

高山森林土壤中有有机氮的 N K2edge XANES 分析*

庄舜尧¹ 王明光² 胡正义¹

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008) (2 国立台湾大学农业化学系, 中国台北 106)

N K2EDGE XANES ANALYSIS OF SOIL ORGANIC N FROM HIGH MOUNTAIN FORESTS

Zhuang Shunyao¹ Wang Mingkuang² Hu Zhengyi¹

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(2 Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, Taipei 106, China)

关键词 森林土壤; 有机氮; 同步辐射

中图分类号 S153 文献标识码 A

土壤中氮(N)素营养往往是陆地森林生长发育的限制因子, 土壤的供氮特性影响着森林生态的生产力、生态功能及生态结构^[1], 因此森林土壤 N 素研究始终受到高度的关注。然而, 许多因素控制和影响着森林土壤中 N 的循环及迁移, 包括气候、植被、地形环境及各种扰动因素^[2~5], 土壤中 N 的含量及形态则是最基本的要素。通常土壤中的 N 有 90% 以上是以有机形态存在^[6], 掌握土壤中有有机 N 的结构组成对于深入了解氮素的地球化学循环有重要意义。但是, 由于分析技术与手段的限制, 人们对于土壤中有有机 N 种类及其形成机制还并不完全清楚。

土壤中有有机 N 结构测定的困难在于: (1) 缺乏简单的构成单位, (2) 不同分子组成结构差异很大, (3) 分子结构的组合随机性^[7]。土壤有机 N 分析的传统湿式化学法(wet chemistry method)常采用热酸碱来分离鉴定各种 N 的成分, 由此可初步分离鉴定氨基化合物, 如酸不溶性 N, NH₃2N, 氨基酸 N, 氨基糖 N 及未知可水解态 N^[8]。Schulten 和 Schnitzer^[6]用水解2色谱法发现土壤中的未知态 N 主要是杂环态 N, 如嘧啶类(pyridines)与吡咯类(pyrroles)。但是, 由于在高温水解过程中原有的化学组成可能发生分解

及重组而改变。另外, 非破坏性的¹⁵N NMR 方法可以揭示土壤有机质中主要的胺态 N, 但该方法最大的问题是自然界中¹⁵N 丰度低使得 NMR 方法的灵敏度不够, 也正是这一原因 NMR 方法无法鉴别土壤中的杂环态 N^[7]。程励励和文启孝^[9]指出使用¹⁵N NMR 方法无法分辨占土壤有机氮 40% 的吡咯、吡啶或酰胺等杂环态氮。其他的非破坏性方法如 XPS (X-ray photoelectron spectroscopy) 已被用于石油、煤炭及海洋底泥中 N 种类的分析, 但该技术对不同形态 N 光谱分辨率不甚理想^[10]。随着同步辐射光源技术的提高及广泛应用, 采用 N 的 K2edge XANES (X-ray absorption near edge structure) 光谱法研究土壤中有有机 N 的组成与结构成为可能。已有研究认为 N 的 K2edge XANES 方法是鉴定有机分子中 N 种类的有效方法, 这是一种高选择性、灵敏性及非破坏性的方法, N 的 K2edge 吸收光谱可以很好表征不同 N 种类的/指纹0特征, 通过对光谱的处理, 可以对不同成分的 N 进行定量分析^[11, 12]。XANES 为原子 X 光主吸收边 50 eV 内的光谱, 其能量与强度由偶极电子跃迁的选律决定, 从而可以提供吸收原子的氧化态与几何位置、吸收体与配位体成键的信息^[13]。

目前采用 N 的 K2edge XANES 方法研究土壤中

* 中国科学院知识创新工程领域前沿项目(ISSASIP0601)资助

作者简介: 庄舜尧, 博士, 主要从事土壤化学及森林土壤研究。E-mail: syzhuang@issas.ac.cn

收稿日期: 2005- 12- 05; 收到修改稿日期: 2006- 04- 05

有机 N 的种类及含量还非常少, 因此, 本研究目的是通过采集台湾塔塔加高山地区二种主要森林土壤, 用 N K2edge XANES 光谱法比较分析土壤有机 N 及水溶性有机 N 的种类及差异, 以更好地了解不同植被下土壤 N 的循环及差异机制。

