# 几种胡敏酸还原容量的表征与比较*

江　韬[1]　魏世强[1†]　李雪梅[1]　李梦婕[1]　彭国栋[1]　刘双营[2]　罗　畅[1]

(1 西南大学资源环境学院,重庆市农业资源与环境研究重点实验室,三峡库区农业面源污染控制工程技术研究中心,重庆　400716)
(2 四川省绵阳市环境监测站,四川绵阳　621000)

**摘　要**　还原容量(RC)是衡量胡敏酸(HA)还原特性的重要指标。采用饱和 $H_2$ 振荡法和土壤溶液法对 HA 分别进行化学和微生物预处理,分别以硝酸铁($Fe(NO_3)_3$)、柠檬酸铁(FeCit)作电子受体,测定了三种 HA(上海巨枫 SH,天津光复 TJ,缙云山 JY)的本底还原容量(NRC),化学还原容量(CRC),微生物还原容量(MRC)。对不同电子受体条件下、不同初始状态和不同种类的胡敏酸的 RC 进行比较。结果表明:三种 HA 中,以缙云山土壤提取的胡敏酸 RC 值最高,还原容量最大,分别为 20.21 ± 0.26 $mmol_c\ mol^{-1}$ C (NRC)、26.02 ± 1.12 $mmol_c\ mol^{-1}$ C (CRC)和 29.29 ± 1.56 $mmol_c\ mol^{-1}$ C (MRC)。两种电子受体中,采用 $Fe(NO_3)_3$ 得到的 RC 明显高于在 FeCit 条件下。另外,溶液态 HA 的 RC 明显高于固态。由此证明胡敏酸还原容量是一个相对量;其容量大小不仅和自身结构、性质有关,也受到 HA 初始形态和不同电子受体的影响。对比三个还原容量指标发现 CRC 和 MRC 显著大于 NRC,而 CRC 和 MRC 之间无明确大小关系,因此用 CRC 来表征 HA 被微生物还原后的还原容量(MRC)还需作进一步验证。

**关键词**　胡敏酸;腐殖质;电子受体;还原容量;铁
**中图分类号**　S156.2;X171.3　　**文献标识码**　A

胡敏酸(Humic acid, HA)作为腐殖酸中最重要的组成部分,广泛存在于自然界中。它不仅通过络合、吸附作用影响污染物迁移和转化[1-6],而且其氧化还原特性也具有重要的环境学意义[7-11]。已有文献报道,HA 不仅能作为电子提供体[12-14],也能作为电子传递中间体[15-17]还原重金属[7-8,11,18]、放射性元素[13,19]及有机污染物[14]等。近年来,HA 氧化/还原特性及其在污染物生物地球化学循环中的作用日益受到关注[7-8,20]。HA 还原能力的主要来源除其所含的醌基和半醌基外[7,16,21-24],还有酚基、羧基和氨基[25];同时,HA 的芳香性结构[26]和结合态 Fe 成分[7-8,27]也会对自身还原特性产生影响。除此之外,外源电子供体的存在以及不同电子受体都会对 HA 的还原能力产生显著影响。还原容量(Reduction capacity, RC)是衡量 HA 还原能力的重要指标[9,28-30],通过对 RC 的测定与表征,可以了解 HA 在环境污染化学中所扮演的角色。

由于 HA 是典型的非均质性化合物,其结构和性质随来源不同而各异,对电子受体的还原能力也存在明显差异,因此 RC 各不相同。已有一些研究开展了特定条件下 HA 的 RC 测定工作,但对不同电子受体、不同胡敏酸初始状态、不同种类胡敏酸 RC 的比较研究还鲜有报道;同时能否利用测定的 RC 值客观评价 HA 对污染物的还原能力尚缺乏科学基础。为此,本文选取了两种电子受体,同步测定了三种胡敏酸的 RC,并比较了固、液态对 HA 还原容量的影响,同时考察了不同电子受体条件下 RC 变化,为科学表征 HA 的氧化还原特性、揭示腐殖酸在生态环境中的作用和意义提供科学依据。

* 国家自然科学基金项目(40971147/D010503)、西南大学研究生科技创新基金项目(ky2010013)和中央高校基本科研业务费专项资金项目(XDJK2009C053)资助

† 通讯作者,魏世强,E-mail:sqwei@swu.edu.cn
作者简介:江　韬(1984—),男,四川安岳人,博士研究生,主要从事农业环境保护、污染控制技术研究。E-mail:Jiangtower666@163.com
收稿日期:2011-08-29;收到修改稿日期:2012-01-16

# 1 材料与方法

## 1.1 供试胡敏酸

腐殖土(JY)采集自缙云山常绿阔叶林下(0~15cm 土层),碾磨过 1 mm 筛后,参照国际腐殖质协会(IHSS)推荐方法[31](碱溶酸沉淀法)获得胡敏酸粗样后,与商购的两种腐殖酸(上海巨枫化学科技有限公司 SH、天津光复精细化工研究所 TJ)一起进行纯化。纯化方法采用碱溶酸沉淀法获得胡敏酸后,采用纤维素半透膜透析法进行纯化,60℃减压浓缩后,真空干燥获得胡敏酸固体。采用文献[9,10]方法制备胡敏酸溶液贮备液(溶解性有机碳(DOC) C100 mg $L^{-1}$):固体 HA 加入到去离子水中,用 0.1 mol $L^{-1}$ NaOH 调整 pH(8.0±0.2)使 HA 溶解后,用 0.1 mol $L^{-1}$ HCl 调整 pH 至 6.0±0.1,再用 0.45 μm 纤维素膜过滤,稀释至 C 100 mg $L^{-1}$ 备用。后续试验所需胡敏酸浓度通过稀释贮备液获得。按照文献[32]方法测定供试固态胡敏酸相关基本性质(表 1)。

