANG Z H. Classification of frozen soil blastability by using perceptron neural network[J]. Journal of Coal Science,2002,8(1):54-58.
- [14] 梁若筠. 基于神经网络方法的冻土水分迁移研究[D]. 兰州:兰州大学,2007.
- [15] 常斌,李宁,苏波,等. 通风管路基温度场神经网络预测模型[J]. 岩土力学与工程学报,2004,23(24):4131-4136.
- [16] 姚兆明,周启俊. 人工冻土温度场的智能方法预测[J]. 安徽理工大学学报,2005,25(3):27-29.
- [17] 何秉顺,刘建坤,房建宏. 使用人工神经网络预测冻土区公路路基沉降[J]. 公路交通科技,2005,22(11):43.
- [18] 李宁,程国栋,徐学祖,等. 冻土力学的研究进展与思考[J]. 力学进展,2001,31(1):95-102.

- [8] 窦森. 核磁共振波谱在土壤有机质研究中的应用[J]. 土壤通报,1988(5):237-239.
- [9] USSIRI D A N, JOHNSON C E. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ¹³C NMR spectroscopy and chemical methods[J]. Geoderma,2003,111:123-149.
- [10] KNICKER H, ALMENDROS G, GONZÁLAE-VILA F J, et al. Characteristic alterations of quantity and quality of soil organic matter caused by forest fires. In: continental Mediterranean ecosystems: a solid-state ¹³C NMR study[J]. Eur J Soil Sci,2006,57:558-569.
- [11] 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¹³C核磁共振研究[J]. 中国农业科学,2009,42(6):2223-2228.
- [12] BALDOCK J A, PRESTON C M. Chemistry of carbon decomposition processes in forests as revealed by solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance[M]//MCFEEM W W, KELLY J M. Carbon Forms and Functions in Forest Soils. Madison, WI: Soil Science Society of America,1995:89-117.
- [13] CHUNG T L, CHEN J S, CHUI C Y, et al. ¹³C-NMR spectroscopy studies of humic substances in subtropical perhumid montane forest soil[J]. J For Res,2012,17:458-467.
- [14] 梁重山,党志. 核磁共振波谱法在腐殖质研究中的应用[J]. 农业环境保护,2001,20(4):277-279.
- [15] LU X Q, HANNA J V, JOHNSON W D. Source indicators of humic substances: an elemental composition solid state ¹³C CP/MAS NMR and Py-GC/MS study[J]. Applied Geochemistry,2000,15(7):1019-1033.
- [16] 窦森. 土壤有机质[M]. 北京:科学出版社,2010:71-105,211-218.
- [17] CAMILLE K, EUGENE F K, GARY E M. Chemical-structural information from solid-state ¹³C NMR studies of a suite of humic materials from a lower montane forest soil[J]. Geoderma,2006,130:124-140.
- [18] DAVID A N U, CHRIS E J. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ¹³C NMR spectroscopy and chemical methods[J]. Geoderma,2003,111:123-146.