

土壤有机质提取方法的研究进展

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;

2. 华南理工大学 应用化学系, 广东 广州 510641)

摘 要:有机质对土壤中无机有机养分的保蓄、良好土壤结构的形成以及有毒有害物质的毒性消除等方面具有重要的作用。土壤有机质成分复杂,是一个多组分体系,而对其分离和纯化方法的有效性和可靠性是土壤有机质研究中的关键问题。本文就近年发展的一些分离和纯化的方法进行了总结。

关 键 词:土壤有机质;分离和纯化

中图分类号: S153.6⁺21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-2802(2001)01-0058-04

全世界已经合成出各种化学物质约 1 000 万种,每年还新合成约 10 万种^[1]。许多物质在生产、存储、运输和使用过程中不可避免地进入环境,造成严重的环境污染。很多有机物是易挥发、难降解的“三致”污染物,通过食物链逐步富集严重危害人体健康。如城市空气受多环芳烃类污染会导致癌症发病率和死亡率的升高;多环芳烃(PAHs)、多氯联苯(PCBs)等污染物对人体内分泌系统产生干扰作用,出现“阴盛阳衰”的现象。研究这些有机污染物在土壤环境中的行为和归宿,包括分布、迁移、富集、转化过程,已成为环境科学的重要课题之一。土壤有机质、粘土矿物、pH 值、温度和有机物的化学结构会影响土壤对有机污染物的吸附,其中土壤有机质是主要的影响因素^[2,3]。土壤有机质的含量越高,有机污染物被吸附的量就越多。最初, Lambert^[4,5]在研究土壤对杀虫剂的吸附时,发现土壤中有机碳含量直接决定着土壤吸附非极性有机化合物(杀虫剂)的能力。Weber 和 Huang^[7]提出土壤/沉积物吸附有机污染物的三种模式。他们将土壤/沉积物中吸附有机污染物的组分分成无机矿物表面(domain I)、无定形有机质(domain II)和凝聚态有机质(domain III)三个部分。其中无机矿物表面和无定形有机质对有机污染物的吸附以相分配为主,而有机污染物在凝聚态有机质上的吸附则表现为非线性的。

Grathwohl^[6]研究发现样品有机质中元素氧的含量与样品吸附能力成一定的反相关关系。Kile^[8]应用¹³C NMR 半定量计算了土壤有机质中各官能团含量,发现含氧官能团(包括羟基、羧基和羰基等)的多少与吸附量呈很好的反相关关系。原因是土壤有机质中含氧官能团的氧含量越高,有机聚合物的极性就越大,对非离子性化合物的亲和能力就越弱。因此,研究土壤有机质极性和形态对吸附有机污染物的影响受到普遍关注。

土壤有机质是植物所需的各种无机和有机养料的源泉,还能改善土壤的物理化学性质,形成良好的土壤结构。土壤有机质包括种类繁多的各种有机质,主要分为两类:非特异性有机质和土壤腐殖质。前者属有机化学中已知的普通有机化合物,包括碳水化合物,有机酸,木质素,含氮、磷、硫的有机化合物,树脂,单宁等。可见土壤有机质是一个多组分体系,成分复杂,结合形态各异,因此土壤有机质提取过程中的不完全性和提取时使用的化学试剂可能会破坏有机质组分是土壤有机质研究中存在的主要问题。人们一直很关注发展新的提取和分离土壤有机质的方法,本文对此作一回顾。

(1) 碳水化合物的提取:土壤碳水化合物包括各种单糖、二糖、多糖及其糖类衍生物等。它们占土壤有机质的 15%~27%,是非特异性有机质的主要成

分。它主要来源于植物残体,是土壤微生物的主要能源之一,也是土壤有机质中较容易降解的成分。它不仅能够指示土壤有机质及土壤微生物的变化,而且与土壤中粘土和金属离子相互作用,起到稳定土壤团聚体的作用。

目前人们将注意力主要放在对土壤腐殖质的研究上,而对碳水化合物的研究尚嫌不足。当然,这与此类化合物相对简单的结构以及有限的环境影响力有密切关系。

提取土壤碳水化合物常用的方法是通过在土壤中加入不同性质的溶剂,让它们去破坏碳水化合物与无机、有机组分之间的化学键而实现的。常用的溶剂有:不同温度的水、缓冲液、络合剂、稀酸、稀碱、有机溶剂等。所得到的碳水化合物主要来自多糖的水解,部分来自腐殖质。糖的提取一般是在水浴条件(60~80℃)下进行的。水的提取效率较低。对一般土壤,稀碱(0.2 mol/L NaOH)是较为理想的浸提剂,它的缺点是会使单糖发生异构化,容易误导糖组成测定结果。络合剂(如 EDTA)的使用有时会改善浸提效果。总的来看,这些方法的提取效率都不是很高^[9]。最常用的提取液是稀酸(0.13~0.25 mol/L)。大多数土壤糖类化合物是以在酸中可水解的吡喃型糖甙形式存在,因而用热的稀酸来浸提效果最好。