**表 1 供试胡敏酸的基本性质**

**Table 1** Basic properties of the HA samples tested

| 胡敏酸编号 Humic acid No. | 碳含量 Carbon content (%) | Fe (μg $g^{-1}$C) | 酚羟基 Phenolic hydroxyl group (C mmol $g^{-1}$) | 羧基 Carboxyl group (C mmol $g^{-1}$) | 醌基 Quinone group (C meq $g^{-1}$) | $E_4/E_6$ | 灰分 Ash (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SH | 59.93 | 5.32±0.91 | 4.91 | 3.23 | 0.62 | 5.08±0.22 | 1.32 |
| TJ | 51.89 | 2.06±0.35 | 3.09 | 3.62 | 0.51 | 5.31±0.19 | 1.26 |
| JY | 66.06 | 3.31±0.06 | 6.31 | 6.15 | 1.06 | 2.92±0.62 | 0.76 |

## 1.2 HA 还原容量的分类

参照文献[8],将 HA 的 RC 分为三种:本底还原容量(Native reducing capacity, NRC)、化学还原容量(Chemical reducing capacity, CRC)和微生物还原容量(Microbial reducing capacity, MRC),分别表征 HA 的现状还原容量(未经任何前处理)、化学还原容量(预先经 $H_2$ 还原处理)和微生物参与下的还原容量(经过土壤溶液培养处理)。

## 1.3 试验步骤

**1.3.1 预处理还原 HA** 在充 $N_2$ 的无氧环境中对 HA 进行预处理。采用饱和 $H_2$ 振荡法[8,16],对 HA 进行化学还原:将溶液 HA 按比例 C30 mg $L^{-1}$ 放置于 100 ml PVC 离心管中,调整 pH 为 7.0±0.1,同时添加钯炭(活性炭中含有 Pt 5%) 100 mg $L^{-1}$ 做催化剂,通入 $H_2/N_2$(体积比为 1/19)后密封离心管,25℃下遮光振荡(160 r $min^{-1}$)72 h 后,通入 $N_2$ 排出过量 $H_2$,样品备用。采用土壤溶液法[8],对 HA 进行微生物还原:按照 20 g $L^{-1}$(紫色土质量/纯水体积)获得土壤悬浊液(pH = 7.0 ± 0.1),并添加 10 mmol $L^{-1}$ 醋酸钠作为碳源,另不加醋酸钠的处理作为空白。$N_2$ 中培养 24 h 后[33],用 11 μm 纤维素滤膜过滤[34]获得滤液;然后取 10 ml 滤液入100 ml 离心管中,分别添加固、液态 HA(添加量为 C30 mg $L^{-1}$)后,密封振荡(pH = 7.0±0.1,160 r $min^{-1}$,25℃) 72 h 后,备用。

为研究固态和溶液态 HA 的还原能力差异,根据表 1 中各 HA 的碳含量,另用固态 HA 配置悬浊液:具体方法为用电子天平(万分之一精确度)分别称取 3 种胡敏酸 SH2.5 029 g、TJ2.8 907 g、JY2.2 707 g 于 100 ml PVC 离心管中,再各加入 50 ml 去离子水,使得悬浊液体系中总碳含量为 C 30 mg $L^{-1}$。其余 HA 预处理方式同溶液 HA。

同时,不经任何预处理的固态和溶液态 HA 为对照,备用测定 NRC。

**1.3.2 还原容量的测定** 同样在无氧环境中采用 $Fe^{3+}$ 还原法[7-9]测定 RC 值。在本文 1.3.1 节方法所制备好的 HA 样品中,分别加入 10 ml 浓度为 2 mmol $L^{-1}$ 的柠檬酸铁(FeCit),硝酸铁($Fe(NO_3)_3$),混合于 100 ml 带可封闭式活塞的 PVC 离心管中,遮光振荡 60 h 后,4 000 r $min^{-1}$ 离心后,采用注射针头取上清液测定 $Fe^{2+}$。试验以只加入 FeCit、$Fe(NO_3)_3$ 处理为空白对照。$Fe^{2+}$ 的测定采用邻啡罗啉比色法[35]。RC 根据还原产生 $Fe^{2+}$ 需要的电子量计算(生成 1 mol $Fe^{2+}$ 需要 1 mol 电子),单位为 $mmol_c$ $mol^{-1}$ C,表示单位摩尔碳的 HA 所提供的电子量。

