土壤溶解性有机质的组分分离与表征技术研究进展

吴东明^{1,2},何翠翠³,邓 晓^{1,2,4},武春媛^{1,2,5}*

(1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海口 571101;2. 国家农业环境儋州观测实验站,海南 儋州 571737;
3. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所,海口 571101;4. 海南省热带生态循环农业重点实验室,海口 571101;5. 海南省农业面源和重金属污染防治工程研究中心,海南 儋州 571737)

摘 要:溶解性有机质(DOM)生物/化学活性强,参与元素的地球化学循环和污染物的迁移/转化。DOM性质不同,在土壤中的环境效应就不同,认识其理化性质是理解 DOM 在土壤中环境行为和赋存动态的关键。然而,土壤 DOM 组分复杂,对 DOM 组分预分离和表征技术的正确选择是真实了解 DOM 的重要前提。本文介绍了溶解度分离法、膜分离法、吸附分离法、凝胶色谱法在土壤 DOM 组分分离应用的优缺点,综述了元素分析、光谱、质谱、电化学、显微镜等多种技术在 DOM 极性特征、氧化还原电位、微观形貌、官能团组成、化学结构、物质组成等方面的表征应用,并展望了整合/联用现有 技术,大力发展新技术和原位表征技术,利用计量化学和数学建模深度解读表征信息是增强对土壤 DOM 认识的重要发 展方向。

关键词:溶解性有机质;分离技术;表征技术;性质特征;物质组成
 中图分类号:S153.6⁺21
 文献标识码:A
 文章编号:2096-5877(2022)02-0048-08

The Technology of Isolation and Characterization for Dissolved Organic Matter in Soil

WU Dongming^{1,2}, HE Cuicui³, DENG Xiao^{1,2,4}, WU Chunyuan^{1,2,5}*

(1. Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101; 2. National Agricultural Experimental Station for Agricultural Environment, Danzhou 571737; 3. Tropical Crop Germplasm Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101; 4. Hainan Key Laboratory of Tropical Eco-circular Agriculture, Haikou 571101; 5. Hainan Engineering Research Center for Non-Point Source and Heavy Metal Pollution Control, Danzhou 571737, China)

Abstract: Dissolved organic matter (DOM) as the important natural ligand and sorption carrier have key effects in geochemical circulation and migration-transformation of pollutants with high activity, which determined by physicochemical properties and material components of DOM. Thus, the appropriately isolation and characterization of DOM are the basis of sorting out the relationship between DOM properties and ecological environment effects. In this study, the technologies of fraction of DOM, such as solubility separation, membrane separation, sorptive separation, gel chromatography are compared between advantages and disadvantages. Moreover, the characterization technique of DOM polarity, redox potential, micromorphology, functional group, chemical constitution, substance composition, are summarized, which contained elemental analysis, spectrum mass spectrometry, electrochemistry and microscopy. Owing to the complexity of DOM component and sources in soil, it is trend to integrate the technologies of extraction and characterization, and developed a variety of new methods in in-situ characterization, coupling technique and modeling, which will give an better understand in soil DOM. This paper is expected to give a reference for the selection of isolation and characterization technology in research of soil DOM.

Key words: Dissolved organic matter; Isolation technique; Characterization technique; Nature characteristics; Substance composition

收稿日期:2019-12-17

基金项目:海南省重点研发计划项目(ZDYF2019219);海南省自然科学基金(420QN315);国家自然科学基金(42007135、41371465);中国 热带农业科学院青年托举工程项目(1630042021013)

作者简介:吴东明(1991-),男,助理研究员,硕士,主要从事土壤有机化学与污染物环境行为研究。

通讯作者:武春媛,女,博士,研究员,E-mail: cywu@catas.cn

土壤溶解性有机质(DOM)是土壤有机质的重 要组成部分,泛指能通过0.4~0.6 μm 微孔滤膜,能 溶于水的有机混合物^[1]。动物/植物/微生物残体及 其分泌物、外源有机肥施用、土壤母质风化均是土 壤 DOM 的重要来源^[2]。农田土壤 DOM 含量小于 100 mg C/kg;森林土壤 DOM 含量跨度较大,整体上 略高于农田土壤^[3]。DOM 生物/化学活性高、环境意 义重要,既是土壤质量的考察指标,对元素地球化 学循环、污染物迁移转化、水体富营养化也有着深 刻的影响^[4-6]。通常,分子量低、亲水性的DOM组分 生物有效性强,可直接被植物或微生物吸收利 用^[7-9];羧基、羟基、氨基等亲水官能团丰富的DOM 组分对重金属的络合能力较强[3,8-10]。因此,认识 DOM 的性质特征和结构组成对理解 DOM 的环境行 为和环境效应十分重要。目前,已发展出了光谱、 质谱、电化学、高分辨显微镜等多种表征技术,仪器 分辨率最高可达到10⁻⁶,基本能满足DOM极性、分 子量、疏水性、官能团、氧化还原性、结构组成、微观 形貌等的研究要求[10-11],但对于在土壤复杂基质下 所得到的DOM,其正确表征仍是一个难点。一是 现有的土壤 DOM 提取/净化技术难以将 DOM 中的 无机组分充分去除,甚至还会引入外来离子,不利 于后续的表征分析^[12];二是土壤DOM组分复杂,各 组分间存在信号互扰的现象,影响 DOM 表征信息 的正确解读。这意味着需将 DOM 组分与杂质或组 分间进行一定的预分离才能实现DOM的有效表 征。然而,土壤中的DOM在结构和分子量上具有 很强的异质性,这又导致了组分分离技术的复杂 化[13-15]。三是表征技术各有各的局限性,如何根据 研究目的、DOM性质、技术特征选择合适的技术也 是一个难点[16-18]。本文就土壤中DOM组分分离和 表征技术进行综述分析。