值得注意的是 Cheshire^[10]用 NaOH 溶液提取多糖化合物的研究中,发现原生糖能水解为单糖,而次生糖不能水解。实际研究碳水化合物时常忽略这些次生糖的存在。因此,要改进目前提取碳水化合物的方法,以加强对次生糖化合物的研究。

(2) 胡敏酸和富里酸的提取:土壤腐殖质是土壤有机质的主要部分,属土壤中特殊的有机质,大约占土壤有机质的 65 %^[11],它们不属于有机化学中现有的任何一类。其特点是化学组成复杂,分子量从几百到几十万,很难被降解。根据腐殖质在酸碱溶液中的溶解度,可分为胡敏酸、富里酸和胡敏素 3 部分。胡敏酸溶于碱溶液,而不溶于酸;富里酸溶于酸和碱溶液;胡敏素是与矿物紧密结合的腐殖质部分,不溶于酸碱溶液。

除一小部分腐殖质以游离态的形式存在外,绝大部分的土壤有机质与土壤无机成分形成有机-无机复合体^[12]。研究腐殖质性质时,首先必须选择合

适的溶剂将其从土壤中提取出来,再对提取物进行分组和纯化。Stevenson^[13]认为好的提取方法应满足以下 4 点要求:不改变组分性质,提取的有机组分未与粘土或无机离子结合,提取的组分具有代表性,适用于各种类型土壤。

腐殖质与土壤中 Ca、Fe、Al 等多价阳离子紧密结合是导致腐殖质难以提取的主要原因。氢氧化钠的稀溶液是最基本和最常用的试剂,能有效地提取腐殖质。但过量氢氧化钠溶液的使用会引起部分有机质的水解和氧化,因此通过给氢氧化钠溶液通入 N₂ 的方法可有效地抑制上述反应,这已成为提取胡敏素的标准方法。Krosshavn^[14]研究了用氢氧化钠溶液通入 N₂ 的方法及稀 HF-HCl 溶液纯化法对腐殖质的影响,结果表明,尽管腐殖质的组分会损失掉 30 %~60 %,但其结构组成基本没有变化。用 Na₄P₂O₇ 溶液提取土壤腐殖质也是常采用的方法。尽管这种方法的萃取效率比 NaOH 法低大约 30 %^[15],但它的优点是省去了冗长的脱钙过程,提取物中不仅有腐殖质,还有有机-无机复合物。这种方法的不足之处在于它会改变土壤有机质的组成和较易提取分子量大的有机质。由于单独使用 NaOH 和 Na₄P₂O₇ 都有局限性,所以人们将两者混合使用^[16]。这样既有 NaOH 溶液提取能力高的优点,又使提取过程快速简便。通过这些方法提取的有机质主要是胡敏酸和富里酸,往碱性提取液中加入酸,可以分离出粗胡敏酸。

提取后的土壤腐殖质杂质含量较高,会影响分析结果,因此有必要对其进一步纯化。如纯化方法不当,往往会改变腐殖质的组成,影响实验结果。国际腐殖质学会(IHSS)为此提出了分离和纯化胡敏素和富里酸的标准方法^[20]。该方法使用稀 HF-HCl 溶液去除胡敏酸中的矿物成分,最后得到纯度很高的胡敏酸;使用离子交换柱(XAD-8)去除富里酸中的盐分和一些小分子的有机物。

鉴于化学方法会使土壤有机质发生某些反应(如脱羧过程,脱氨基作用),导致化学结构和形状的改变。1996 年 Gaffney 等人^[19]使用中空纤维超滤器技术直接将溶液中水溶性的腐殖质按分子量大小分级。最小可以分离出分子量是 500 的有机质,这样不但避开了化学处理法的缺点,而且方法简单,重现性好。缺点是只能提取水溶性的腐殖质,一般提取

