

## 裂解技术研究 Pahokee 泥炭腐殖酸的组成和来源特征

李 丽<sup>1,2</sup> 贾望鲁<sup>2</sup> 彭平安<sup>2</sup> 傅家谟<sup>2</sup> 盛国英<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>(同济大学海洋地质教育部重点实验室, 上海 200092)

<sup>2</sup>(中国科学院广州地球化学研究所, 有机地球化学国家重点实验室, 广州 510640)

**摘 要** 通过原位裂解-色谱-质谱(Py-GC-MS)技术,应用直接裂解和原位裂解甲基化两种手段,从分子水平研究了 Pahokee 泥炭腐殖酸的来源和组成特征,结果表明:两种裂解方式都得到大量芳香结构的裂解产物,少量游离脂肪酸和脂肪链状结构裂解产物,以及一些含氮或呋喃结构的裂解产物,表明 Pahokee 泥炭腐殖酸的形成主要与陆生木质素有关,而微生物和其他物质对腐殖酸形成也有重要贡献。

**关键词** 腐殖酸,裂解技术,结构组成,来源

### 1 引 言

腐殖物质是动植物残体通过各种生物、非生物的降解、缩合等作用形成的天然有机大分子物质,在自然界中分布广泛,对全球碳循环,有机、无机化合物在自然界的迁移、转化和归宿,饮用水消毒过程中致癌副产物的形成等有非常重要的影响<sup>[1,2]</sup>。因而,此类物质的研究一直受到土壤学家、化学家以及环境学家的关注。腐殖物质的组成复杂,没有固定的元素组成和结构,限制了人们对其精细结构的研究。通过各种化学降解(如水解、氧化和还原)或热裂解,将腐殖大分子物质转化可分析的小分子物质以帮助人们了解腐殖物质的内部结构组成和来源。与化学降解方法相比,裂解技术操作简单,所用样品量少(一般为几 mg),可以避免各种副反应和二级反应<sup>[3]</sup>。目前该方法作为一种分子水平表征手段,已被广泛应用于复杂的生物和地球化学大分子物质的结构研究中,如木质素、腐殖物质、干酪根和沥青质等<sup>[3-6]</sup>。同时裂解烷基化技术的应用改善了极性产物不利于气相色谱分析的缺点,使裂解技术在生物、地质大分子物质的结构组成分析中更加完善<sup>[6,7]</sup>。

本研究结果表明:在线裂解和原位甲基化裂解都获得了大量来源木质素的芳香结构裂解产物,少量来源于微生物和植物的脂肪烃聚合物的脂肪链结构裂解产物,以及一些来源于氨基酸、蛋白质和多糖等物质的含氮或呋喃结构的裂解产物。该研究从分子水平对 Pahokee 泥炭腐殖酸的结构组成和来源情况提供了重要信息,有助于了解腐殖酸类大分子有机质的结构和形成历史。

### 2 实验部分

#### 2.1 仪器和试剂

裂解-气相色谱-质谱联用仪: CDS-1500 裂解仪(Chemical Data Systems), GC-8000 TOP 气相色谱-Voyager 质谱仪(Finnigan 公司)。DB-5MS 毛细管色谱柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm, J&W)。

甲基化试剂: 四甲基羟胺溶液(Tetramethylammonium hydroxide, TMAH)(10 % m/m, Merck)。实验所用其他试剂均为分析纯,实验用水为 Millipore 装置制备的超纯水(≥18.2 MΩ · cm)。

#### 2.2 样品前处理

研究所用土壤样品为 Pahokee 泥炭(国际腐殖酸协会 IHSS, 碳和灰分含量分别为 45.7% 和 15%)。腐殖酸的分离提取参照 IHSS 推荐方法<sup>[8]</sup>: 用 0.1 mol/L HCl 去除碳酸盐后,在 N<sub>2</sub> 保护下用 0.1 mol/L NaOH 溶解,6 mol/L HCl 沉淀,然后用 0.1 mol/L HCl + 0.3 mol/L HF 混合酸浸泡,最后用超纯水反复透析交换至无 Cl<sup>-</sup>(0.1 mol/L AgNO<sub>3</sub> 检测),冷冻干燥。

