

海水腐植质的基本化学组成研究*

高洪峰 曹文达 纪明侯

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提要 于1992—1993年用 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 和IR等分析技术对甲基化前后的海水腐植质(1992年从青岛近岸海水中吸附提取)的基本化学组成和结构特征进行研究,并与风化煤和海洋沉积物中的腐植质作比较。结果表明,IR和 $^1\text{H-NMR}$ 谱图显示,海水腐植质主要由脂肪链化合物组成,含有一定量的肽类和多糖,芳香结构较少。采用NNE技术的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图中各类碳的相对含量为:脂肪族碳,33.2%;脂肪族连氧、氮碳,16.3%;多羟基碳,33.7%;芳香碳和连氧芳香碳,7.5%;醌基和羰基碳,9.3%。

关键词 海水腐植质 化学组成 结构特征

海水腐植质的形成、输送和转化是一个相当复杂的生物地球化学过程,与浮游植物的繁殖、代谢和分解过程,海洋动物和海藻等的分泌物等有着密切的关系。由于腐植质是参与海洋中碳循环的动态分子,长期以来对它的化学结构尚不清楚。近年来,通过核磁、红外等现代分析技术的应用对腐植质的结构有了一定了解,对其基本化学组成也可以进行归属和定量估测(陈荣峰等,1981)。这使进一步研究海水腐植质在形成过程中其化学组成和性质的变化,以及与其它有机物的相互关系成为可能。本文应用 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 和IR等分析技术测定海水腐植质的基本化学组成,对不同类型的氢原子和碳原子的含量作了较合理的估测,以期为通过人工模拟合成海水腐植质而探索它在海洋中的形成条件和途径提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 海水腐植质:于1992年用GDX-102树脂从青岛近岸海水中吸附提取腐植质后,在不同溶剂洗脱下,分级为海水腐植质(HA)、海水富里酸(FA)和海水乙醇可溶有机物(ES)(纪明侯等,1982)。海洋沉积物腐植质(HA):用0.1 mol/L $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 和0.1 mol/L NaOH混合液从青岛胶州湾海泥中萃取腐植质类物质后,再经过树脂分级和提纯(曹文达等,1987)。风化煤腐植质(HA):由北京延庆腐植酸厂提供粗品,再经提纯和精制。

1.2 方法 腐植质的甲基化:参考Schnitzer(1974)的腐植质甲基化方法,将1 g腐植质样品(海水、海泥和风化煤中腐植质的甲基化方法相同)溶解在30 ml, 1.0 mol/L NaOH溶液中。加15 ml, 2.0 mol/L AgNO_3 溶液,使银离子以腐植酸银盐和氢氧化银形式共沉淀下来,离心(3 500 r/min, 20 min),将沉淀用15 ml蒸馏水洗涤后再离心弃去清液。把沉淀转移入100 ml具塞锥形瓶中,加入50 ml丙酮和10 ml碘甲烷,置

* 国家自然科学基金资助项目,49070274号。高洪峰,男,出生于1963年10月,助研。

收稿日期:1993年12月28日,接受日期:1995年6月20日。

电磁搅拌器上室温下搅拌反应 96 h。将反应物移入培养皿中，并放在通风橱中干燥后移入一个滤纸筒，放在脂肪抽提器中用 100 ml 三氯甲烷抽提。抽提液放在旋转蒸发器内减压抽干，附在瓶壁上的物质即甲基化产物。

$^1\text{H-NMR}$ 谱分析：实验是用瑞士 Bruker AC-80 型 NMR 仪进行。仪器工作频率为 80 兆赫，在室温下测定。取 30 mg 左右甲基化和未甲基化的各种腐植质，分别溶解于 1.0 ml CDCl_3 和 1.0 ml $\text{DMSO}-d_6$ 中，以 TMS 为内标，记录 $^1\text{H-NMR}$ 谱图。