1 材料与方法

111 土壤样品

土壤样品采集自台湾中部塔塔地区铁杉(*Tsuga chinensis* var. *formosana*) 与云杉林(*Picea morrissonica*2 la)。该地区位于 23b28 N, 120b52 E, 海拔 2 600 m, 年均温 10.3 e , 年平均降水量 2500 mm, 为台湾长期生态研究试验区 (Long Term Ecological Research Site)。本研究在铁杉与云杉纯林中, 各选择三个相近高度的样点, 分别采集土壤有机物料层(O 层)及土壤矿质层(A 层), 其中铁杉的 O 层较厚, 为 10~ 30 cm, 而云杉的 O 层较薄, 通常小于 10 cm, A 层土壤的厚度都约为 10~ 20 cm。样品装入采样袋后, 放置于干冰保温箱中, 带回实验室。

新鲜土壤在低温解冻后, 过 4 mm 的筛, 备用。土壤可溶性有机 N 是将新鲜土壤以 1B5 水土比在低温(5 e) 下振荡 24 h, 然后离心, 过滤(0. 45 Lm), 最后冷冻干燥得到固体状的可溶性有机 N, 研磨过 300 目(0. 05 mm), 用于 N K2edge XANES 分析。另外风干的土壤用于常规分析, 而用于 XANES 分析的土壤也研磨过 300 目。

112 土壤理化性质分析

土壤 pH 采用电极法(水土比 1B1) 测定; 土壤总碳总氮由 CHN 分析仪(Carlo Erba analyzer) 测定; 土壤阳离子交换容量由 NH₄OAc 法测定, 火焰光度计测定 Na 与 K, 原子吸收光谱测定(Hitachi

180230) Ca 与 Mg^[14]; 土壤容重采用土钻法测定^[15]; 去除有机质后的土壤(< 2 mm) 在水体中用超声波分散, 然后再采用沉淀法分离粘粒、粉粒与砂粒^[16]; 土壤可溶性有机 N 采用过硫酸钾氧化法处理后比色测定^[17]。

113 同步辐射分析

同步辐射分析是在台湾新竹市国家同步辐射研究中心进行, 光束线为 BL11A1 Dragon Beamline, 光源能量为 1. 5 GeV, 工作电流强度为 100~ 200 mA, 该光束线能量范围为 10~ 1700 eV, 能量分辨率 (E/ \$E) 为 10 000, 光子强度为 10¹⁰ photon s^{- 1}。

样品在光谱分析前, 先进行 12 h 的真空低温 (65 e) 去水。样品的 X 光吸收是在 10^{- 9} torr (mm Hg) 的真空度下进行, 工作的能量范围为 395~ 420 eV^[12]。

2 结果与讨论

211 高山森林土壤基本性状分析

土壤 O 层和 A 层是森林植物吸收养分的最主要来源, 其养分含量及特性则会影响森林植物的生长发育, 影响着森林生态系统的初级生产力及其生态结构与功能^[1]。表 1 结果说明, 二种土壤的 pH 值均较低, 小于 4. 5。在铁杉土壤中, O 层土壤的总 C 及总 N 量均显著高于 A 层, 但在云杉土壤中不明显, 显然这种差异主要是由于植被及 A 层土壤性质不同所造成。由于 O 层土壤以有机质为主, 所以没有测定阳离子交换容量 (CEC) 及粒径分布。云杉 A 层土壤中 CEC 稍高于铁杉土壤, 而云杉土壤中大于 2 mm 的粗砾量显著高于铁杉土壤, 粘粒、粉粒及砂粒相对含量则比较接近, 二者质地划分均为砂质壤土。

表 1 土壤基本理化性质

样点	土层	pH (1B1)	总碳 (g kg ^{- 1})	总氮 (g kg ^{- 1})	阳离子交	粗砾	粘粒	粉粒	质地
					换容量 (mmol kg ^{- 1})	(> 2mm) (%)	(< 2mm) ----- (%)-----		
铁杉	O	3. 78? 0. 04	280. 1? 23. 6	17. 9? 1. 5	)	)	)	)	)
	A	3. 26? 0. 03	106. 5? 14. 2	7. 21? 1. 31	23. 9? 0. 1	20. 3? 4. 3	26. 7? 2. 5	19. 3? 2. 3	砂壤土
云杉	O	4. 36? 0. 03	81. 8? 13. 8	6. 05? 2. 31	)	)	)	)	)
	A	4. 13? 0. 08	69. 3? 16. 4	6. 16? 2. 41	32. 3? 0. 7	50. 1? 8. 1	29. 3? 3. 1	28. 7? 3. 2	砂壤土