量很少。

土壤腐殖质的成分复杂,结合形态很多,为提取到不同结合形态的腐殖质,可以采用多步连续提取法^[17,18]。Schnitzer-Schuppli 法的提取过程是先用正己烷萃取烷烃和脂肪酸化合物,再用氯仿萃取脂肪酸、大分子醇类和蜡状脂类化合物,然后用焦磷酸钠提取与无机组分结合的有机物,最后用氢氧化钠和水提取自由相腐殖质和小分子有机物。这样可将每一步的萃取物详细分析,加深对土壤有机质的认识。

近年来发展起来的超临界流体萃取法具有很多优点,其中以超临界二氧化碳流体最为重要。它的粘度系数很小,有利于溶质的扩散,因此萃取过程简单,萃取效率高,不改变组分性质,还可进行选择性萃取。在加入改性剂后能有效地萃取非极性或极性有机物(多环芳烃、多氯联苯、醛类、醇类、有机杀虫剂和脂肪等)^[21~24],将其用来萃取土壤有机质,能有效地避免化学提取法常有的缺点,这是一种有发展前途的萃取方法。

(3) 胡敏素的提取:在腐殖质的三大组分中,不溶性的胡敏素占有机碳与有机氮的绝大多数,在土壤结构、养分保持性、氮素有效性和土壤氮素循环等方面都有重要的作用。胡敏素的含氧功能基主要是羧基、酚羟基、醇羟基、羰基和甲氧基,其中羰基和羧基的含量较高,而甲氧基的含量很低。胡敏素和胡敏酸的总酸度、羧基和酚羟基的含量均明显低于同一起来源的富啡酸,其含量仅为富啡酸的一半左右。

胡敏素具有碱不溶性及大分子结构的特性,因此提取和纯化很困难。胡敏素与土壤组分之间的相互联结主要依靠氢键和共价键,提取的关键在于所用溶剂能够有效地破坏它们之间的键合作用。通常采用的溶剂主要有 HF-HCl 混合液和偶极非质子传递溶剂两类。其中 HF-HCl 混合液是提纯和浓缩胡敏素的经典方法。目前使用较多的偶极非质子传递溶剂有:甲基异丁基甲酮(MIBK)、二甲基亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)和丙酮等。这些试剂与稀盐酸的混合液能有效地破坏胡敏素与土壤组分间的氢键^[25~27]。研究发现用二甲基亚砜(DMSO)提取的胡敏素比用 HF-HCl 混合液提取的胡敏素具有较高的 H/C 和 N/C 比值,对同一土壤, HF-HCl 混合液提取的胡敏素主要以与铝离子的配合物形式存在,而二甲基亚砜(DMSO)提取的胡敏素主要以与铁

离子的配合物形式存在^[28]。

需要注意的是用不同方法提取的胡敏素的性质和结构特征不完全一致。对同一土壤来说,提取可溶性腐殖质的次数不同,所得到的胡敏素的组成和性质也不相同;各种提取剂对腐殖质浸提能力的不同,造成同一土壤的胡敏素的组成和性质随不同的提取剂而异。此外,对于同一土壤的不同粒级,即使采用相同提取剂,而胡敏素的组成及其占腐殖质的百分数都有差异^[29]。

尽管做了许多努力,包括使用多次色谱柱分离技术,至今未能成功分离出单一组分的土壤腐殖质。因为进行物质结构分析的前提,是其必须为单一组分的物质。可见在土壤有机质研究中最大的障碍是分离的有机质组分不是单一组分。今后应优先发展先进的分离技术解决这一难题,以推动土壤腐殖质化学的研究。

参考文献:

- [1] 魏复盛. 关于有毒有害化学物质污染及其监测[J]. 中国环境监测, 1999, (特刊): 1 - 4.
- [2] 刘维屏, 季瑾. 农药在土壤-水环境中归宿的主要支配因素——吸附和脱附[J]. 中国环境科学, 1996, 16(1): 25 - 30.
- [3] 党志, 黄伟林, 肖保华. 环境有机地球化学: 有机污染物-土壤/沉积物吸附作用研究的回顾[J]. 矿物岩石地球化学通报, 1999, 18(3): 194 - 200.
- [4] Lambert S M, Porter P E, Schieferstein R H. Movement and sorption of chemicals applied to the soil[J]. Weeds, 1965, 13: 185 - 190.
- [5] Lambert S M. Functional relationship between sorption in soil and chemical structure[J]. J. Agric. Food Chem., 1967, 15: 572 - 576.
- [6] Gathwohl P. Influence of organic matter from soils and sediments from various origins on the sorption of some chlorinated aliphatic hydrocarbons: implications on K_{oc} correlations[J]. Environ. Sci. Technol., 1990, 24: 1687 - 1693.
- [7] Weber W J Jr, Huang W. A distributed reactivity model for sorption by soil and sediments. 4. Intraparticle heterogeneity and phase-distribution relationships under nonequilibrium conditions[J]. Environ. Sci. Technol., 1996, 30: 881 - 888.
- [8] Kile D E, Wershaw R L, Chiou C T. Correlation of soil and sediment organic matter polarity to aqueous sorption of nonionic compounds. Environ[J]. Sci. Technol., 1999, 33: 2053 - 2056.
- [9] Martens D A, Frankenberger W T Jr. Soil saccharide extraction and detection. J. Plant Soil[J]. 1993, 149: 145 - 147.
- [10] Cheshire J D, Russell A R, Fraser J M, et al. Nature of soil carbohydrate and its association with soil humic substances[J]. J. Soil Sci., 1992, 43: 359 - 373.