$^{13}\text{C-NMR}$ 谱分析：仪器工作频率为 20 兆赫。取 200 mg 左右甲基化和未甲基化的各种腐植质分别溶于 1.0 ml CDCl_3 和 1.0 ml D_2O 中，分别以 TMS 和 DDS 为内标，室温下测定记录 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图。

红外光谱分析：称取干燥后的样品约 1 mg，研成粉末后加入 200 mg KBr，研磨均匀，压片，在岛津 IR-440 红外光谱仪上记录红外光谱。

2 结果和讨论

2.1 红外吸收光谱 各腐植质的红外吸收光谱图(图1a)表明，在羧基的特征吸收区域 1720 cm^{-1} 附近有较强的吸收。 $2980-2850\text{ cm}^{-1}$ 为脂肪族 C-H 伸展振动的吸收峰，三种海洋腐植质(海水 FA、海水 ES 和沉积物 HA) 的该吸收峰都较强，而风化煤 HA 的吸收峰很弱，仅为一个平坦吸收带，表明海洋腐植质较风化煤 HA 含有更多的脂肪链，H/C 比值较高。 1620 cm^{-1} 是芳香环的吸收峰，三种海洋腐植质的该峰都较弱，被 1720 cm^{-1} 强峰所重叠，在该区域只显一个肩，而风化煤 HA 的芳香环吸收较强，与

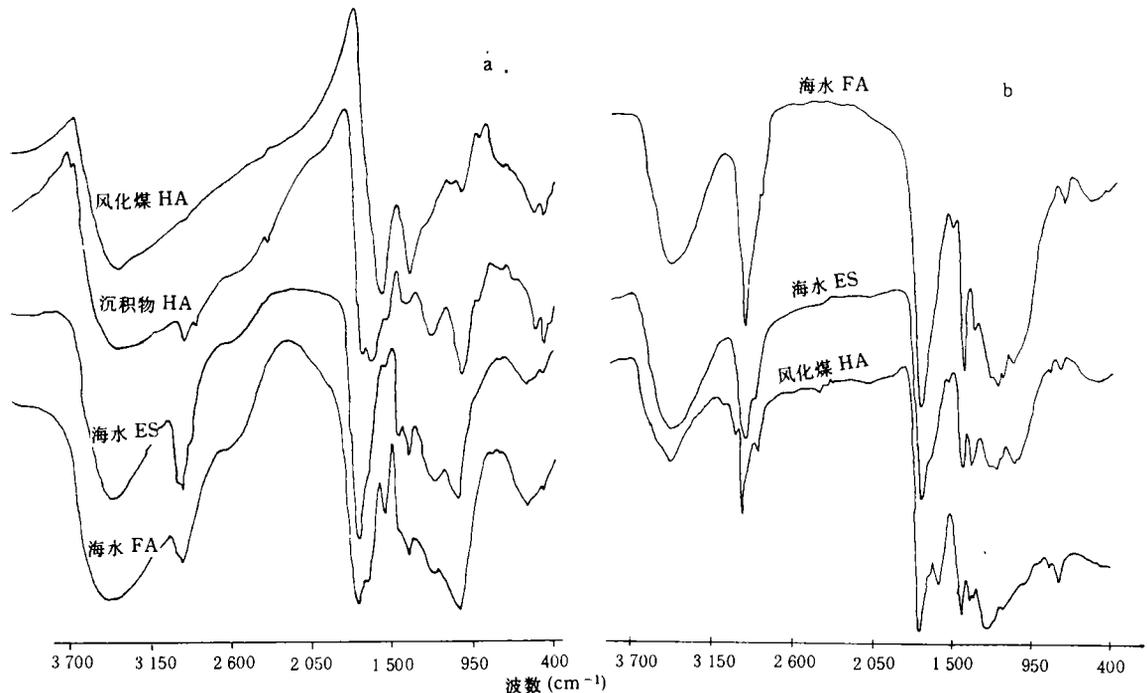


图1 各种腐植质在甲基化前(a)和甲基化后(b)的红外光谱图

Fig.1 Infra-red spectra of various humic substances before (a) and after (b) methylation