可溶性有机 N 是土壤中有效及活性的 N 库, 在土壤 N 的循环过程中起重要作用^[18, 19]。云杉

土壤 O 层的有机质含量要低于铁杉,但相对来说可溶性 N 的差异并不很大(表 2)。在二种土壤中,O 层土壤的可溶性有机 N 含量均大于 A 层土壤约 10 余倍,可见 O 层对森林土壤有机 N 的来源起重要作用,其物理化学性质对土壤发生发育及生态环境同样有着重要影响。土壤可溶性有

机 N 占土壤总 N 的比率因不同土壤及环境而有很大的差异,本研究中发现云杉土壤中 O 层的可溶性有机 N 占总 N 的比率显著高于铁杉,而 A 层中则不然,说明植被种类对土壤有机 N 来源有很大的影响,而有机 N 在土壤中的转化则与土壤本身的理化性质有极大的关系。

表 2 土壤中可溶性有机 N 及一些相关参数

样点	土层	含水量 (%)	碳氮比 C/N	可溶性有机氮 (mg kg ⁻¹)	可溶性有机氮占土壤总氮的 百分比 (%)
铁杉	O	61.5? 1.3	15.6	450.1? 12.2	2.51
	A	57.5? 2.1	14.8	39.1? 5.7	0.54
云杉	O	44.4? 2.1	13.5	328.3? 18.2	5.43
	A	35.1? 1.4	11.2	21.0? 3.4	0.34

212 高山森林土壤 N K2edge XANE 分析

图 1 给出了铁杉与云杉 O 层及 A 层土壤的 N K2edge XANES 光谱。在光谱能量 398~ 405 eV 之间为 N 原子 K 层 P* 电子激发态的特征吸收范围,而 406 eV 以上的吸收光谱表征的是 R* 电子激发态,不同有机 N 的指纹特征吸收范围就在 398~ 405 eV 之间^[11]。图 1 结果显示,铁杉与云杉 O 及 A 层土壤在特征区间没有显著的吸收峰,

仅存在小的杂乱的峰。但相对来说,O 层土壤中吸收峰要比 A 层土壤显著,但也难以区分不同种类的有机 N 成分。同时,也可以发现,铁杉与云杉本体土壤的 XANES 光谱并没有明显的差异。说明目前采用 N K2edge XANES 光谱法来直接鉴定土壤中有机 N 的种类及相对含量还有困难,但是随着同步辐射应用技术的提高,这种困难将得到克服。

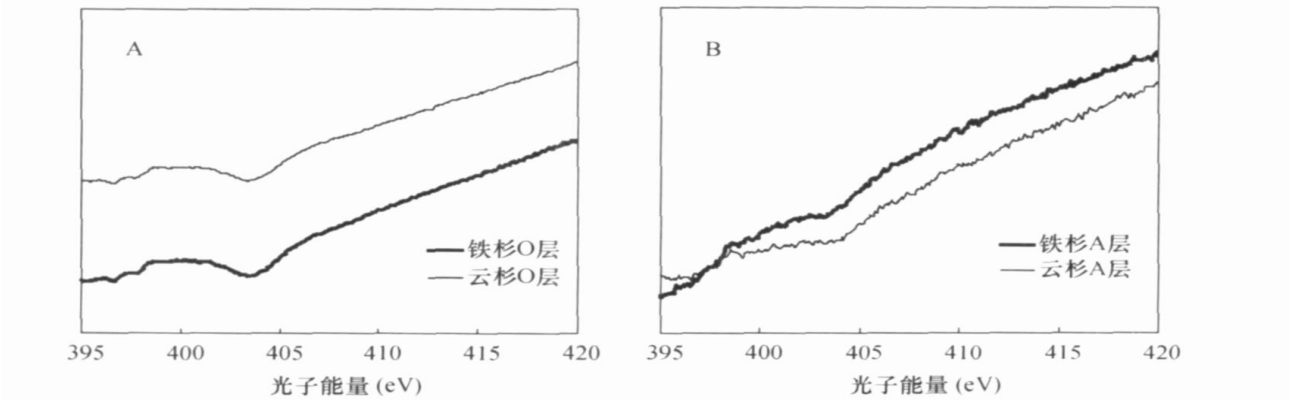


图 1 铁杉与云杉 O 层(A)及 A 层(B)土壤的 N K2edge XANES 光谱

有机 N 含量低将影响光谱分辨率,本研究中土壤样本的含 N 量尽管高达 2%,但 XANES 光谱讯号还是难以用于有机 N 种类及相对含量的分析。采用酸碱分离的土壤有机质可以很好分析不同的有机 N 成分^[12],但这种化学作用显然会破坏原有土壤有机 N 的组成及结构,从而难以反映土壤真实的有机 N 状况。因为土壤中 N 的转化与可溶性有机 N 的含量及结构直接相关,通过分

