

DOI: 10.11766/trxb201805150160

应用¹³C核磁共振技术研究土壤有机质化学结构进展*

李娜¹ 盛明^{1, 2} 尤孟阳¹ 韩晓增^{1†}

(1 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150081)

(2 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要 土壤有机质化学结构对准确评价土壤有机质的稳定性及其在土壤中的功能具有重要意义。土壤有机质化学结构的研究方法中, 固态¹³C核磁共振波谱技术 (Solid-state ¹³C-NMR spectroscopy) 具有独特优势, 对土壤有机质化学结构的解析更贴近真实状态, 近年来已取得诸多新进展和新突破。综述了近年来应用¹³C-NMR测定土壤全土、团聚体和密度组分、腐殖质组分的有机碳化学结构特征, 分析了影响化学结构变化的因素。不同气候条件、植被类型、土地利用管理方式、土壤类型、土壤有机碳含量的全土中有机碳化学结构比较相似, 均表现为烷氧碳比例最高, 其次为烷基碳和芳香碳, 羧基羰基碳比例最低。土壤有机碳主要来源于外源植物残体, 植物残体化学结构的相似性可能是导致土壤有机碳化学结构相似的主要原因, 环境条件、土壤自身属性和微生物活性的差异使土壤有机碳化学结构产生微小差异。土壤颗粒及化学组分间的有机碳分子结构差异较大, 大颗粒有机碳中烷氧碳比例最高, 小粒径及与矿物颗粒结合的有机碳中烷基碳和羧基羰基碳比例更高, 粉黏粒和腐殖酸组分的有机碳化学结构在土壤类型间差异较大。今后的研究重点应更多地关注土壤有机质来源的定量分析、土壤微生物对土壤有机碳组分和结构稳定性的贡献及调控机制、土壤有机碳稳定性的生物物理化学保护机制、空间大尺度环境因子/土壤生态过程与微观尺度的有机碳化学分子结构的耦合作用机制、跨学科的多土壤有机碳化学分子结构测定辨识技术等方面的研究。

关键词 土壤有机质; ¹³C核磁共振技术; 化学官能团; 密度组分; 腐殖物质

中图分类号 S151.3 **文献标识码** A

土壤有机质是土壤生态系统的重要组成部分, 可为植物提供生长所必需的养分并改善土壤肥力, 进而决定陆地生态系统生产力和碳循环过程^[1-2]。土壤有机质的化学结构及其稳定性是研究土壤肥力和碳循环的关键, 但由于土壤有机质本身的高度复杂性和异质性, 将土壤有机质作为一个整体来研

究, 很大程度限制了对陆地生态系统碳循环过程和理论的认识。不同气候和人类活动条件下土壤有机质的数量和组分方面已经开展了大量研究。固态¹³C核磁共振波谱技术 (Solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy, 简称¹³C-NMR) 是测定有机质化学结构的一种先进技术手段, 可同

* 国家重点研发计划项目 (2016YFD0300802-01)、中国科学院前沿科学研究重点计划项目 (QYZDB-SSW-SYS022)、中国科学院青年创新促进会项目 (2016211) 和中国科学院东北地理与农业生态研究所优秀青年人才项目资助 Supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2016YFD0300802-01), the Key Research Program of Frontier Sciences, CAS (No. QYZDB-SSW-SYS022), the Youth Innovation Promotion Association CAS (No. 2016211) and the Excellent Young Talent Program of Northeast Institute of Geography and Agroecology, CAS

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: xzhan@iga.ac.cn

作者简介: 李娜 (1983—), 女, 辽宁铁岭人, 博士, 副研究员, 主要从事土壤肥力和有机质生物化学方面的研究。

E-mail: nal@iga.ac.cn

收稿日期: 2018-05-15; 收到修改稿日期: 2018-08-31; 优先数字出版日期 (www.cnki.net): 2018-09-19

时定性、定量分析有机物质化学组成, 已成为研究土壤有机质化学结构和转化的有效手段。关于¹H和¹³C NMR技术在有机质研究中的应用及¹³C-NMR早期的一些研究结果, Kögel-Knabner^[3]、Mahieu等^[4]、卓苏能和文启孝^[5]已作了较为详细的综述。但这些综述均是针对某一特定地区、一种或几种代表性土壤类型下土壤全土或不同组分有机质化学结构特征的描述, 缺乏世界范围内不同气候和植被条件、土壤类型、土壤管理条件下土壤有机质形成机制及其物理化学组分的有机质化学结构的对比研究。为此, 本文综述了¹³C-NMR技术应用于土壤有机质及不同组分碳库的化学结构方面的研究进展, 进一步比较分析了不同气候条件和土壤类型下土壤有机质化学结构的演变特征、差异和共同点, 试图揭示土壤有机质化学结构的区域变化特征, 并解析导致其变化的影响因素, 以期评价土壤有机碳库的转化和稳定化机制、陆地生态系统的碳循环和碳固存潜力提供理论依据, 为建立合理的土壤有机质管理措施提供技术支撑^[6-7]。