1 DOM的组分分离技术

土壤 DOM 组分复杂,低分子量包括氨基酸、 有机酸、碳水化合物等化合物,高分子量包括酶、 氨基糖、腐殖质等物质^[19]。因 DOM 组分间的信号 互扰影响了对 DOM 正确的认识,对 DOM 进行一 定程度的组分预分离十分必要。基于 DOM 某一 类性质,或结合一些光谱/色谱在线监测手段, DOM 组分的分离技术已逐步发展出了溶解分离 法、膜分离法、吸附分离法、凝胶色谱法4种方法。 由于技术和工作量等问题,目前还未能出现将 DOM 各组分完全分离的技术,至少还存在 1/3 的 分子难以分离鉴定^[20]。

1.1 溶解度分离法

溶解度分离法是土壤 DOM 组分分离最早的 一种方法,通过 DOM 在酸、碱中的溶解度将 DOM 分成腐殖酸、富里酸、胡敏素 3 种组分。不溶于水 的组分为胡敏素;在碱性条件下能溶解、酸性条 件下(pH=1~2)不溶于水的组分为腐殖酸;在任何 pH条件下都溶于水的组分为富里酸^[20]。这与国 际腐殖质协会中土壤有机质组分分离方法相似, 具有操作简单、成本低等特点。它较为明显的一 个缺点是只能粗略地分离出 DOM 中的腐殖质组 分,对于 DOM 中烃类、糖类、氨基酸、小分子酸等 非腐殖质化亲水性物质难以区分。因此,目前该 方法单独应用于土壤 DOM 组分的分离较少,更多 是与其他分离方法结合使用^[17]。如 Zhou 等^[21]将它 与 XAD 树脂吸附分离法结合而获得酸不溶组分 (与腐殖酸组分类似)。

1.2 膜分离法

因 DOM 的环境效应与分子量密切相关, 膜分 离法也是当前 DOM 组分分离的重要方法,主要包 括超滤法、反渗析法等技术。超滤法是使DOM通 过不同孔径的膜而获得不同分子量的 DOM 分子 的一种方法。1、100 kDa是常用的两种膜孔径,用 于分离出低、中、高3个分子量的DOM组分[22]。常 用的超滤法主要有切向流动超滤法、搅拌细胞超 滤法两种。切向流动超滤法主要用于大量 DOM 的分组,具有操作压力小、制备量大等优点。但 因滤膜所用的聚醚砜和纤维素聚合物两种材料对 疏水组分的吸附作用,导致回收率偏低,仅为 60%~70%^[23];切向流动超滤法主要用于少量 DOM 的组分分离。相对于其他方法,超滤法最温和, 无需经过剧烈的化学分组过程,极大地保护了 DOM的原本性状^[24]。反渗析法是使水和无机盐通 过微孔滤膜而保留 DOM 组分的方法,对 DOM 有 很好的富集作用,特别是对DOM中的烷基碳组 分,回收率达90%以上。但因为反渗析法容易导 致碳酸盐和硫酸盐等无机组分发生累积沉淀而污 染渗透膜,所以只适用于盐度较低的土壤DOM分 离[25-26]。直到20世纪中期,该方法与电渗析技术 结合使用后才被广泛应用[27-29]。后者是一种有效的 盐分去除技术,能使 DOM 含盐量下降至 15 mS/cm 以下,可满足后续NMR和FT-ICR-MS的检测要 求^[10]。然而一个限制反渗析-电渗析系统发展的 问题是系统运行耗时长、成本高。

1.3 吸附分离法

吸附分离法是DOM组分在吸附柱上发生选

择性吸附-洗脱而将不同组分分离的一种方 法^[24,30]。常用的吸附柱材料有 XAD-4、XAD-8 (DAX-8)、二胺弱碱性树脂、MCX、MAX、C8、C18、 HLB、PPL等。XAD系列树脂由苯乙烯-二乙烯基 苯聚合物组成,是非极性的疏水性树脂,结合不 同pH的洗脱液,可将DOM按照不同极性-电荷特 性分组,这也是目前应用最广泛的一种 DOM 分组 技术。Leenheer 最早运用这一原理将 DOM 分离成 疏水酸性、疏水碱性、疏水中性、亲水酸性、亲水 碱性、亲水中性6种组分。后来的学者则根据自 己的研究目的进行一定调整,如Zhou等^[21]在此基 础上增加了酸不溶组分的分离。二胺弱碱性树脂 则是按照DOM所含的酚基、羧基组分进行分离^[30]。 其他树脂柱对 DOM 组分的分离原理与 XAD 树脂柱 类似。吸附分离法的分离效果与过柱流速/体积密 切相关,通常流速不能超过40 mL/min,每克树脂对 DOM的荷载量不能超过2 mM DOC^[31]。分离效果 还与树脂柱材料有关。XAD-8的分离回收率低、 但含更多的羧基官能团^[30]; PPL 分离得到的 DOM 组分的芳香性更高、分子量更大^[32]。C18比DAX-8富集得到更多的烷烃/烯烃物质、芳香性蛋白、 酚类物质,而难以保留糖类物质,这与超滤分离 法的分离特征相反,因此将两种方法结合使用可 能会获得更好的分离效果[10,28]。