析土壤可溶性有机 N 能够更好地了解 N 的地球化学循环。图 2 给出了铁杉与云杉 O 层土壤中可溶性有机 N 的 K2edge XANES 光谱,可以发现二者在指纹区间存在明显的波峰,同时也可以看到铁杉与云杉的可溶性有机 N 在结构组成上存在明显的差异,这种差异反映了二种植被分解后所释放有机 N 的不同,进而影响有机 N 在土壤中的转化及其对植物的有效性。

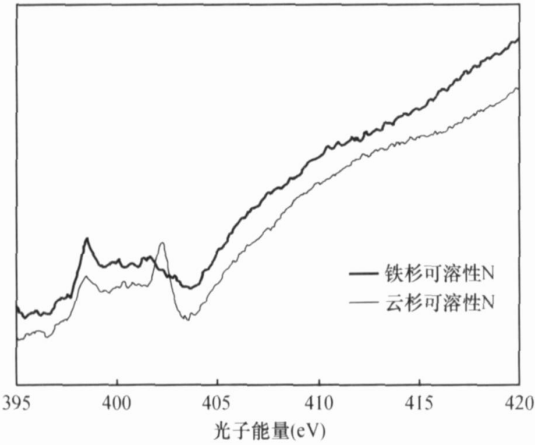


图2 铁杉与云杉 O 层土壤水可溶性 N 的 K2edge XANES 光谱

XANES 光谱中不同的特征波峰代表了相应的有机 N 种类, 已有的研究结果总结了主要几种有机 N

表 3 几种主要有机 N 化合物最大 P* 跃迁的特征能量值¹⁾

有机 N 类型	峰值能量(eV) (? 0. 2)	化合物名称
嘧啶类	399. 8	2, 6 对嘧啶, 6 羟基喹啉, 6 羧酸对苯二酚, 吡啶, 菲啶, 4, 7 邻二氮杂菲
嘧啶衍生物	401. 4	2, 5 二羧酸嘧啶, 嘧啶 5 磷酸
吡啶酮类	401. 9	4, 6 二羟基嘧啶, 6 (2, 2 联苯 2 乙烷基)22 (1H)2 吡咯酮, 2 羟基吡咯酮, 2 羟基喹啉, 2 甲基 4 十五烷基 22 (1H)2 喹啉
吡咯类	403. 2	卟啉, 多聚(2 乙酰卟啉), 四羟基卟啉, 2 苯基吡啶
胺/ 肽类	402. 5	白蛋白, N 乙酰 D 氨基葡萄糖, 乙氨酸酐, 乙酰氨基香酸
硝基化合物	404. 8	4 硝基苯乙酸

1) 引自文献[12]