### 1.4　数据处理

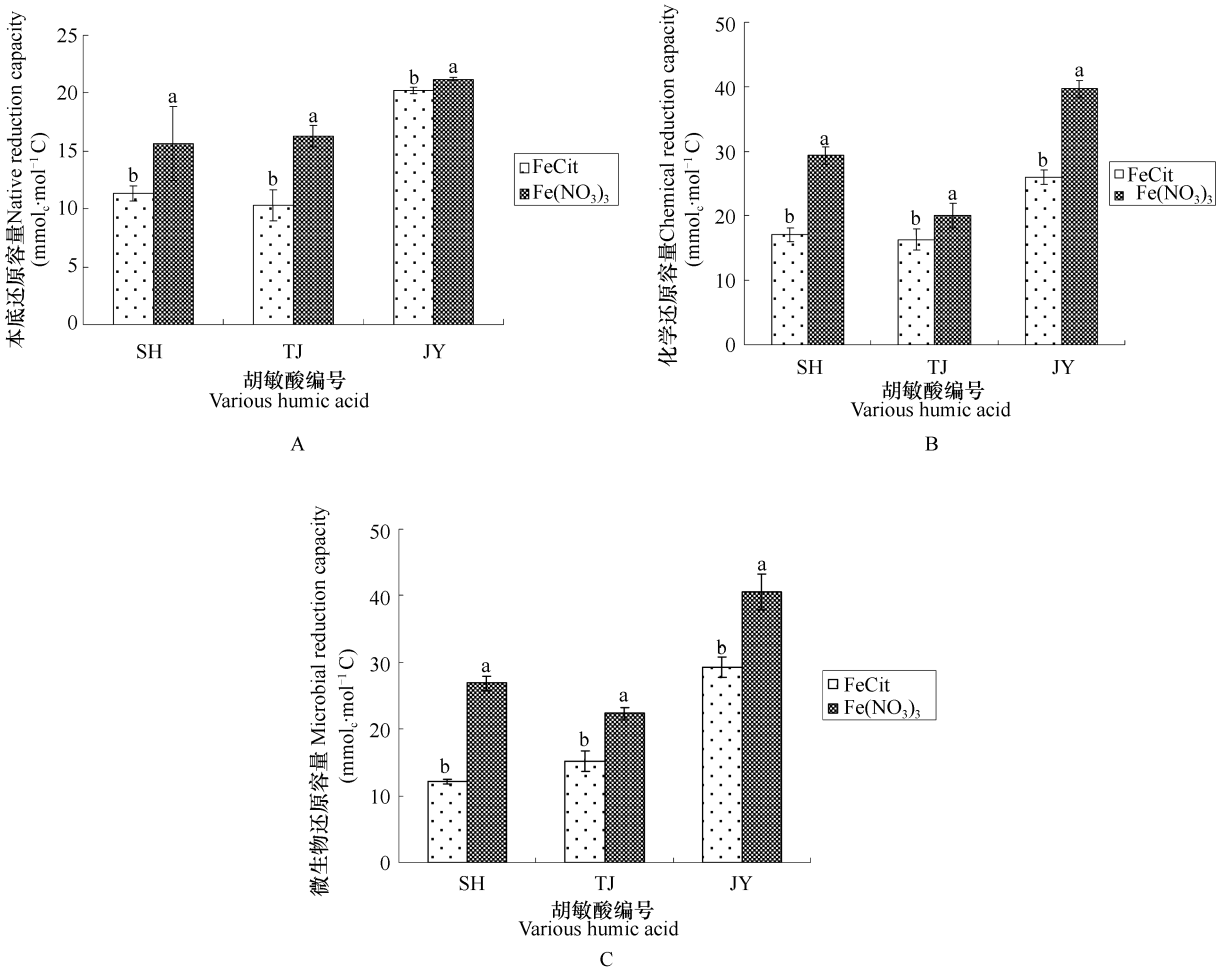
试验中所有处理均设三个重复。试验数据在剔除异常值后，采用 SPSS12.0 和 Excel2003 进行 S-N-K方差分析。

## 2　结果与讨论

### 2.1　不同电子受体条件下胡敏酸的还原容量比较

试验采用了两种 $Fe^{3+}$ 化合物（FeCit 和 $Fe(NO_3)_3$），发现在相同条件下，电子受体不同，导致 HA 的还原容量大小也有明显差异（$p<0.05$）（图 1）。对于供试三种胡敏酸，FeCit 条件下测得三种还原指标（NRC，CRC，MRC）均小于以 $Fe(NO_3)_3$ 作为电子受体条件下测得的值，表明不同电子受体对 HA 还原容量影响显著，这与文献[8-9]的报道的结果一致。

采用 FeCit 和 $Fe(NO_3)_3$ 所获得的 RC 差异，可能是由于两者氧化还原电位差异，导致接受电子的能力不同[8-9]。同时，有文献还认为腐殖质氧化还原特性主要通过螯合分子的内部电子传递体现[36-37]。当螯合作用形成的共用电子对较为稳定时，电子无法明显被金属离子一方俘获从而还原-螯合和还原作用是即竞争又促进的两个过程[11,38]：当螯合作用较强时，还原现象则减弱；而还原作用的产生却又得益于螯合作用中形成的共用电子对。在 HA 和 $Fe^{3+}$ 发生作用时，受配位体 $Cit^{3-}$ 和伴随离子 $NO_3^-$ 的影响，$Fe^{3+}$ 与 HA 结合的紧密程度，以及 $Fe^{3+}$ 与 HA 中还原基团的亲和性均会影响 HA 对 $Fe^{3+}$ 的还原[9]。