1.4 凝胶色谱法

凝胶色谱法是将吸附分离法和色谱系统结合 起来的一种DOM方法。通过以紫外检测器、荧光 检测器、有机碳检测器、示差检测器等作为物质 的在线监测系统,根据DOM组分在C18或HILIC 柱的保留时间,将DOM组分逐一分离。分离度受 洗脱液类型、柱子类型/长度、环境条件影响,是目 前DOM组分分离度最高的方法,分离度可达 55%~90%¹³¹。该方法还可通过用聚磺苯乙烯 (PSS)、聚环氧乙烷等标准物进行校正,进而获得 DOM的分子量分布图¹³²¹。该方法的优点是获得 DOM总组分后,可直接上样,无需超滤、反渗析、 旋转蒸发等预处理过程,避免了DOM的原本性状 发生变化,但也存在仪器昂贵,成本高等缺点。

2 DOM的表征技术

DOM 表征技术可分为化学分析法、仪器分析 法两大类。化学分析法灵敏度低、反映的信息有 限、对操作者技能要求高,结果偏差大。研究中 更多使用仪器分析法。围绕 DOM 的重要性质:疏 水性、芳香性、分子量、官能团、极性、物质组成、 氧化还原性、微观形态特性等^[3-4,10,22,34]。土壤 DOM的表征逐渐发展出了元素分析、光谱、质谱、 电化学、显微镜等多种技术。

2.1 元素分析技术

元素分析法主要用于 DOM 元素组成和相关 理化性质的表征。有机碳测定仪主要用于 DOM 中有机碳(DOC)含量的测定,是衡量 DOM 物质的 量的重要仪器。元素分析仪主要用于 DOM 中 C、 H、O、N、S等元素含量的测定。一些元素含量比值 还可用于 DOM 理化性质分析。如 H/C(原子个数) 比值高,说明碳氢饱和度高、碳水化合物、羧基类 物质多^[35];趋于 1.0,说明 DOM 芳香性较大,否则 含更多脂肪族化合物^[36];O/C 比值越大,说明 DOM 中羧基、酚基官能团或碳水化合物较多。(O+C)/N 越大,极性越大^[37]。元素分析法分析快捷、前处理 简单,是 DOM 物质组分特性表征的常用辅助手 段。电感耦合等离子体光谱仪、原子吸收光谱仪 (AAS)、原子荧光光谱仪等主要用于 DOM 中金属 元素(或类金属)组成和含量的测定^[36]。

2.2 光谱分析技术

2.2.1 紫外-可见光光谱

紫外-可见光光谱法是 DOM 表征中最简便的 方法之一,具有仪器普及率高、操作简单、分析快 捷等优点。因 200 nm 以下吸光值易受无机离子 和空气的影响,对 DOM 紫外-可见光光谱特征的 研究通常从 200 nm 以上开始。李帅东等^[38]采集的 土壤 DOM 在 200~800 nm 紫外光谱特征表明:环滇 池土壤 DOM 在 250~280 nm 波段处的吸收峰可能 是苯环、共轭二烯等共轭体系引起的,而吸收曲 线红移则是由 DOM 腐殖化程度增大引起。可从 紫外-可见光光谱图 直接获得的信息仍十分有 限。研究中更多采用其特征参数来解析 DOM 的特

表1 紫外-可见光光谱法 DOM 表征指标

表征指标	表征意义
SUVA ₂₅₄	与DOM的腐殖化程度(芳香性)呈正相关
SUVA_{280}	与DOM相对分子量、芳香性呈正相关
A ₂₅₃ /A ₂₀₃	该值大说明 DOM 芳香环上取代基中羧基、酯类、羰 基、羟基等含量高;该值小说明取代基主要是脂肪链
A ₂₅₀ /A ₃₆₅	该值小于3.5说明DOM主要为胡敏酸类物质,大于 3.5为富里酸类物质
A_{465}/A_{665}	该值与 DOM 的苯环碳架聚合度呈负相关,但易受 pH、羧基等影响
\mathbf{A}_{260}	该值越大,DOM中疏水组分的比例越高
S值	(1)S ₂₇₅₋₂₉₅ 值与DOM分子量呈显著负相关 (2)S ₃₇₀₋₄₀₀ 值越大,DOM疏水组分的比例越大

51

性。如SUVA₂₅₄、SUVA₂₈₀、A₂₅₃/A₂₀₃、A₂₅₀/A₃₆₅、A₄₆₅/A₆₆₅、 S值等,可示征 DOM 的芳香性、疏水性、腐殖化程 度、分子量大小、光化学反应活性等基本信息(表 1)^[38-40]。A₄₆₅/A₆₆₅因 665 nm 处的吸收光度微弱,适 用性一直受质疑;S值因模型选取困难、计算复杂 而限制了使用。同一个性质的表征参数很多,它们 的适用范围和可比性还有待进一步研究。

2.2.2 荧光光谱

荧光光谱也是 DOM 常用的一种表征技术,具 有选择性好、灵敏度高、样品用量少、无须预处 理、工作曲线线性范围宽,可用于现场检测或遥 感观测等优点^[41]。与紫外-可见光光谱类似,常规 的二维荧光光谱吸收带较宽、谱图特征不显著; 同步荧光技术易受拉曼散射影响,研究中多采用 三维荧光光谱表征 DOM 性质。它能同时获得发 射波长、激发波长的荧光强度变化信息。根据荧 光峰的位置和强度判断DOM的荧光组分及相对 含量(表2);根据荧光特征指数:FI、BIX、HIX、r (A+C, B)等可有效揭示 DOM 的来源、芳香性等基 本特性(表3)[42-47]。王齐磊等[46]以荧光光谱法研 究农业小流域土壤 DOM 发现: DOM 中的类腐殖酸 含量高,类蛋白物质含量低。菜地受施肥等外源 干扰最大,类蛋白组分比例高,林地和田地次之。 目前,荧光表征参数的应用受限于环境介质。王 育来等^[44]指出 HIX 的应用受土壤理化性质影响显 著,需综合各荧光参数分析。蔡明红等⁴⁵¹发现HIX 的溯源分辨率低于BIX。荧光光谱信息丰富,重点 和难点在于图谱解析。当前,运用二维相关分析、平 行因子分析法、主成分分析法等化学计量法和数学 统计模型是重要发展方向。