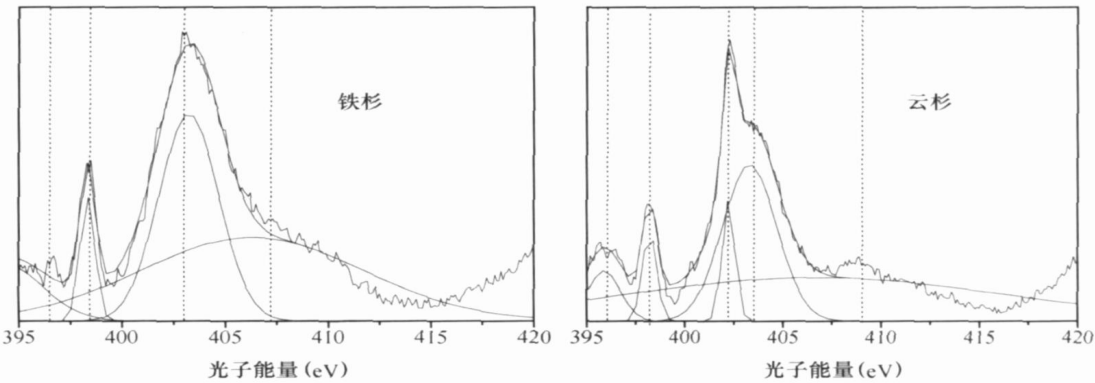


图3 铁杉与云杉 O 层土壤中可溶性有机 N 种类及含量的 XANES 解译

3 结 论

高山森林土壤中有有机 N 主要来源于有机物料层,其所分解释放的有机 N 结构与组成因植被种类而不同,并影响 N 在土壤中转转化循环,进而影响森林生态系统之结构与功能。以往普通的分析方法难以深入揭示土壤中复杂有机 N 的结构与组成,通过 NK2edge XANES 方法可以相对清楚地得到了解。结果表明,本体土壤样品因其低的含 N 量导致 XANES 光谱分辨率过低,难以直接应用,但是对于可溶性 N 却能很好辨识,说明 N K2edge XANES 光谱法可以为深入了解土壤中有有机 N 之结构与组成提供新的途径。

参 考 文 献

[1] Vitousek P M, Howarth R W. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? *Biogeochem.*, 1991, 13: 87~ 115

[2] Kalbitz K, Solinger S, Park J H, et al. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: A review. *Soil Sci.*, 2000, 165: 277~ 304

[3] Knoepp J D, Swank W T. Using soil temperature and moisture to predict forest soil nitrogen mineralization. *Biol. Fert. Soils*, 2002, 36: 177~ 182

[4] Kristensen H L, McCarty G W, Meisinger J I. Effects of soil structure disturbance on mineralization of organic soil nitrogen. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 2000, 64: 371~ 378

[5] Giardina C P, Ryan M G, Hubbard R M, et al. Tree species and soil texture controls on carbon and nitrogen mineralization rates. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 2001, 65: 72~ 79

[6] Schulten H R, Schnitzer M. The chemistry of soil organic nitrogen: A review. *Biol. Fertil. Soils*, 1998, 26: 1~ 15

[7] Vairavamurthy M A, Maletic D, Wang S, et al. Characterization of sulfur-containing functional groups in sedimentary humic substances

by X2ray absorption near edge structure spectroscopy. *Energy Fuels*, 1997, 11: 546~ 553

[8] Schulten H R, Sorensen L, Schnitzer M. The structure of / un2 known0 soil nitrogen investigated by analytical pyrolysis. *Biol. Fert. Soils*, 1997, 24: 249~ 254

[9] 程励励, 文启孝. 应用¹⁵N 固体核磁共振技术研究苯酐蛋白质聚合物的氮素形态. *土壤*, 1997, 29(3): 168

[10] Wilhelms A, Patience R L, Larter S, et al. Nitrogen functionality distributions in asphaltenes isolated from several oils from different source rock types. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1992, 56: 3745~ 3750

[11] Mitra Kirtley S, Mullines O C, Branthaver J F, et al. Determination of the nitrogen chemical structures in petroleum asphaltenes using XANES spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115: 252~ 258

[12] Vairavamurthy A, Wang S. Organic nitrogen in geomacromolecules: Insights on speciation and transformation with K2edge XANES spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 2002, 36: 3050~ 3056

[13] 彭明生, 李迪恩, 林冰, 等. 同步辐射 X 射线吸收谱及其在矿物学、地球化学中的应用. *矿物岩石地球化学通报*, 1999, 18(1): 33~ 37

[14] Gillman G P. A proposed method for the measurement of exchange properties of highly weathered soils. *Aust. J. Soil Res.*, 1979, 17: 129~ 139

[15] Blake G R, Hartge K H. Bulk density. In: Klute A. ed. *Method of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogy Methods*. 2nd Ed. Agronomy Monograph 9[#], Soil Science Society of America. Madison, WI, 1986, 363~ 367

[16] Jackson M L. *Soil Chemical Analysis, Advanced Course*. 2nd Ed. University of Wisconsin, Madison, WI. 1979. 654~ 659

[17] Doyle A, Weintraub M N, Schimel J P. Persulfate digestion and simultaneous colorimetric analysis of carbon and nitrogen in soil extracts. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 2004, 68: 669~ 676

[18] Murphy D V, MacDonald A J, Stockdale E A, et al. Soluble organic nitrogen in agricultural soils. *Biol. Fertil. Soils*, 2000, 30: 374~ 387

[19] Zhong Z, Makeeschin F. Soluble organic nitrogen in temperate forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, 2003, 35: 333~ 338