注：同一胡敏酸中，不同小写字母均为S-N-K方差分析结果差异性显著，$p<0.05$。A-本底还原容量；B-化学还原容量；C-微生物还原容量 Note: Means followed by the same letter(s) within the same HA compartment are not significantly different at α=0.05 by S-N-K test. A-NRC；B-CRC；C-MRC

图 1　不同电子受体条件下胡敏酸的还原容量

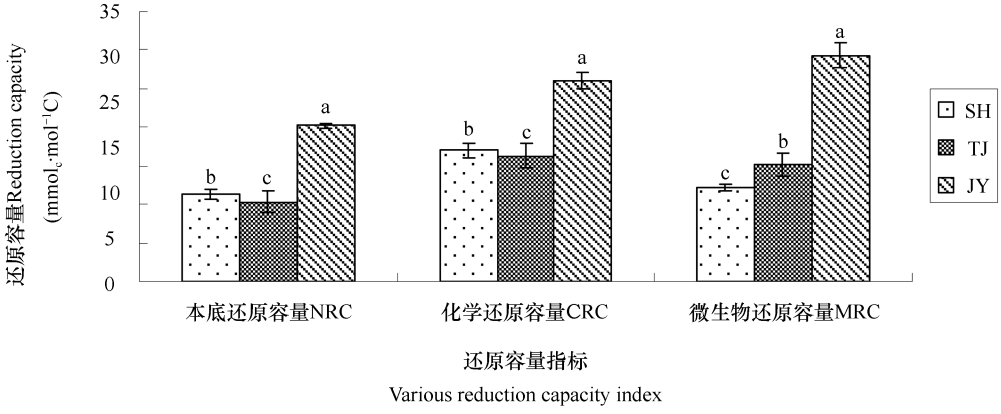
Fig. 1　HA reduction capacity as affected by difference in electron acceptor

同时,HA 与金属离子作用后空间结构的变化也可能导致 HA 还原 FeCit 较 $Fe(NO_3)_3$ 的 RC 小。“两相反应机理”[39-40]认为,电子接受体除和 HA 表面功能基团接触外,还会扩散进入 HA 内部与结合位点发生反应,使得 HA 结构内部的排斥减小,HA-Fe 表观稳定系数降低,其结果一方面使得内部的金属离子螯合强度增加,同时也增加了外部金属离子进入 HA 内部与还原基团发生作用的机会[40]。又因为柠檬酸基团($Cit^{3-}$)与 $Fe^{3+}$ 的结合紧密程度远远大于 $NO_3^-$[9],从而减少了 FeCit 所提供的 $Fe^{3+}$ 与 HA 内部还原基团发生接触的机会,导致最终测定的 RC 值偏低。

该试验说明采用 $Fe^{3+}$ 还原法获得 HA 的 RC 值,受 $Fe^{3+}$ 化合物种类的影响,由此得出的还原容量只是相对量,而非绝对量。此外,如果采用 $Fe^{3+}$ 还原法来评估 HA 对其他污染物(例如重金属、有机污染物等)还原[14-15,18-19],只能反映不同胡敏酸的相对还原能力大小,而不能反映 HA 对污染物的实际还原容量。因此建议直接采用污染物做电子受体来评价 HA 对于该污染物的实际还原能力。由于胡敏酸和金属氧化还原-螯合反应的耦合作用机理十分复杂,针对该反应过程中还原和螯合作用的相互关系,值得进一步深入研究。

## 2.2 不同胡敏酸还原能力的比较

由于 HA 是典型的非均质性化合物,其结构和性质随来源不同而各异,导致还原容量不同(图 2)。总体而言,三种 HA 的还原容量差异明显($p<0.05$),以 JY 的还原容量最大,其 NRC、CRC 和 MRC 值分别为 20.21 ± 0.26 $mmol_c\ mol^{-1}C$、26.02 ± 1.12 $mmol_c\ mol^{-1}C$ 和 29.29 ± 1.56 $mmol_c\ mol^{-1}C$。这可能和 HA 的结构和功能基团有关。由表 1 可见,HA 中的酚羟基、羧基和醌基和芳香化程度($E_4/E_6$ 越小,芳香化程度越高)均以 JY 最高,相应还原能力最强,SH 其次,TJ 最弱。这与已有文献报道一致,进一步证实了 HA 的还原容量与酚羟基、羧基和醌基含量正向相关,而与其芳香化程度负相关[26]。




注:同一还原容量指标中,不同小写字母均为S-N-K方差分析结果差异性显著,$p<0.05$。以FeCit为电子受体 Note: Means followed by the same lowcase letter(s) within the same RC index compartment are not significantly different at α =0.05 by S-N-K test. FeCit is the electron acceptor designated

图 2 不同胡敏酸还原容量

Fig. 2 Comparison between different Has in reduction capacity

而胡敏酸 TJ 只有 MRC 值高于 SH12.56%,而 NRC 和 CRC 均小于 SH。这种差异可能与化学预处理、微生物对 HA 的预还原处理有关。由于 HA 结构的复杂性,其结构中能接受外源电子的氧化还原基团对外源电子供体的敏感程度不一致,可能会导致测定的 HA 还原容量(CRC 和 MRC 值)有所差异。