- [11] Schnitzer M. Soil organic matter-the next 75 year[J]. Soil Sci. , 1991, 151(1) :41 - 58.
- [12] 熊毅. 土壤胶体[M]. 北京:科学出版社,1985. 54.
- [13] Stevenson F.J. Humus chemistry[M]. John Wiley and Sons, N. J. 1982. 17.
- [14] Krosshavn M, Kögel-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.
- [15] Hori S, Okuda A. Purification of humic acid by the use of ion exchange resin[J]. Soil Sci. Plant Nur. , 1961, 7(1) : 4 - 11.
- [16] Khan S U. Humic acid fraction of a gray wooded soil as influenced by cropping systems and fertilizers[J]. Gerderma. ,1970, 3(3) :247 - 154.
- [17] 熊毅. 土壤有机无机复合 有机无机复合体的剖析研究[J]. 土壤农化,1975,6:1 - 12.
- [18] Schnitzer M, Schuppli P. Method for the sequential extraction of organic matter from soils and soil fractions[J]. Soil Sci. Soc. Am. J. , 1989, 53:1418 - 1424.
- [19] Gaffney J S, Marley N A. Clark S B. Humic and fulvic acids Isolation, structure, and environmental role[M]. American Chemical Society, Washington, 1996. 26.
- [20] Velthorst E, Nakken-Brameuer N, Mulder J. Fraction of soil organic matter. Intern[J]. J. Environ. Anal. Chem. , 1999, 73(3) :237 - 252.
- [21] 梁重山,党志. 超临界二氧化碳流体萃取土壤中有有机污染物的研究进展[J]. 重庆环境科学,2000,22(1) : 48 - 50.
- [22] Yu Yang, Garaibeh A, Hawthome S B, Miller D J. Combined temperature/ modifier effects on supercritical CO_2 extraction efficiencies of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental samples[J]. Anal. Chem. , 1995, 67:641 - 646.
- [23] Spiteller M. Extraction of soil organic matter by supercritical fluids [J]. Org. Geochem. , 1985, 8(1) :111 - 113.
- [24] Ashraf-Khorassani M, Gdanian S, Yamini Y. Effect of pressure, temperature, modifier, concentration, and sample matrix on the supercritical fluid extraction efficiency of different phenolic compounds[J]. J. Chromatogr. Sci. , 1995, 33:658 - 662.
- [25] Almendros G, Gonzalez-Vila F.J. Degradative studies on a soil humin fraction-sequential degradation of inherited humin [J]. Soil Biol. Biochem. , 1987, 19(5) :513 - 520.
- [26] Piccolo A. Charateristics of soil humic extracts obtained by some organic and inorganic solvents and purified by HCl - HF treatment[J]. Soil Sci. , 1988, 146:418 - 426.
- [27] Rice J A, MacCarthy P. A model of humin [J]. Environ. Sci. Technol. , 1990, 24:1875 - 1877
- [28] Tsutsuki K, Kuwatsuka A. Charaterization of humin-metal complexes in a buried volcanic ash soil profile and a peat soil [J]. Soil Sci. Plant Nutr. , 1992, 38(2) :297 - 306.
- [29] 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. 28.

Progress of Extraction Methods of Soil Organic Matters

LIANG Chong-shan¹, DANG Zhi²

(1. The State Key Laboratory 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 : Soil organic matters play an important role which includes keeping inorganic and organic nutrition, forming good physical configuration, and reducing the bioavailability of pollutants in the soil environment and so on. As soil organic matters consist of many complex fractions, the efficiency and credibility during the procedures of extraction and purification of these organic matters are two key problems when we study them. Many new extraction methods developed in the recent years are discussed in the paper.

Keywords : Soil organic matters; extraction and purification