#### 2.3 分析条件

2003-11-08 收稿;2004-03-15 接受

本文系国家自然科学基金资助项目(No. 40172105)

**2.3.1 在线裂解-气相色谱-质谱** 将装有样品(约 1 mg)的石英管置入有铂丝缠绕的裂解探头(CDS-2000),水平伸入 250℃的裂解腔膛中,以 5℃/ms 加热到 610℃并保持 10 s,以氦气为载气并将裂解产物吹入色谱柱中。色谱柱升温程序:35℃(5 min)  $\xrightarrow{2.5^\circ\text{C}/\text{min}}$  200℃  $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$  300℃(5 min)。质谱电子能量 70 eV,扫描范围 35~600 amu。通过将裂解产物的质谱图与谱库(Wiley、NIST 和 LIBTX)和文献中的数据相互对照,并参考保留时间而确定其最终结构。

**2.3.2 在线原位甲基化裂解-气相色谱-质谱** 在装有样品(约 0.6mg)的石英管中注入 20  $\mu\text{L}$  四甲基羟胺溶液,真空干燥后进行裂解分析。裂解程序同上,色谱程序为:35℃(5 min)  $\xrightarrow{3^\circ\text{C}/\text{min}}$  300℃(5 min)。其余条件同上,但由于甲基化试剂的影响,质谱采集时间延迟到 9 min 开始。

### 3 结果与讨论

在对地质大分子物质的裂解研究中,裂解温度一般选择在 600℃左右,该温度裂解的产物的分布更真实地反映了这些大分子物质(如煤、腐殖物质及干酪根)的结构<sup>[4]</sup>。经过实验确定,本研究的裂解温度为 610℃。

#### 3.1 腐殖酸在线裂解-气相色谱-质谱分析

图 1a 为腐殖酸的裂解色谱总离子流图。根据质谱的裂解碎片峰的特征,有 80 多个色谱峰被辨认分析。酚类、烷基苯类、脂肪烃类是主要的裂解产物,其中以木质素的生物标志化合物——邻甲氧基苯酚(图 1a 中 G)最为突出。同时还检测到其在 4 位不同取代基的同系物,分别对应于图 1a 中的 G1:2-甲氧基-4-甲基-苯酚,G2:2-甲氧基-4-乙基-苯酚,G3:2-甲氧基-4-乙炔基-苯酚,G4:2-甲氧基-4-丙烯基-苯酚,G5:2-甲氧基-4-乙酰基-苯酚,G6:2-甲氧基-4-丙酰基-苯酚化合物。除邻甲氧基苯酚结构的化合物外,木质素的另一个常见的生物标志物是 2,6-二甲氧基苯酚及其同系物(图 1a 中的 S 及 S1:2,6-二甲氧基-4-甲基-苯酚,S2:2,6-二甲氧基-4-丙烯基-苯酚,S3:2,6-二甲氧基-4-乙酰基-苯酚)也出现在腐殖酸的裂解色谱图中。这些甲氧基苯酚结构的裂解产物都是陆生植物的指示物,通过降解、缩合等作用参与到腐殖酸的形成过程中<sup>[4,9]</sup>。

苯酚(图 1a 中 P)和烷基取代苯酚(P1: *o*-甲基苯酚,P2: *m/p*-甲基苯酚,P3: 二甲基酚,P4: 乙基酚,P5: *o*-苯二酚,P6: 4-乙炔基苯酚,P7: 3-甲氧基-苯二酚)是腐殖酸裂解产物中的常见化合物,一般认为苯酚类物质可能来源于蛋白质、聚羧酸、碳水化合物或木质素<sup>[4,9,10]</sup>。但裂解产物中相对高含量的甲氧基苯酚化合物,说明苯酚可能主要来源于木质素。

烷基苯是另一类常见的腐殖酸裂解产物。这类物质的准确来源还不十分清楚,一些研究者认为可能来源于腐殖酸中的芳环结构<sup>[6]</sup>,但也有人认为裂解产物中的烷基苯是腐殖酸中的脂肪链的二次裂解产物通过环化反应形成的<sup>[11]</sup>。在本研究材料中该类化合物的色谱峰不强(未标出),且有较高的酚类裂解产物,推断苯类裂解产物可能与木质素中的芳香结构有关。