同时,已有报道证实胡敏酸中 Fe 成分也会影响其氧化还原特性[8-9,25],但含量较低时,其电子传递作用可以忽略不计[7]。本试验中,供试 HA(SH,TJ 及 JY)自身的 Fe 含量分别为 5.32 ± 0.91 $\mu g\ g^{-1}C$,2.06 ± 0.35 $\mu g\ g^{-1}C$ 和 3.31 ± 0.06 $\mu g\ g^{-1}C$,并没有观察到 Fe 对 HA 还原容量的显著影响。因此认为,本试验中,参与还原反应过程的主要是 HA 结构中的有机基团[16,21,25-26]。

## 2.3 固态和溶液态胡敏酸还原能力的比较

由表 2 可知,两种初始状态(固态和溶液态)下的 HA 还原容量明显不同:当 HA 由固态变为溶液

态时，RC 均显著增大($p<0.05$)。特别是 TJ 的 CRC，在固态时其值为 5.02 ± 1.16 $mmol_c\ mol^{-1}$ C，而在溶液态时 CRC 为 16.30 ± 1.60 $mmol_c\ mol^{-1}$ C，增幅超过 220%。从增幅上看，溶液态明显有利于 HA 对 $Fe^{3+}$ 的还原；与固态 HA 相比，其还原容量增大。

造成两种状态下 RC 差异的原因，可能与两种状态下 HA 分子空间结构有关。尽管采用固态 HA 配置的悬浊液总碳量达到 C 30 mg $L^{-1}$，但反应体系中 DOC 含量仍然低于该值，分别为 C 7.96 mg $L^{-1}$ (SH)，6.41 mg $L^{-1}$ (TJ) 和 11.69 mg $L^{-1}$ (JY)。由此可以间接说明固态时 HA 结构聚缩，在纯水体系中，大部分分子链依然缩合没有完全展开，使得 HA 内部还原基团无法和金属离子相接触；而当 HA 为溶液态时，结构较之更为舒展，还原性活性基团暴露充分，因而更有利于其对金属离子的还原作用。

**表 2　固态和溶液态胡敏酸的还原能力**

**Table 2**　Comparison between solid and liquid Has in reduction capacity ($mmol_c\ mol^{-1}$C)

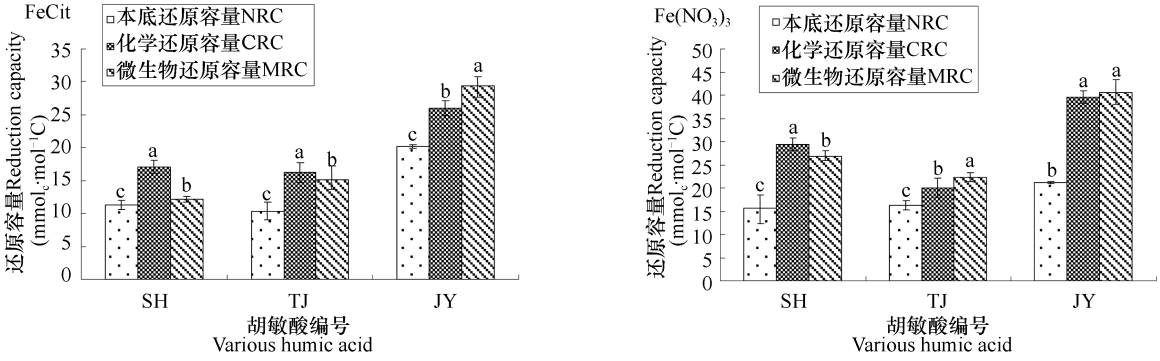
| 还原容量指标 Reduction capacitiy index | 赋存形态 Various status | 胡敏酸 Humic acid | | |
|---|---|---|---|---|
| | | SH | TJ | JY |
| NRC | 固态 Soild | 6.23 ± 0.20 b | 4.56 ± 1.33 b | 10.01 ± 0.02 b |
| | 溶液态 Aquesou solution | 11.32 ± 0.67 a | 10.32 ± 1.33 a | 20.21 ± 0.26 a |
| | 增加率 Increasing rate (%) | 81.70 | 126.32 | 101.90 |
| CRC | 固态 Soild | 9.21 ± 0.65 b | 5.02 ± 1.16 b | 13.26 ± 0.15 b |
| | 溶液态 Aquesou solution | 17.03 ± 1.00 a | 16.30 ± 1.60 a | 26.02 ± 1.12 a |
| | 增加率 Increasing rate (%) | 84.91 | 224.70 | 96.23 |
| MRC | 固态 Soild | 7.15 ± 0.20 b | 6.93 ± 0.89 b | 15.29 ± 2.12 b |
| | 溶液态 Aquesou solution | 12.12 ± 0.41 a | 15.16 ± 1.50 a | 29.29 ± 1.56 a |
| | 增加率 Increasing rate (%) | 70.22 | 118.76 | 91.56 |

注：同一还原容量指标中，每列不同小写字母均为 S-N-K 方差分析结果差异性显著，$p<0.05$。以 FeCit 为电子受体；ND 表示未测出。增加率 = ($RC_{溶液态}$-$RC_{固态}$) × 100/$RC_{固态}$　Note: In the same category of RC index, means followed by the same lowcase letter(s) within the same column are not significantly different at α = 0.05 by S-N-K test. FeCit is the designated electron acceptor. ND = Non Detected. Increasing rate = ($RC_{solution}$ − $RC_{solid}$) × 100/$RC_{solid}$