表2 DOM主要的荧光峰

激发光波长/发射 光波长(nm)	荧光峰类型		
235~255/320~350	紫外类富里酸荧光(A1)	米宫田畛带业(4)	
310~330/410~450	可见类富里酸荧光(A2)		
270~290/320~350	类色氨酸荧光(B1)	米巫卢茜业(n)	
270~290/300~320	类络氨酸荧光(B2)		
250~260/380~480	紫外类腐殖酸荧光(C1)		
310~320/380~420	可见类腐殖酸荧光(C2)	类腐殖酸荧光(C)	
330~350/420~480	类海洋腐殖酸荧光(C3)		

2.2.3 红外光谱

红外光谱技术是根据物质对红外光区电磁辐射的选择性吸收进行结构分析的一种方法,具有样品用量少、测定速度快等特点。可解析DOM的

表3 DOM 荧光表征指数

表征指数	表征意义
$\mathbf{D}(\mathbf{A} + \mathbf{C} - \mathbf{D})$	该值>1,DOM以外源输入为主;该值<1,DOM
R(A+C, B)	以内源微生物产生为主
$\mathbf{P}(\mathbf{A2},\mathbf{C2},\mathbf{A1},\mathbf{C1})$	该值与DOM的芳香性呈正比;该值变化越大
R(A2+G2, A1+G1)	DOM来源越复杂
R(A)	该值与DOM电子循环能力呈显著正相关
EI	FI>1.9, DOM内源微生物产生为主; FI<1.4, 外
F I	源输入为主
DIV	BIX>1表示自生源特征强;0.6 <bix<0.7表示< th=""></bix<0.7表示<>
ых	DOM陆源特征强
HIX	该值越大,碳氢化合物越少,芳香性程度越高

官能团、化学物类别等信息。红外光谱有 3 个区域:近红外(200~10 cm⁻¹)、中红外(4 000~200 cm⁻¹)远红外(12 500~4 000 cm⁻¹)。中红外是 DOM 研究的主要区域。如表 4 所示,根据 DOM 的特征 红外吸收带,可示征 DOM 的羟基、羧基、甲烷基等 官能团^[48-49]。周江敏等^[49]用傅里叶红外光谱法时 发现:土壤 DOM 的分子差异较大,HIM 含更多碳 水化合物和羧基物质;HON 具有脂肪类物质结构。Bu 对不同植被类型土壤 DOM 进行红外光谱 表征时发现:土壤 DOM 成分以碳水化合物、芳香 族、脂肪族化合物为主^[50]。红外光谱技术对 DOM 的亲/疏水性、芳香性也有一定的示征作用(表4)。如1 670~1 500 cm⁻¹可示征芳香性,1 170~950 cm⁻¹可示征 DOM 的亲水性。

表4 DOM主要红外吸收带

波数(cm ⁻¹)	示征官能团
3 500~3 400	O-H伸缩,N-H伸缩
1 660~1 600	芳香族C=C,羧酸根或酮类C=O
1 400~1 370	酚 OH 的 O-H 变形, C-O 伸缩, -CH ₃ , -CH ₂ -的 C-H 变形
1 170~950	多糖或类多糖物质的C-O伸缩,硅杂质的Si-O
820~760	芳烃的C-H外弯曲振动,NO3-
650~600	$SO_{3}H^{-}, SO_{4}^{2-}$

红外光谱技术同样存在图谱信息易受共分析 物干扰,解谱复杂等问题。虽然,表征的结果是 一个类似纯净化合物的红外光谱图。但事实上, DOM 是一个复杂的混合物,DOM 中各物质间的吸 收带必定存在重叠。为了提高图谱的分辨率,对 光谱数据进行一定的导数处理或傅里叶去卷积处 理非常必要,可使隐含的吸收峰得以显现,同时 又保留吸收带的积分面积,为 DOM 的定性/定量 分析提供更可靠的数据。此外,红外光谱数据还 可结合二维相关分析技术的同步映射、异步映射 图谱进行数据联合分析^[51]。

2.2.4 核磁共振

核磁共振(NMR)也是 DOM 性质表征的一种 重要手段。原理是磁矩不为零的原子核(如'H、 '3C)在外磁场作用下,自旋能级发生塞曼分裂,共 振吸收某一定频率的射频辐射。通过这个过程产 生的化学位移、耦合常数、积分曲线等参数推算 出 DOM 的物质组成、结构和官能团。特别是固体 核磁共振技术可在固体状态下直接检测碳、氮等 的形态和分布,具有样品适应性强的特点^[52]。核 磁 共振 主要包括氢谱('H-NMR)和碳谱('3C-NMR)两种。如表 5、表 6 所示, ¹³C-NMR 可获知 DOM 的脂肪烃、含氧杂脂肪、醛基、芳香烃、羧基、

表5 ¹³C谱NMR特征吸收峰解析

化学位移(ppm)	示征官能团	示征物质	
0~45	CH _x	115111-11211-11457-11	
45~60	CH ₃ -O	脂肪烃上的恢	
60~90	НСОН	杂脂肪族(含氧)上的碳	
90~110	0-C-0	醛基上的碳	
110~140	C=C/Ar-C	廿壬以上弘明	
140~165	Ar-O	方省烇上旳恢	
165~190	COO/CON	羧基上的碳	
190~220	C=O	羰基上的碳	