1720 cm^{-1} 形成较强重峰。 1540 cm^{-1} 附近的吸收表明分子中含有多肽单元 (曹文达等, 1987), 海洋沉积物 HA、海水 FA 在该区域都有较强的吸收, 表明含有较多的多肽, 而风化煤 HA 吸收很弱, 表明多肽含量很少。 $1080 - 1040\text{ cm}^{-1}$ 的吸收为多糖 C—O 伸展振动 (Senesi et al., 1987), 海水 FA、海水 ES 和沉积物 HA 都有较强吸收, 而风化煤 HA 的吸收很弱, 说明海洋腐植质分子中含有较多的多糖。

各腐植质经甲基化后, 由于对一些含氧基团进行了选择性封闭, 红外光谱变得更加清晰, 比较甲基化前后的光谱可以看到, 甲基化后 (图 1b), 3400 cm^{-1} 处 OH 吸收带强度减小; $2960, 2850$ 和 1440 cm^{-1} 处脂肪族的 C—H 吸收增大。在 $1700 - 1600\text{ cm}^{-1}$ 区域有显著变化。 1715 cm^{-1} 处的羰基吸收增大, 同时伴随着 1625 cm^{-1} 处吸收带强度明显降低。在 1250 cm^{-1} 附近有一个苯氧基 C—O 吸收带的尖峰, 风化煤 HA 含芳香环较多, 所以此峰增长很明显。

甲基化后, —COOH 转化为 —COOCH₃, 但谱图上没有消除 3400 cm^{-1} 吸收带, 显然这是属于醇羟基的, 也可能是由于与腐植质结合得比较紧的水或无机氢氧化物所产生。甲基化后使 1600 cm^{-1} 区域的吸收明显变弱, 而 1720 cm^{-1} 区域的吸收增强。可能是甲基化以后氢键结合的羰基吸收从 1630 cm^{-1} 移至 1720 cm^{-1} , 或 COO⁻ 基团变成酯后在 1720 cm^{-1} 附近吸收。 1380 cm^{-1} 峰一般被认为是 C—CH₃ 基对称变形振动的特征吸收, 甲基化后, 该峰从光谱图中消失, 说明腐植质中的这个峰主要和羧基有关。

2.2 ¹H-NMR 谱 几种腐植质的 ¹H-NMR 谱图见图 2a。 0×10^{-6} 是 TMS (四甲基硅烷), $0.5 - 2.0 \times 10^{-6}$ 范围内的吸收主要是脂肪链上氢的贡献。其中 $0.5 - 1.6 \times 10^{-6}$ 范围的吸收可归属为很少分支的脂肪链上甲基、亚甲基的吸收。 $1.6 - 2.0 \times 10^{-6}$ 吸收峰可归属为与烯键相连的甲基、亚甲基的吸收。 2.5×10^{-6} 处是 DMSO-d₆ 的吸收峰。在 $3.0 - 6.0 \times 10^{-6}$ 范围内宽而强的吸收带, 主要是 —OH, —COOH, —NH 等活泼氢及溶剂中所含微量水 and 多糖及其类似物质所造