## 2.4　三种还原容量指标的比较

当存在外源化学物质或微生物电子供体时，胡敏酸的还原能力增强(图 3)，CRC 和 MRC 均明显大于 NRC，这与已有研究结论一致[8,16]。但 CRC 和 MRC 之间的大小关系较为复杂。

本试验中大部分 MRC 值明显大于 CRC，仅有部分无明显差异，少数 MRC 甚至小于 CRC(图 3，$p<0.05$)；而 Peretyazhko 和 Sposito[8] 通过 HA 还原




注：同一HA中，不同小写字母均为S-N-K方差分析结果差异性显著，$p<0.05$。A-在FeCit条件下；B-在$Fe(NO_3)_3$条件下
Note: Means followed by the same lowcase letter(s) within the same HA compartment are not significantly different at α=0.05 by S-N-K test. A- FeCit Condition; B- $Fe(NO_3)_3$ Condition

图 3　三种还原容量指标

Fig. 3　Three reduction capacity indexes of HA

FeCit 得到三种 RC 值,认为 CRC 和 MRC 并无明显差异,可以用 CRC 值来表征胡敏酸经过微生物还原后的还原容量。这种结论上的差别,可能和两种电子受体(FeCit 和 $Fe(NO_3)_3$)影响有关。此外,当外源化学电子供体(图 4)或微生物和 HA 同时存在时(图 5),HA 实际上已经从严格意义上的电子供体(HA 直接提供自身电子)变为了电子传递体(Electron mediator),由于不同来源 HA 自身结构差异,导致其 HA 接受外源电子的敏感程度不一致,因此,当 HA 被预先还原后,再与目标电子供体相遇时,其传递电子的能力大小也不同。同时,外源电子供体还原 HA,会导致 HA 结构发生变化,从而改变 HA 和金属离子的结合紧密程度[41],而这种改变的差异性也可能会影响 HA 还原容量。

因此,已有研究观点[8],即通过 CRC 值来预测 HA 在真实自然环境中(例如缺氧土层,包括消落带、底泥等)被微生物还原后的还原容量(MRC)的观点,还有待进一步研究。

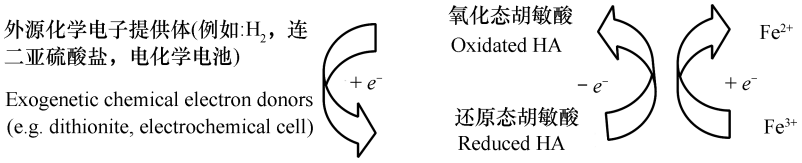



图 4 化学预处理胡敏酸后测定还原容量机理示意图

Fig. 4 Sketch of the mechanism for determination of HA reduction capacity after chemical pretreatment

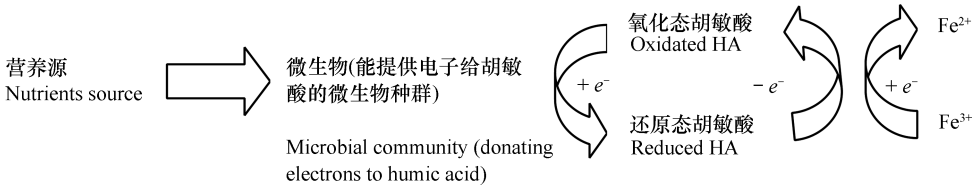



图 5 微生物预处理胡敏酸后测定还原容量机理示意图

Fig. 5 Sketch of the mechanism for determination of HA reduction capacity after microbial pretreatment

## 3 结 论

1) 电子受体对 HA 的还原能力影响明显。同种 HA 条件下,FeCit 条件下测得的 RC 值明显高于在 $Fe(NO_3)_3$ 下。除了电子受体自身的氧化还原性质影响外,HA 和电子受体的螯合-还原的耦合效应也是重要原因。三种 HA 中,以 JY 还原容量最大,三个还原容量指标(NRC、CRC 和 MRC)均大于其他两种胡敏酸。初始条件为溶液时,HA 的还原容量明显高于在固态时,三个 RC 指标均有所明显提升。

2) 三个还原容量指标均可定性表征 HA 还原特性。CRC 和 MRC 显著大于 NRC,说明 HA 可以作为电子传递中间体,通过获得外界电子来间接提高自身还原能力。但受 HA 接受和传递电子能力的差异性,CRC 和 MRC 之间无明确大小关系,因此 CRC 并不能完全代表在微生物还原条件下 HA 的真实还原能力(MRC),这与以往研究结论略有区别。

## 参 考 文 献

[1] Pandey A K, Pandey S D, Misra V. Stability constants of metal-humic acid complexes and its role in environmental detoxification. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2000, 47(2): 195—200

[2] 魏世强, 李光林, Österberg R, 等. 腐殖酸-金属离子反应动力学特征与稳态指标的探讨. 土壤学报, 2003, 40(4):554—561. Wei S Q, Li G L, Österberg R, et al. Kinetics of metal ion reactions with humic acids and index for steady-state (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2003, 40(4):554—561