表6¹H谱NMR特征吸收峰解析

化学位移(ppm)	示征官能团	示征物质
0~1.8	С-Н	脂肪烃上的氢
1.8~3.3	Н-С-С	羰基、羧基、酯、氨基上
3.3~6.3	Н-С-О	羟基、酯和醚连接氧的碳上的氢 和连接氧或氮上的烃基上的氢
6.3~10.0	H–Ar	芳香氢如烯烃、芳香烃上的氢、 醌、酚和含氧杂芳香烃上的氢

羰基等碳组分;¹H-NMR可获知脂肪烃、芳香烃、 羟基、含氧杂芳香烃等氢组分。按照¹H谱可知, 溶解性有机质中C-H占23%~58%,H-C-C占 22%~45%,H-C-O占10%~25%,H-Ar占4%~12%, 脂肪烃占主导地位,而芳香烃则含量较低;按 照¹³C谱可知,溶解性有机质中脂肪烃占15%~ 61%,杂脂肪族(含氧)占7%~68%,醛基占0.2%~ 12%,芳香烃占0~48%,羧基占0~24%,羰基占0~ 18%¹¹¹;两种核磁响应的组分不同,可获知的信息 类似。¹³C谱可解析的官能团更多,差异性更强, 并且因为碳是DOM的骨架元素,更适合作为DOM 结构表征手段。必要时,同时采用两种方式可获 得更可靠的表征信息。关于核磁共振在 DOM 上 的应用,Hertkorn 等已作出了详细描述^[13],此处不 再展开。周江敏等^[53]采用¹H-NMR 研究土壤 DOM 发现:水稻土 DOM 主要由碳水化合物组成,烷基 链烃、芳香族物质少。

2.3 质谱技术

质谱是DOM组分信息解析较深的一种方法。 通过与色谱分离技术的联合使用,利用得到的色 谱、质谱信息,匹配对应的数据库可得到大量的 物质组分信息。同时,还可利用所鉴定的一些标 志性物质进行 DOM 溯源分析。如胞壁酸是细菌 源 DOM 的标志物;二元脂肪酸是高等植物源 DOM 的标志物^{III}。近年来,应用于 DOM 表征的质谱技 术主要有气-质(GC-MS)、液-质(HPLC-MS)、飞 行时间质谱、傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR-MS)等。气-质主要针对分子量小、沸点低、 易气化的 DOM 组分, 如烷烃、酯类、有机酸、有机 胺等,而与热裂解器串联也可用于分子量大、难 挥发物质的分析^[30]。液-质则更适合高沸点、不易 气化、热不稳定的 DOM 组分^[36]。FT-ICR-MS 是当 前最高端的高分辨质谱,分辨率可达10°,能观察 到 DOM 的大部分个体组分^[10]。利用 Van Krevelen 图、Kendrick质量亏损图、双键等价值图更能直观 反映DOM的脂类、蛋白质、氨基糖、碳水化合物、 木质素、单宁、缩合芳烃、不饱和烃等化学组成™。 此外,在质谱技术应用过程中,为了获得更好的 解析结果,通常需对DOM进行组分预分离或衍生 化处理。常见的预分离技术包括溶解度分离法、 膜分离法、吸附分离法、凝胶色谱法等。常见的 衍生化技术有酯化、酰化、烷基化、硅烷化、硼烷 化、离子化等。如"硼氢化还原处理+FT-ICR-MS" 可鉴别 DOM 中含醛基和酮基的组分^[55];"邻-(2,3, 4,5,6-五氟苄基)羟胺盐酸盐+GC-MS"也可解析 DOM 中一些特殊的低分子的醛和酮^[56];"一溴三 甲基铵+荧光光谱"可鉴别 DOM 中的硫醇化合 物。"CuO氧化+GC-MS"可鉴别DOM木质素中的 酚类物质^[57]。尽管质谱对 DOM 组分的解析拥有 其他技术无以比拟的优势,但它也有一些难以避 免的缺点。一是它的结果是基于离子碎片的经 验式推导,结果可能不可靠;二是DOM中的杂质 组分或共分析物对质谱信号存在干扰;三是质谱 技术并不能将所有分析物都转化为可观测的离 子;四是部分DOM组分在离子化过程中也可能 会发生降解^[58]。

2.4 电化学分析技术

电化学分析技术也是 DOM 性质表征的重要 方法。常使用的表征仪器有两种:Eh-pH 计、电化 学工作站。Eh-pH 计是以银-氯化银电极作为探 头,在无氧条件下快速测定 DOM 的氧化还原电位 (Eh)。所得的 Eh 值是 DOM 中各组分和官能团的 叠加值,反映的是 DOM 总体的氧化还原性。Eh 值> 0,表明 DOM 的氧化性强;Eh 值<0,表明 DOM 的还 原性强,还原性物质多,如氢醌、酚酸、有机酸等。 土壤腐殖酸的 Eh 值通常在 245~620 mV 之间^[59]。

电化学工作站是将恒电位仪、恒电流仪、电化 学交流阻抗分析仪有机整合的一种仪器,通过电 压、电流、电容、交流阻抗等参数获知DOM的电子 转移能力。常使用的测试方法包括库仑安倍法、 循环伏安法、电位跃阶法等,可获知 DOM 的氧化 还原电位、电子供/受能力、氧化还原可逆性、电子 循环能力。研究表明:DOM电子供/受能力的最 佳测试电位为-0.6、0.5V^[60],最佳溶剂为有机相^[61]。 根据测定体系中是否添加外源电子穿梭体又可分 为直接电化学还原法和介导电势测定法。介导电 势测定法是指在恒定氧化还原电势下,加入电子 穿梭体间接测定物质的电子供/受能力[∞]。使用 的电子穿梭体主要有甲基紫精、2,6-二氯酚靛 酚,可加快电极与DOM间的电子转移,缩短反应 平衡时间。通常,DOM 醌基含量越多,电子接受 能力越强;酚含量越高,电子供给能力越强⁶³。相 对于微生物或化学方法分析电子转移能力,电化 学分析方法不但简单快速,避免了副反应的发 生,同时也扩展了研究的深度和广度。