另外,在腐殖酸的裂解产物中通常还存在系列的正构烷烃/烯烃裂解产物对,该腐殖酸中此系列裂解产物的碳数范围为 10~29(图 1b)。据报道,脂肪酸酯裂解后其脂肪酸部分将得到比原脂肪酸少一个碳的烷烃,而醇部分将得到与原脂肪醇相同碳数的烯烃<sup>[12]</sup>。通常脂肪烃裂解产物是从腐殖酸结构中的聚脂肪烃结构热解释放得到,可能与植物的表皮、角质层和微生物中的聚脂肪烃结构有关<sup>[13,14]</sup>。虽然这些生物聚合物仅是其原始母体中的一个较小成分,但他们在缺氧条件下很难分解,并在早期的成岩过程中成为腐殖酸的主要结构<sup>[13]</sup>。

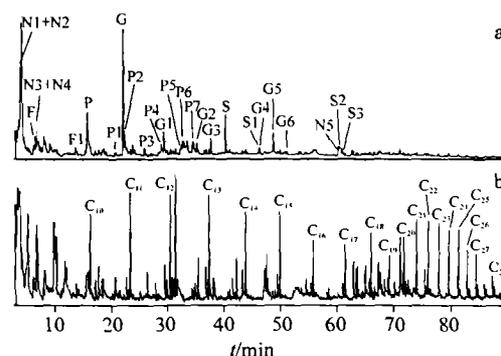


图 1 腐殖酸裂解产物的总离子流图(a)和  $m/z$  57 特殊离子流图(b)

Fig. 1 Total ion chromatogram (a) and  $m/z$  57 specific ion chromatogram (b) of the pyrolysates of the humic acid

除以上芳香类和脂肪烃类裂解产物外,还检测到几个脂肪酸化合物( $C_{14}$ - $C_{18}$ 脂肪酸)。从脂肪酸的特殊离子色谱图(图2)中可以更清楚的观察到:这些脂肪酸存在明显的偶碳优势,而且以 $C_{16}$ 脂肪酸最强, $C_{15}$ - $C_{17}$ 支链脂肪酸的存在,可以确定这些脂肪酸主要来源于微生物<sup>[15,16]</sup>。本研究用二氯甲烷/甲醇(1:1, V/V)超声萃取3次后再做裂解,发现这些脂肪酸仍然存在。在以往的腐殖酸裂解产物中也常常检测到 $C_{14}$ - $C_{18}$ 脂肪酸的裂解产物,可能是吸附在腐殖酸中的游离脂肪酸受热后挥发出来的,不是腐殖酸结构裂解断键后产生的<sup>[4,7,17]</sup>。因为以酯键形式与腐殖酸相连的脂肪酸在裂解时一般会脱羧得到少一个碳数的对应烷烃<sup>[7,10]</sup>。然而这些被紧密吸附(难以萃取)的游离脂肪酸在受到化学或热作用时,会被释放出来。

此外,裂解产物中存在的一些含氮(N1:吡啶,N2:吡咯,N3:甲基吡咯,N4:甲基吡咯,N5:2,2'-二酮-二吡咯)和咪喃结构(F1:2-咪喃醛,F2:甲基-2-咪喃醛)的物质,表明氨基酸、蛋白质和多糖等物质也参与了腐殖酸的形成过程。