[3] Ning P, Wang H B, Pan B, et al. Isolation and sorption behavior of humic acid from Zhongdian peat of Yunnan Province, China. Pedosphere, 2009, 19(5):606—614

[4] 罗磊,张淑贞,马义兵,等. 应用 XAFS 研究草酸根和胡敏酸对 As(V)在红壤中吸附的影响. 土壤学报,2009,46(2):315—320. Luo L, Zhang S Z, Ma Y B, et al. Effect of oxalate and humic acid on arsenate sorption by a red soil using XAFS method (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2009, 46(2): 315—320

[5] 徐丽娜,李忠佩,车玉萍. 溶液培养条件下腐殖酸对铁异化还原的影响. 土壤,2008,40(5):792—796. Xu L N, Li Z P, Che Y P. Effect of humic acids on dissimilatory iron reduction in aquatic incubation (In Chinese). Soils, 2008, 40(5):

792—796

[6] 王强,魏世强. 锰离子与胡敏酸络合反应特征研究. 土壤学报,2011,48(1):47—53. Wang Q,Wei S Q. Characteristics of complex reaction between humic acid and $Mn^{2+}$ ion (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2011,48(1):47—53

[7] Struyk Z, Sposito G. Redox properties of standard humic acids. Geoderma, 2001, 102(3/4):329—346

[8] Peretyazhko T, Sposito G. Reducing capacity of terrestrial humic acids. Geoderma, 2006, 137(1/2):140—146

[9] Bauer M, Heitmann T, Macalady D L, et al. Electron transfer capacities and reaction kinetics of peat dissolved organic matter. Environmental Science and Technology, 2007, 41(1):139—145

[10] Blodau C, Bauer M, Regenspurg S, et al. Electron accepting capacity of dissolved organic matter as determined by reaction with metallic zinc. Chemical Geology, 2009, 260(3/4):186—195

[11] Gu B, Bian Y, Miller C L, et al. Mercury reduction and complexation by natural organic matter in anoxic environments. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(23): 1 479—1 483

[12] Alberts J J, Schindler J E, Miller R W. Elemental mercury evolution mediated by humic acid. Science, 1974, 184(4139): 895—896

[13] Andre C, Choppin G R. Reduction of Pu (V) by humic acid. Radiochimica Acta, 2000, 88(9):613—616

[14] Kappler A, Haderlein S B. Natural organic matter as reductant for chlorinated aliphatic pollutants. Environmental Science and Technology, 2003, 37(12):2 714—2 719

[15] 徐丽娜,李忠佩,车玉萍. 淹水厌氧条件下腐殖酸对红壤中铁异化还原过程的影响. 环境科学,2009,30(1):221—226. Xu L N, Li Z P, Che Y P. Influences of humic acids on the dissimilatory iron reduction of red soil in anaerobic condition (In Chinese). Environmental Science, 2009, 30(1):221—226

[16] Kappler A, Benz M, Schink B, et al. Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in freshwater sediment. FEMS Microbiological Ecology, 2004, 47(1):85—92

[17] Lovley D R, Woodward J, Blunt-Harris E L, et al. Humic substances as a mediator for micobially-catalyzed metal reducation. Acta Hydrochim Hydrobiol, 1998, 26(3):152—157

[18] Lu X, Johnson W D, Hook J. Reduction of vanadate with aquatic humic substances: An ESR and $^{51}V$ NMR study. Environmental Science and Technology, 1998, 32(15):2 257—2 263

[19] Fredrickson J K, Kostandarithes H M, Li S W, et al. Reduction of Fe(Ⅲ), Cr(Ⅵ), U(Ⅵ), and Tc(Ⅶ) by Deinococcus radiodurans R1. Applied Environmental Microbiology, 2000, 66(5):2 006—2 011

[20] Borch T, Kretzschmar R, Kappler A, et al. Biogeochemical redox processes and their impact on contaminant dynamics. Environmental Science and Technology, 2010, 44(1):15—23

[21] Royer R A, Burgos W D, Fisher A S, et al. Ehancement of biological reduction of hematite by electron shuttling and Fe(Ⅲ) complexation. Environmental Science and Technology, 2002, 36(9):1 939—1 946

[22] Xie L, Shang C. Role of humic acid and quinone model compounds in bromate reduction by zerovalent iron. Environmental Science and Technology, 2005, 39(4):1 092—1 100

[23] Fimmen R L, Cory R M, Chin Y P, et al. Probing the oxidation-reduction properties of terrestrially and microbially derived dissolved organic matter. Geochim Cosmochim Acta, 2007, 71(12):3 003—3 015

[24] Rakshit S, Uchimiya M, Sposito G. Iron (III) bioreduction in soil in the presence of added humic substances. Soil Science Society of America Journal, 2009, 73(1):65—71

[25] Serudo R L, Oliveira L C, Rocha J C, et al. Reduction capability of soil humic substances from the Rio Negro basin, Brazil, towards Hg(II) studied by a multimethod approach and principal component analysis (PCA). Geoderma, 2007, 138(3/4): 229—236

[26] Chen J, Gu B H, Royer R A, et al. The role of natural organic matter in chemical and microbial reduction of ferric iron. Science of the Total Environment, 2003, 307(1/3):167—178