2.5 显微镜技术

显微镜技术主要应用于 DOM 微观形貌的表征,能为 DOM 在环境中的赋存状态、环境行为过程提供更直观的证据。显微镜的种类很多,如原子力显微镜、扫描电镜、透射电镜、荧光显微镜、扫描隧道显微镜、立体显微镜等,可实现分析物的纳米级观测、立体显像、动态摄影等多种功能。其中原子力显微镜和扫描电镜在 DOM 表征中应用最广泛。原子力显微镜通过物质表面与微型力敏元件之间极微弱原子间作用力的观测,可实现DOM 界面结构、微观形貌、颗粒度、粒子间力的解析。Yu 等^[64]以原子力显微镜研究土壤富里酸的形貌发现:富里酸是一种呈圆形、薄片形或锥形的扁平颗粒,直径为 50~500 nm,不同富里酸差异大。扫描电镜是利用二次电子信号成像的原理实现样品的表面形态的观测,主要用于 DOM 环境行

为界面过程的研究。Alivio等^[65]用扫描电镜发现: 相对于富里酸,腐殖酸作为还原剂能使Ag-Au纳 米晶体的凝聚度更高。

3 总结与展望

综上所述,不同的分离方法与表征方法具有 不同的优缺点。凝胶色谱法对 DOM 的分离度高, 不但具有在线监测系统,同时可避免组分间的信 息干扰,与物质鉴定分辨率高的质谱技术联用, 可更详尽获知 DOM 的物质组成信息,适用于土壤 DOM 的赋存动态、来源解析、元素循环过程等领 域的研究。溶解度分离法、膜分离法、吸附分离 法尽管不能将 DOM 组分逐一分离,但可按分子 量、极性、疏水性等物理化学特性分离获得大量 的、不同性质的 DOM 分子。这可用作 DOM 与污 染物交互作用研究的原材料。结合光谱表征/光 谱淬灭/电化学技术对物质组成、官能团、氧化还 原电位变化的示征作用,可清楚获知DOM 与污染 物的作用位点及靶标物质,非常适用于 DOM 环境 效应及机制的研究。元素分析技术、显微镜技术 则对两个领域的研究均适用,可分别提供DOM的 芳香性/极性、微观结构等方面的信息。

近十多年来,尽管DOM的组分分离与表征技 术得到快速发展,但还存在着一些问题有待解 决。首先,当前的技术大多是基于水体 DOM 的研 究建立起来的,土壤异质性强,不同土壤中DOM 的表征和信息解读是否适合,组分间的信息干扰 如何避免还需进一步探讨验证;其次,DOM 组分 分离技术仅限于物理操作上的定义,没有严格的 组分分离界限,这可能导致使用相同的组分分离 方法得到的组分性质差异大。对于这些问题可从 三方面入手:一是加强原有技术的整合和联合使 用,扬长避短,优势互补,减少单一技术的局限 性,如分离技术与表征技术的联用,表征技术间 的联用;二是引入在线监测系统,大力发展原位 表征技术,如土壤传感器或卫星遥感系统。三是 联合化学计量和数学建模等方法对表征结果进行 深度解读,提高DOM组分信息的解析能力。如二 维相关分析方法、平行因子法、神经网络算法。

参考文献:

- Chantigny M. Dissolved and water~extractable organic matter in soils: a review on the influence of land use and management practices[J]. Geoderma, 2003, 113(3-4): 357-380.
- [2] William H. Dissolved organic matter in soils: future directions and unanswered questions[J]. Geoderma, 2003, 113(3): 179-186.