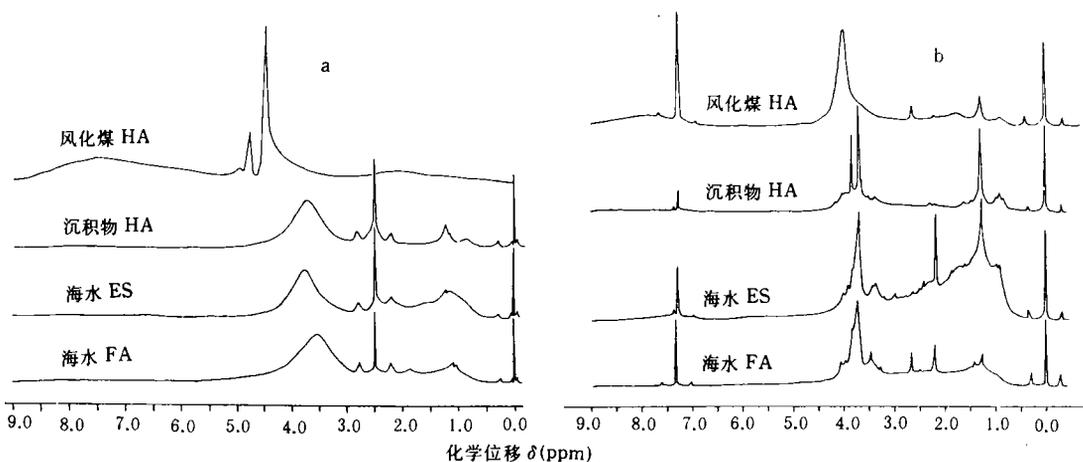


图 2 几种腐植质在甲基化前 (a) 和甲基化后 (b) 的 ¹H-NMR 谱图

Fig.2 ¹H-NMR spectra of several humic substances before (a) and after (b) methylation

成。水的吸收峰一般在 4.7×10^{-6} 附近 (陈耀祖, 1981)。加入 D_2O 后该范围的共振信号均向低场移动, 如海水 FA 的 3.54×10^{-6} 吸收带移至 3.7×10^{-6} , 这是由于活泼氢与 D_2O 进行快速交换产生 HDO, 所以活泼氢移向低场。当样品的浓度加大后, 重新测定海水 FA 的 ^1H-NMR 谱, $3.0 - 6.2 \times 10^{-6}$ 范围内的吸收峰也向低场移动, 如 3.54×10^{-6} 的吸收带移至 4.14×10^{-6} , 这可能是当浓度增大后, 分子间氢键强度增大, 氢键有去屏蔽效应, 使 1H 的吸收带显著地移向低场。 $6.0 - 9.0 \times 10^{-6}$ 范围内的吸收属芳香质子, 海洋腐植质的芳香结构较少, 所以在此范围内三种海洋腐植质都只显示平缓的斜坡吸收峰, 而风化煤 HA 在此范围内有明显的宽而高的吸收带, 说明风化煤 HA 中含有较多的芳香结构, 脂肪结构含量则相对较少。

腐植质的甲基化产品可溶于 $CDCl_3$, 因此在 2.5×10^{-6} 区域无 DMSO 溶剂峰的干扰, ^1H-NMR 谱图变得更为清晰 (图 2b), 而且由于引入 $-CH_3$ 使某些氢键破坏, 峰形也变得较尖锐。比较甲基化前后谱图, 最明显的差别是 $3.0 - 3.7 \times 10^{-6}$ 范围的吸收峰增大, 并分裂成几个尖峰, 由于该范围内为醇、醚中同氧相连以及化合物中同氮、卤素相连的 α -碳上的质子, 当引入了一 OCH_3 后必然会增强峰的强度, 当样品中加入 D_2O 后, 重新测定其 ^1H-NMR 谱, 发现峰的位置不变, 说明样品已完全被甲基化, 无活泼氢存在。

根据 ^1H-NMR 谱图中各峰的积分面积, 计算各类氢的相对含量列于表 1。结果表明, 风化煤 HA 的芳香氢与脂肪氢之比为 2.62, 比海洋腐植质的该比值大得多。而其与氧、氮相连的活泼氢含量又低于海洋腐植质的, 这些差异在 IR 光谱中也得到了证实。

表 1 几种腐植质中各类氢的相对含量 (%)

Tab.1 The relative contents (%) of various hydrogens of several humic substances and weathered coal