### 3.2 腐殖酸原位甲基化裂解-气相色谱-质谱分析

与未甲基化时的裂解色谱图相比,使用原位甲基化技术后,得到不同的产物分布,主要是一些芳香酸和脂肪酸的甲酯化产物(图3a)。3,4-二甲氧基苯酸甲酯和3,4,5-三甲氧基苯酸甲酯(图3a中G和S)是丰度最高的两个化合物。这两个裂解产物主要是木质素侧链在腐殖化过程中氧化产生的,通过酯键或醚键与腐殖酸的大分子结构相连<sup>[6,18]</sup>。在未添加甲基化试剂时,这些氧化产物脱羧后产生相应的酚类化合物:邻甲氧基酚和2,6-二甲氧基苯酚。在图中还检测到来源于这两种结构的其它化合物的甲基化产物:G1:3,4-二甲氧基苯甲醛,G2:3,4-二甲氧基苯乙酮,G3:3,4-二甲氧基苯乙酸甲酯,G4:3,4-二甲氧基-(2'-甲氧基)-苯乙烯,G5:3-(3,4-二甲氧基苯)-苯甲酸甲酯和S1:3,4,5-三甲氧基苯甲醛,S2:4,5-二甲氧基-1,3-苯二酸甲酯,以及来源于对-羟基苯(对应于未甲基化前的苯酚)结构的甲基化产物:P1:4-甲氧基-苯乙烯、P2:4-甲氧基-苯甲醛、P3:4-甲氧基苯酸甲酯和P4:3-(4-甲氧基苯)-2-丙烯酸甲酯。

在甲基化处理后的裂解产物中,多数为酸和酚的甲基化物质;而在未甲基化前比较突出的峰,如苯酚、邻甲氧基苯酚和2,6-二甲氧基苯酚,以及烷基苯类物质都没有检测到,表明甲基化有效的保护了原始结构中的羧酸官能团,以及酚类和羧酸类物质的甲基化是比较完全的。在未甲基化时,苯酚类化合物的强度较强,而对应甲基化产物却未表现出相应的强度,可能在直接裂解时,部分甲氧基结构的化合物脱甲氧基,导致得到较多的不含甲氧基或少一个甲氧基的酚类物质。因此,甲基化技术真实地反映了腐殖酸的原始组成。

添加甲基化试剂以后的另外一个特征是得到一系列 $C_{10}$ ~ $C_{30}$ 的脂肪酸甲酯裂解产物,并显示出很强的偶奇优势(图3b)。对比甲基化前后脂肪酸(图2)、脂肪酸甲酯(同图3b)的裂解图可以发现, $C_{14}$ 到 $C_{18}$ 的分布模式几乎相同,尤其是主峰 $C_{16}$ 和 $C_{15}$ ~ $C_{17}$ 的支链脂肪酸。因而可以推测 $C_{14}$ ~ $C_{18}$ 的脂肪酸甲酯主要来源于吸附在腐殖酸结构中的游离脂肪酸而不是以化学键形式与腐殖酸相连裂解后产生的。同时,从脂肪酸甲酯的分布情况也可以推断部分脂肪酸甲酯来源与原先以化学键形式连接在腐殖酸大分子结构中,通过皂化/甲基化作用从大分子结构上断裂下来。在未添加甲基化试剂时得到的烷烃类裂解产物可能

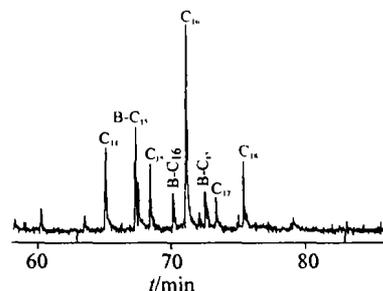


图2 腐殖酸裂解产物的特殊离子流色谱图( $m/z$  60)

Fig. 2 Specific ion chromatogram ( $m/z$  60) of the pyrolysates of the humic acid

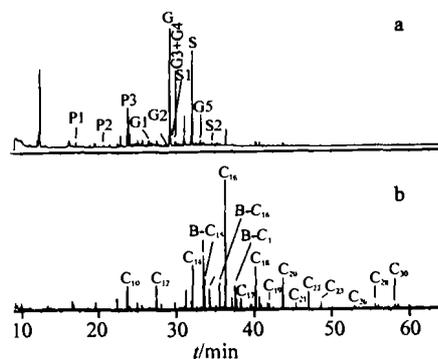


图3 腐殖酸原位甲基化裂解产物的总离子流色谱图(a)和 $m/z$  74特殊离子流色谱图(b)

Fig. 3 Total ion chromatogram (a) and  $m/z$  74 specific ion chromatogram (b) of the pyrolysates of humic acid with in situ methylation