- [3] 王美丽,李 军,朱兆洲,等.土壤溶解性有机质的研究进展[J].矿物岩石地球化学通报,2010,29(3):304-310.
- [4] 凌婉婷,徐建民,高彦征,等.溶解性有机质对土壤中有机 污染物环境行为的影响[J].应用生态学报,2004,15(2): 326-330.
- [5] 张丽霞,王俊文,王立春,等.有机物料腐熟剂在东北农作物秸秆还田上的应用[J].东北农业科学,2018,43(6):9-12.
- [6] Bolan N S, Adriano D C, Kunhikrishnan A, et al. Dissolved organic matter: biogeochemistry, dynamics, and environmental significance in soils[J]. Advances in Agronomy, 2011, 110: 1–75.
- [7] 冯娜娜,吴景贵,胡 娟,等.施用自然有机物料土壤中Pb 的动态变化[J].东北农业科学,2016,41(1):66-69.
- [8] 任 玲,吴景贵,吕东波,等.不同耕作模式对东北黑土腐 殖质结合形态的影响[J].东北农业科学2016,41(2):50-55.
- [9] Chantigny M H, Harrison~Kirk T, Curtin D, et al. Temperature and duration of extraction affect the biochemical composition of soil water-extractable organic matter[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 75: 161-166.
- [10] Hu S, Wu Y, Yi N, et al. Chemical properties of dissolved organic matter derived from sugarcane rind and the impacts on copper adsorption onto red soil[J]. Environmental Science & Pollution Research, 2017, 24(26): 1-11.
- [11] Minor E C, Swenson M M, Mattson B M, et al. Structural characterization of dissolved organic matter: a review of current techniques for isolation and analysis[J]. Environment Science: Processes Impacts, 2014, 16(9): 2064–2079.
- [12] 何 伟,白泽琳,李一龙,等.溶解性有机质特性分析与来源 解析的研究进展[J].环境科学学报,2016,36(2):359-372.
- [13] Hertkorn N, Frommberger M, Witt M, et al. Natural Organic Matter and the Event Horizon of Mass Spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2015, 80(23): 8908-8919.
- [14] Courdouan A, Christl I, Meylan S, et al. Isolation and characterization of dissolved organic matter from the Callovo - Oxfordian formation [J]. Applied Geochemistry, 2007, 22(7): 1537-1548.
- [15] Wünsch, Urban J, Stedmon C A, et al. Unraveling the sizedependent optical properties of dissolved organic matter[J]. Limnology and Oceanography, 2018, 63(2): 588–601.
- [16] Landry C, Tremblay L. Compositional differences between size classes of dissolved organic matter from freshwater and seawater revealed by an HPLC-FTIR system[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(3): 1700-1707.
- [17] Li Y, Harir M, Uhl J, et al. How representative are dissolved organic matter (DOM) extracts? A comprehensive study of sorbent selectivity for DOM isolation[J]. Water Research, 2017, 116: 316-323.
- [18] Retelletti B S, Ha S Y, Kim K, et al. Optical and molecular characterization of dissolved organic matter (DOM) in the Arctic ice core and the underlying seawater (Cambridge Bay, Canada): Implication for increased autochthonous DOM during ice melting
 [J]. Science of the Total Environment, 2018, 627: 802–811.
- [19] Chantigny M H, Harrison-Kirk T, Curtin D, et al. Temperature and duration of extraction affect the biochemical composition of soil water-extractable organic matter[J]. Soil Biology and Bio-

chemistry, 2014, 75: 161-166.

- [20] 王立英,吴丰昌,张润宇.应用XAD系列树脂分离和富集 天然水体中溶解有机质的研究进展[J].地球与环境,2006, 34(1):90-96.
- [21] Zhou J M, Chen H L, Huang W L. Effects of rice straw-derived dissolved organic matter on pyrene sorption by soil[J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2010, 29(9): 1967–1975.
- [22] Gurtler B K, Vetter T A, Perdue E M, et al. Combining reverse osmosis and pulsed electrical current electrodialysis for improved recovery of dissolved organic matter from seawater[J]. Journal of Membrane Science, 2008, 323(2): 328-336.
- [23] Koprivnjak J F, Pfromm P H, Ingall E, et al. Chemical and spectroscopic characterization of marine dissolved organic matter isolated using coupled reverse osmosis-electrodialysis[J]. Geochimica Et Cosmochimica Acta, 2009, 73(14): 4215-4231.
- [24] Vetter T A, Perdue E M, Ingall E, et al. Combining reverse osmosis and electrodialysis for more complete recovery of dissolved organic matter from seawater[J]. Separation & Purification Technology, 2007, 56(3): 383–387.
- [25] Amery F, Vanmoorleghem C, Smolders E . Adapted DAX-8 fractionation method for dissolved organic matter (DOM) from soils: development, calibration with test components and application to contrasting soil solutions[J]. European Journal of Soil Science, 2009, 60(6): 113–125.
- [26] Patrícia S M Santos, Otero M , Filipe O M S , et al. Comparison between DAX-8 and C-18 solid phase extraction of rainwater dissolved organic matter[J]. Talanta, 2010, 83(2): 505-512.
- [27] Zsolnay A. Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions[J]. Geoderma, 2003, 113(3-4): 187-209.
- [28] Richard C, Coelho C, Guyot G, et al. Fluorescence properties of the<5 kDa molecular size fractions of a soil humic acid[J]. Geoderma, 2011, 163(1-2): 24-29.
- [29] Simjouw J P, Minor E C, Mopper K. Isolation and characterization of estuarine dissolved organic matter: Comparison of ultrafiltration and C18 solid-phase extraction techniques[J]. Marine Chemistry, 2005, 96(3): 219–235.
- [30] 郭 瑾,马 军.天然有机物提取及表征技术近期发展动态[J].现代化工,2007,27(2):12-16.
- [31] Dittmar T, Koch B, Hertkorn N, et al. A simple and efficient method for the solid-phase extraction of dissolved organic matter (SPE-DOM) from seawater[J]. Limnology & Ocean ography Methods, 2008, 6(6): 230–235.
- [32] Mcadams B C, Aiken G R, Mcknight D M, et al. High pressure size exclusion chromatography (hpsec) determination of dissolved organic matter molecular weight revisited: accounting for changes in stationary phases, analytical standards, and isolation methods[J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(2): 722-730.
- [33] Aiken G, Leenheer J. Isolation and chemical characterization of dissolved and colloidal organic matter[J]. Chemistry and Ecology, 1993, 8(3): 135-151.
- [34] Dong W M, Liang L Y, Brooks S, et al. Roles of dissolved organic matter in the speciation of mercury and methylmercury in

a contaminated ecosystem in Oak Ridge, Tennessee[J]. Environmental Chemistry, 2010, 7(1): 94-102.