样 品	脂肪链氢 ($0.5 - 3.0 \times 10^{-6}$)	连氧、氮、卤素等氢 ($3.0 - 4.75 \times 10^{-6}$)	芳香氢 ($6.4 - 9.0 \times 10^{-6}$)	芳香氢 / 脂肪氢
海水 FA	27.47	67.38	5.15	0.19
海水 ES	35.67	61.34	3.00	0.08
沉积物 HA	18.48	74.56	6.96	0.38
风化煤 HA	19.76	28.52	51.72	2.62

表 2 海水和风化煤腐植质中各类型碳的相对含量比较

Tab.2 The comparison of relative content of various carbons of humic substances in seawater and weathered coal

碳原子的类型	甲基碳及 C-CH ₂ CH ₂ 中碳	脂肪族连 氧、氮碳	多羟基碳 (碳水化合物)	芳香碳	连氧芳香碳	酮基碳和 羧基碳	
海水	积分范围 ($\times 10^{-6}$)	6.1—47.3	47.3—66.0	66.0—108.0	108.0—150.0	150.0—167.0	167.0—187.0
FA	积分值 含量 (%)	346.52 33.2	170.59 16.3	351.85 33.2	74.72 7.2	3.37 0.3	97.58 9.3
风化煤	积分范围 ($\times 10^{-6}$)	6.1—42.0	42.0—66.6	81.0—108.0	108.0—150.0	150.0—170.0	170.0—187.0
HA	积分值 含量 (%)	68.85 10.3	85.52 12.9	74.36 11.2	346.02 52.0	72.70 10.9	18.30 2.8

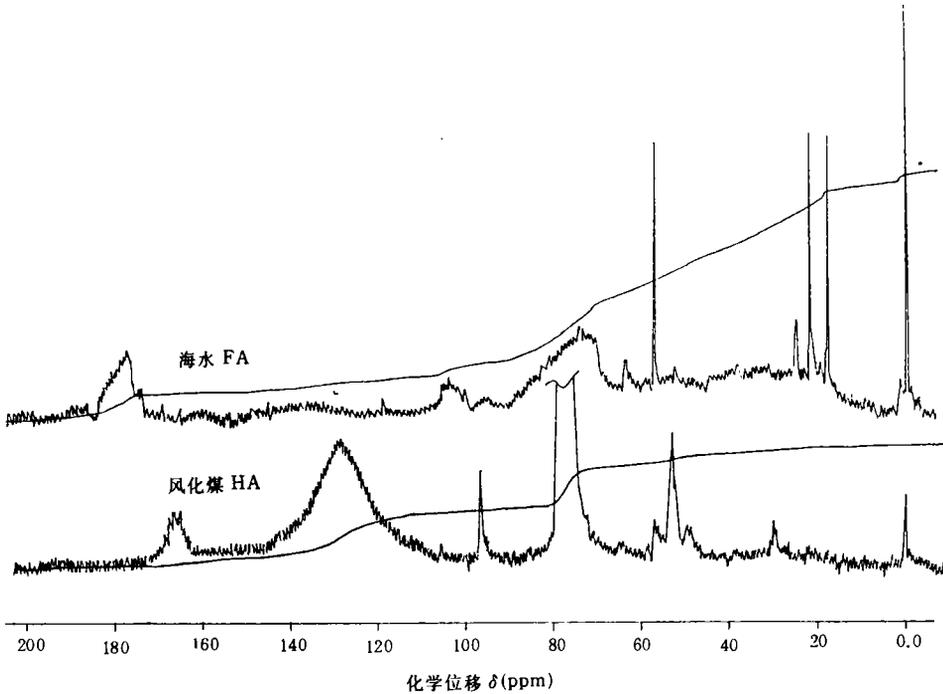


图3 海水和风化煤腐植质的 ^{13}C -NMR谱图

Fig.3 ^{13}C -NMR spectra of humic substances from seawater and weathered coal

2.3 ^{13}C -NMR 谱 海水 FA 和风化煤 HA 的 ^{13}C -NMR 谱图 (图 3) 清楚地显示了两类腐植质的不同特征, 海水 FA 在 $0 - 47 \times 10^{-6}$ 范围内呈现一系列共振信号, 有明显的脂族碳特征。而风化煤 HA 则在 $108 - 150 \times 10^{-6}$ 范围内有很强吸收, 说明芳香碳含量很高。