部分来自以酯键形式与腐殖酸大分子相连的脂肪酸部分裂解脱羧产物;而酯键中以醇形式相连的部分,在未加甲基化时,裂脱水得到烯烃类产物;而在添加甲基化试剂后,本应得到但并未得到明显的甲基醚系列裂解产物,这主要与醇类物质较低的原位甲基化效率有关。一般情况下,甲基化对酸和酚类物质效率,几乎高达100%,而对醇类物质却比较低,尤其是低碳数的醇<sup>[19]</sup>。因此,在添加甲基化试剂后,没有得到明显的甲基醚系列裂解产物,而得到的主要是酚类甲基醚和羧酸甲基酯裂解产物。

### 3.3 原位甲基化前后腐殖酸裂解产物的含量

在腐殖物质的裂解过程中,可得到大量的裂解产物,尤其是低分子量的小分子。许多研究仅是定性的说明某些峰的消涨,即使裂解前加入标样,因为存在裂解和共溢出等问题,也难以准确定量。在本研究中,裂解产物的丰度,以该裂解产物的色谱峰面积占所有被辨认出的裂解产物的色谱峰总面积的百分数来表示,并根据结构分为芳烃类和烷烃类两组裂解产物。计算出原位甲基化前后两类裂解产物的百分含量,芳烃类在甲基化前分别为60.1%和78.2%,烷烃类分别为7.7%和10.2%。

### 3.4 腐殖酸的来源分析

腐殖酸裂解产物可以提供该腐殖酸的可能来源信息,如长链脂肪碳结构中(包括烷烃、烯烃和脂肪酸),碳数 $\leq 20$ 一般认为是微生物来源,而碳数 $> 20$ 的则主要是高等植物来源;芳烃类裂解产物主要对应于植物来源;甲基化前的游离脂肪酸主要对应于藻类等微生物<sup>[4,9,13]</sup>(见图4)。

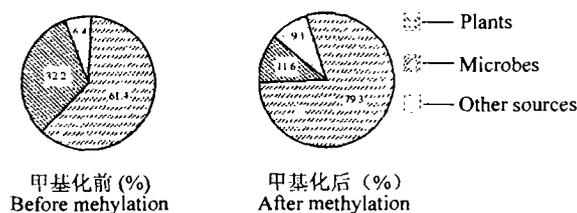


图4 Pahokee 泥炭腐殖酸的可能来源组成(%)  
Fig. 4 Possible origins of Pahokee peat humic acid

## References

- Watt B E, Malcolm R L, Hayes M H B, Clark N W E, Chipman J K. *Water Res.*, 1996, 32: 1502 ~ 1516
- Stenvenson F J. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*, 2<sup>nd</sup> [M]. New York: John Wiley & Sons, 1994: 1 ~ 25
- Fu Jiamo(傅家谟), Qin Kuangzong(秦匡宗). *Organic Geochemistry of Kerogen (干酪根地球化学)*. Guangzhou(广州): Guangdong Science and Technology Press(广东科技出版社), 1995: 297 ~ 364
- Clifford D J, Carson D M, McKinney D E, Bortiatynski J M, Hatcher P G. *Org. Geochem.*, 1995, 23: 169 ~ 175
- Hatcher P G, Clifford D J. *Org. Geochem.*, 1994, 21: 1081 ~ 1092
- Saiz-Jimenez C. *Environ. Sci. & Technol.*, 1994, 28: 1773 ~ 1780
- Sparks D L. *Methods of Soil Analysis*. Madison: Soil Sci. Soc. Am. Book Series, 1996: 1018 ~ 1020
- Bracewell J M, Robertson G W, Welch D I. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 1980, 2: 239 ~ 248
- Bracewell J M, Robertson G W, Williams B L. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 1980, 2: 53 ~ 62
- Chefetz B, Salloum M J, Deshmukh A P, Hatcher P G. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 2002, 66: 1159 ~ 1171
- de Meent D V, Brown S, Philp R P. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1980, 44: 999 ~ 1013
- Tegelaar E W, de Leeuw J W, Saiz-Jimenez C. *Sci. Total Environ.*, 1989, 81/82: 1 ~ 17
- Almendros G, Guadalix M E, Gonzalez-Vila F J, Martin F. *Org. Geochem.*, 1996, 24: 651 ~ 659
- Ambles A, Jambu P, Parlanti E, Joffre J, Riffe C. *European J. Soil. Sci.*, 1994, 45: 175 ~ 182
- Grasset L, Ambles A. *Org. Geochem.*, 1998, 29: 881 ~ 891
- Grasset L, Guignard C, Ambles A. *Org. Geochem.*, 2002, 33: 181 ~ 188
- Gobè V, Lemèe L, Ambles A. *Org. Geochem.*, 2000, 31: 409 ~ 419
- de Leeuw J W, Baas M. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 1993, 26: 175 ~ 184
- Saiz-Jimenez C, de Leeuw J W. *Org. Geochem.*, 1986, 10: 869 ~ 876