[27] Senesi N, Griffith S M, Schnitzer M. Binding of $Fe^{3+}$ by humic materials. Geochim Cosmochim Acta, 1977, 41(7):969—976

[28] Matthiessen A. Determination the redox capacity of humic substances as a function of pH. Vom Wasser, 1995, 84:229—235

[29] Scott D T, McKnight D M, Blunt-Harris E L, et al. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms. Environmental Science and Technology, 1998, 32(19):2 984—2 989

[30] Klapper L, McKnight D M, Blunt-Harris E L, et al. Fulvic acid oxidation state detection using fluorescence spectroscopy. Environmental Science and Technology, 2002, 36(14): 2 714—2 719

[31] Swift R S. Organic matter characterization (chapter 35)//Sparks D L. eds. Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods. Soil Sci Soc Am Book Series:5. Madison:Soil Science Society of America, 1996

[32] 文启孝. 土壤有机质研究法. 北京:农业出版社, 1984:136—145. Wen Q X. Research methods of soil organic matters (In Chinese). Beijing:Agriculture Press, 1984:136—145

[33] Benz M, Schink B, Brune A. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 1998,64(11):4 507—4 512

[34] Lovley D R, Phillips E J P. Novel mode of microbial energy metabolism-organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese. Appl Environ Microbiol, 1988,54(6):1 472—1 480

[35] 国家环境保护部. 水和废水监测分析方法. 第四版. 北京:中国环境科学出版社, 2002:354—370. Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Water and wastewater monitoring and analysis methods (In Chinese). 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002:354—370

[36] Allard B, Arsenie I. Abiotic reduction of mercury by humic substances in aquatic system-An important process for the mercury cycle. Water Air and Soil Pollution, 1991, 56(1):457—464

[37] Yang Y G, Liang L, Wang D Y. Effect of dissolved organic matter on adsorption and desorption of mercury by soils. Journal of

Environmental Science, 2008, 20(9):1 097—1 102

[38] Rocha J C, Sargentini E, Jr Zara L F, et al. Reduction of mercury(II) by tropical river humic substances (Rio Negro)-Part II. Influence of structural features (molecular size, aromaticity, phenolic groups, organically bound sulfur). Talanta, 2003, 61(5): 699—707

[39] Österberg R, Wei S Q. Solution interaction of humic acids with calcium ions involves a two-phase system. Acta Chemica Scand, 1999, 53 (6):974—984

[40] 王强,魏世强. 胡敏酸与 $Fe^{3+}$ 络合反应稳定性及热力学特征研究. 环境科学学报, 2006, 26 (1):118—123. Wang Q, Wei S Q. The stability and thermodynamics of the coordination reaction of humic acid with $Fe^{3+}$ ion (In Chinese). Acta Scientiae Circumstantiae, 2006, 26 (1):118—123

[41] Coates J D, Chakraborty R, O'Connor S M, et al. The geochemical effects of microbial humic substances reduction. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 2001, 28(7):420—427

# CHARACTERIZATION OF AND COMPARISON BETWEEN REDUCTION CAPACITIES OF DIFFERENT HUMIC ACIDS

Jiang Tao[1] Wei Shiqiang[1†] Li Xuemei[1] Li Mengjie[1] Peng Guodong[1] Liu Shuangying[2] Luo Chang[1]

(1 *College of Resource and Environment, Southwest University, Chongqing Key Laboratory of Agricultural Resources and Environment, Engineering Research Center for Agricultural Non-Point Source Pollution Control in the Three Gorges Reservoir Area, Chongqing* 400716, *China*)

(2 *Mianyang Environmental Monitoring Station, Mianyang, Sichuan* 621000, *China*)

**Abstract** As an important parameter, Reduction capacity (RC) is recognized for evaluating redox characteristics of humic acids (HA) in environment. In this study, three HAs (tagged as SH, TJ and JY respectively) from different sources were selected and pretreated through methods of saturated hydrogen oscillation and soil solution incubation respectively for determining chemical reduction capacity (CRC) and microbial reduction capacity (MRC) by reduction of two electron acceptors including ferric nitrate ($Fe(NO_3)_3$) and ferric citrate(FeCit), in comparison with native reducing capacity (NRC) obtained through the same measurement method based on HA samples without any pretreatments. The results suggested that HA extracted from local humus layer of soil in JinYun Mountain had the greatest RC among three humic acids, which showed the highest RC values of $20.21 \pm 0.26$ $mmol_c$ $mol^{-1}$ C (NRC), $26.02 \pm 1.12$ $mmol_c$ $mol^{-1}$ C (CRC) and $29.29 \pm 1.56$ $mmol_c$ $mol^{-1}$ C (MRC), respectively. Meanwhile, Of the two electron acceptors, $Fe(NO_3)_3$ induced much higher RC than FeCit. In addition, HA in solution status showed higher RC than in solid status. All the above findings demonstrate that reduction capacity (RC) of HA is a variable parameter, which is closely related to the structure and properties of the HA per se and also affected by its initial status (e.g. solution or solid) and electron acceptors. Comparison between the RC indexes of the HAs shows that CRC and MRC were evidently higher than NRC, however no significant difference in magnitude was observed between CRC and MRC. However, whether it is feasible to use CRC to characterize MRC needs further study for validation.

**Key words** Humic acid; Humic substance; Electron acceptor; Reduction capacity; Iron