- [35] Christensen J B, Jensen D L, Cron C, et al. Characterization of the dissolved organic carbon in landfill leachate-polluted groundwater[J]. Water Research, 1998, 32(1): 125-135.
- [36] Steelink C. Implications of elemental characteristics of humic substances [M]. York: Wiley, 1985: 457–476.
- [37] Paul P. Nuclear Science and Technology [M]. Luxembourg: Clanrye International, 2015: 2365–2376.
- [38] 李帅东,姜泉良,黎 烨.环滇池土壤溶解性有机质(DOM) 的光谱特征及来源分析[J].光谱学与光谱分析,2018,37 (5);1448-1454.
- [39] 李璐璐,江 韬,闫金龙,等.三峡库区典型消落带土壤及 沉积物中溶解性有机质(DOM)的紫外-可见光谱特征[J]. 环境科学,2014,35(3):933-941.
- [40] Mcgarry S F, Baker A. Organic acid fluorescence: applications to speleothem palaeoe nvironmental reconstruction[J]. Quaternary Science Reviews, 2000,19(11):1087-1101.
- [41] 蔡文良.嘉陵江重庆段多环芳烃及溶解性有机质的污染特征及源解析[D].重庆:重庆大学,2012.
- [42] Helms J R, Stubbins A, Ritchie J D, et al. Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter [J]. Limnol Oceanogr, 2008, 53(3) : 955–969.
- [43] Matthews B J H, Jones A C, Theodorou N K, et al. Excitationemission-matrix fluorescence spectroscopy applied to humic acid ban- ds in coral reefs[J]. Marine Chemistry, 2016, 55(2): 317-332.
- [44] 王育来,孙即梁,杨长明,等.河岸带土壤溶解性有机质垂 直分布特征及其性质研究[J].农业环境科学学报,2013,32 (12):2413-2421.
- [45] 蔡明红,肖宜华,王 峰,等.北极孔斯峡湾表层沉积物中 溶解有机质的来源与转化历史[J].海洋学报,2012,34(6): 102-113.
- [46] 王齐磊,江 韬,赵 铮,等.三峡库区典型农业小流域水体中溶解性有机质的光谱特征[J].环境科学,2016,37(6): 2082-2092.
- [47] Li Q, Guo X, Chen L, et al. Investigating the spectral characteristic and humification degree of dissolved organic matter in saline-alkali soil using spectroscopic techniques[J]. Frontiers of Earth Science, 2017, 11(1): 76–84.
- [48] Kaiser K, Zech W. Rate of dissolved organic matter release and sorption in forest soils[J]. Soil Science, 2008, 163(3): 714–725.
- [49] 周江敏,代静玉,潘根兴.应用光谱分析技术研究土壤水溶 性有机质的分组及其结构特征[J].光谱学与光谱分析, 2004,24(9):1060-1065.
- [50] Bu X L, Wang L M, Ma W B, et al. Spectroscopic characterization of hot-water extractable organic matter from soils under four different vegetation types along an elevation gradient in the Wuyi Mountains[J]. Geoderma, 2010, 159(1-2): 139-146.
- [51] Yu M, He X, Liu J, et al. Characterization of isolated fractions

of dissolved organic matter derived from municipal solid waste compost [J]. Science of the Total Environment, 2018, 635(9): 275-283.

- [52] Zeng T, Arnold W A. Pesticide photolysis in prairie potholes: probing photosensitized processes[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(13):6735-6745.
- [53] 周江敏,代静玉,潘根兴.土壤中水溶性有机质的结构特征 及环境意义[J].农业环境科学学报,2003,22(6):731-735.
- [54] Wang Y, Yang C, Li J, et al. The chemical composition and source identification of soil dissolved organic matter in riparian buffer zones from Chongming Island, China [J]. Chemosphere, 2014, 111(9): 505–512.
- [55] Baluha D R, Blough N V, Del V R. Selective mass labeling for linking the optical properties of chromophoric dissolved organic matter to structure and composition via ultrahigh resolution electrospray ionization mass spectrometry[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(17): 9891–9897.
- [56] Hudson E D, Ariya P A, Gélinas Y. A method for the simultaneous quantification of 23 C1 - C9 trace aldehydes and ketones in seawater[J]. Environmental Chemistry, 2011, 8(4): 441-449.
- [57] Kaiser K, Benner R. Characterization of lignin by gas chromatography and mass spectrometry using a simplified cuo oxidation method[J]. Analytical Chemistry, 2012, 84(1): 459–464.
- [58] Wickramasekara S, Hernúndezruiz S, Abrell L, et al. Natural dissolved organic matter affects electrospray ionization during analysis of emerging contaminants by mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2012, 717(5): 77–84.
- [59] 姜 杰,杨 浈,任 谦,等.土壤腐殖质氧化还原电位及其 相应电子转移能力分布[J].环境化学,2015,34(2):219-224.
- [60] Yuan D, Zhou Q, An Y, et al. Impacts of soil improvement on the pollutant-removal performance and DOM characteristics using a simulation experiment [J]. Ecological Indicators, 2019, 105 (5): 1–10.
- [61] 许 伟.水溶性有机物的电子转移能力及其对微生物异化 铁还原影响的研究[D].成都:四川师范大学,2009.
- [62] 蔡茜茜,袁 勇,胡 佩,等.腐殖质电化学特性及其介导的胞外电子传递研究进展[J].应用与环境生物学报,2015, 21(6):996-1002.
- [63] Virginia Hernández-Montoya, Alvarez L H, Miguel A Montes-Morán, et al. Reduction of quinone and non-quinone redox functional groups in different humic acid samples by Geobacter sulfurreducens[J]. Geoderma, 2012, 161(1): 25-31.
- [64] Yu J, Xu Q, Liu Z, et al. Morphological characteristics of fulvic acid fractions observed by atomic force microscopy[J]. Journal of Microscopy, 2014, 252(1): 71–78.
- [65] Alivio T E G, Fleer N A, Singh J, et al. Stabilization of Ag Au bimetallic nanocrystals in aquatic environments mediated by dissolved organic matter: a mechanistic perspective [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(13):7269–7278.

(责任编辑:王丝语)