^{13}C -NMR 谱图是采用 NNE (门控去偶) 技术和延长脉冲重复时间的方法操作的, 最大程度地减少 NOE (核极化效应) 的影响, 因此可以利用峰的积分值对腐植质中不同类型碳原子的含量做较合理的估测, 结果见表 2。从表 2 可以看出, 海水 FA 的脂肪族碳和多羟基碳 (碳水化合物) 的相对含量均比风化煤 HA 的高出约 3 倍, 而其芳香碳的相对含量仅占风化煤 HA 的 $1/8$, 这些结果也与 IR 谱图中的主要吸收特征相吻合。

3 结论

海水腐植质主要由非芳香性的脂肪酸、碳水化合物和肽类化合物组成, 芳香结构较少。这是与以芳香结构单元为主要组成的陆地风化煤腐植质的显著差异。 ^{13}C -NMR 分析结果表明, 海水腐植质分子中各类碳的相对含量为: 脂肪族碳, 33.2%; 脂肪族连氧、氮碳, 16.3%; 多羟基碳, 33.7%; 芳香碳和连氧芳香碳, 7.5%; 酰基和羰基碳, 9.3%。

参 考 文 献

- 纪明侯等, 1982, 海洋与湖沼, 13(4): 370—378。
陈荣峰等, 1981, 燃料化学学报, 9(2): 180—186。
陈耀祖, 1981, 有机分析, 高等教育出版社(北京), 671。
曹文达等, 1987, 海洋与湖沼, 18(4): 364—370。
Schnitzer, M., 1974, *Soil Science*, 117(2): 92—102。
Senesi, N. et al., 1987, *Org. Geochem*, 11(1): 25—30。

STUDIES ON THE FUNDAMENTAL CHEMICAL COMPOSITION OF HUMIC SUBSTANCES IN SEAWATER

Gao Hongfeng, Cao Wenda and Ji Minghou

(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071*)

Abstract The fundamental chemical composition and structural features of the humic substances (HS) in seawater (collected from Qingdao coast) before and after methylation were investigated by using $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and IR spectroscopy in 1992—1993. Comparative studies on the HS from weathered coal and marine sediments were conducted. The IR spectra showed that the HS in seawater are mainly composed of aliphatic compounds, and also contain some peptides, polysaccharides and less aromatic components. However, the HS from weathered coal contain more aromatic components and the HS from marine sediments contain more peptides. According to the integral areas of absorption bands in $^1\text{H-NMR}$ spectra, the ratio of aromatic to aliphatic hydrogen atoms of the HS in seawater was calculated to be 0.19, which conformed with its high aliphatic and low aromatic feature shown in IR spectra. The $^{13}\text{C-NMR}$ spectra with the use of NNE technique indicated the relative contents of various carbon atoms: aliphatic carbon (CH_3 , CH_2 , CH and C—)($6.0—47 \times 10^{-6}$) 33.2%; aliphatic carbon linking oxygen or nitrogen ($47—66 \times 10^{-6}$), 16.3%; polyhydric carbon ($66—108 \times 10^{-6}$), 33.7%; aromatic carbon and ones linking oxygen ($108—167 \times 10^{-6}$), 7.5%, as well as quinone and carbonyl carbon ($167—187 \times 10^{-6}$), 9.3%. These results provide important scientific bases for the simulated synthesis of the HS in seawater and for research on their formation process.

Key words Humic substances in seawater Chemical composition Structural feature