## Study on the Composition and Source Characteristics of Pahokee Peat Humic Acid by Pyrolytic Technique

Li Li<sup>1,2</sup>, Jia Wanglu<sup>2</sup>, Peng Ping'an<sup>2</sup>, Fu Jiamo<sup>2</sup>, Sheng Guoying<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>(Key Laboratory of Marine Geology, Ministry of Education, Tongji University, Shanghai 200092)

<sup>2</sup>(State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640)

**Abstract** Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometric method and with in situ methylation were used for the study of the origin and composition characteristics of Pahokee peat humic acid. The results showed that aromatic compounds were the major pyrolysates in both pyrolytic techniques; while free fatty acids and aliphatic compounds were the minor pyrolysates. Other pyrolysates including some N-containing and furan-structure compounds were also detected. These indicated that Pahokee peat humic acid was mainly originated from plants, microorganisms and other sources inputs were also contributed to the formation of Pahokee peat humic acid. These pyrolysates and their sources analysis will provide important information for the structural composition and formation history of the Pahokee peat humic acid, and improve our knowledge of the humic acid.

**Keywords** Humic acid, pyrolysis technique, structural composition, sources

(Received 8 November 2003; accepted 15 March 2004)

### 第八届全国发光分析和动力学分析学术研讨会 (第一轮通知)

由中国化学会主办,山西大学和山西省化学会联合承办的“第八届全国发光分析和动力学分析学术研讨会”,将于 2005 年 7 月 15 ~ 19 日在山西太原举行。

**会议主题:**发光分析与生命、健康和环境。

**征文范围:**会议将涉及发光分析和动力学分析理论、仪器和应用的各个方面,主要包括以下内容:

(1) 荧光分析,磷光光谱,生物发光,超微弱生物发光和电致发光,共振光散射技术,动力学分析新方法;(2) 发光材料和新发光试剂的合成及应用研究,卟啉及金属卟啉光化学与光物理;(3) 发光检测器,流动注射,色谱,高效毛细管电泳,芯片和微全分析等;(4) 发光标记,免疫分析,成像技术,单细胞分析与单分子检测;(5) 仪器技术与光学传感器;(6) 计算机技术及化学计量学在发光分析和动力学分析中的应用研究;(7) 以上各领域的综述性报告。

**征文要求:**论文摘要 A4 纸 1 版。请用中文 word 软件录入,版芯规格 245 mm × 165 mm。文题(三号黑体居中)、作者(四号仿宋居中)、作者单位(小四号宋体居中,含城市名称、邮编和 E-mail 地址,用逗号分开)、研究的意义与结果(五号宋体)、关键词和主要参考文献(自版芯左起)。图、表和照片的图注、表头一律用英文。稿件以 E-mail(附件)形式、并同时以常规邮件发送。

**截稿日期:**2005 年 3 月 30 日。来稿请附单位介绍信,注明论文联系人及电话、传真和电子信箱。注明“发光分析会议征文”。

2005 年 4 月 30 前发出第二轮通知,通知对论文的处理意见。为了便于检索,扩大会议交流的范围和加强学术影响,除了编非常规论文摘要集外,所有论文摘要将在中国化学会网页登载。

会议召开的具体时间和相关事宜,将在第二轮通知中公告。

地址:山西大学化学化工学院 山西省太原市坞城路 36 号 030006

会议征文联系人:王英特 博士 电话:0351-7010319 (O) 0351-7018842 (O) 电子信箱:wjjin@sxu.edu.cn