1 ¹³C-NMR技术及波谱分析简介

核磁共振波谱技术(NMR)是基于化学位移理论发展起来的, 主要用于测定物质的化学成分和分子结构。1963年, Barton和Schnitzer^[8]最早尝试应用核磁共振技术研究土壤胡敏酸的化学结构。1972年, Neyroud和Schnitzer^[9]将NMR技术应用到土壤富里酸的结构特征测定。随后, Gonzalez-Vila等^[10]应用傅里叶变换-¹³C-核磁共振波谱技术(FT-¹³C-NMR)研究了土壤腐殖物质的结构特征。1981年, Wilson等^[11]应用交叉极化魔角旋转¹³C-核磁共振技术(CPMAS ¹³C-NMR)研究了全土有机碳的化学结构。自此, ¹³C固态核磁共振技术成为研究土壤有机碳化学结构的主要测定技术。¹³C-NMR技术测定的土壤有机碳结构更接近真实状态, 对其应用越来越广泛^[12]。新近又开发了多种一维核磁共振编辑技术^[13-16]和二维波谱技术^[17-18], 进一步深化了对土壤有机质化学结构的研究, 为量化研究有机碳各个官能团比例和含量, 加强土壤有机质化学分子结构的半量化/量化研究, 揭示土壤化学结构和不同物质组分的动态变化提供强有力的技术手段。

应用¹³C-NMR技术获得的土壤有机质化学结构波谱大多划分为四大官能区: (1) 烷基碳区($\delta=0 \sim 45$, Alkyl C), 系脂肪族化合物(角质和软木脂)中与甲基碳($\delta=0 \sim 25$)或聚亚甲基碳($\delta=25 \sim 45$); (2) 烷氧碳区($\delta=45 \sim 110$, O-Alkyl C)主要来自碳水化合物(纤维素、半纤维素等), 也有蛋白质和木质素侧链; (3) 芳香碳区($\delta=110 \sim 160$, Aromatic C), 主要来自单宁、木质素和不饱和烯烃等; (4) 羰基碳区($\delta=160 \sim 220$, Carbonyl C), 主要在 $\delta=172$ 附近, 大多来自于脂肪酸、氨基酸、酰胺、酯、酮醛类物质的吸收^[3,5,14,19](表1)。其中, 烷基碳主要来源于植物生物聚合物(如角质、木栓质、蜡质)、微生物代谢产物的长链脂肪族化合物和甲基碳、脂类和多肽的侧链结构, 是难以降解的、较稳定有机碳组分^[20]。烷氧碳主要来源于半纤维素、纤维素、聚合和非聚合的碳水化合物或类乙醇物质^[21], 代表易被微生物代谢利用的碳水化合物, 即易分解碳。通常Alkyl C/O-Alkyl C比值(A/A-O)是评价土壤有机碳分解程度的敏感指标, 可用来反映腐殖物质烷基化程度的高低, 其比值越小说明有机质的分解程度越低^[5]。芳香碳主要来源于木质素、软木质、多肽类或黑碳等带有苯环类的物质, 也可能来源于微生物代谢产物或植物体经过高热产生的物质^[22], 它常和烷基碳一起, 用来表征难被微生物利用的碳化合物, 即难分解碳。

2 全土有机质化学结构特征及影响因素

2.1 全土有机质化学结构特征

以往研究对土壤有机碳化学结构波谱的划分不尽相同, 为方便比较分析, 统一将波谱划分成表1的四大官能团区, 列出了应用¹³C-NMR技术测定不同地区不同类型土壤表层(10 cm或20 cm)有机碳化学官能团的相对比例(表2)。通过比较, 全世界土壤有机碳官能团比例存在较大幅度变化范围, 如果不考虑气候环境、土壤和植被类型、土地利用方式和土壤有机碳含量等因素, ¹³C-NMR技术测定土壤全土有机碳化学结构图谱具有相似的特征, 表现在四大官能团比例中烷氧碳所占比例最大(31%~69%, 平均为 $44.1\% \pm 6.8\%$), 其次为烷基碳(9.1%~43%, 平均为 $25.6\% \pm 7.0\%$)和

表1 ^{13}C -固态核磁共振波谱技术测定有机碳官能团及相应的大分子化合物^[3, 5, 14, 19]

化学位移 Chemical shift	有机物官能团 Functional groups of organic matter		大分子化合物 Macro-molecular compounds
0 ~ 45	非极性烷基碳 Nonpolar alkyl C	甲基碳 CH_3 亚甲基碳 $(\text{CH}_2)_n/\text{C}\&\text{CH}$	长链脂肪族、蜡质、角质、软木质 Long chain aliphatic, waxes, cutin, suberin
45 ~ 60	烷氧碳 O-alkyl C	甲氧基碳Methoxyl C	含氮烷基、氨基酸、木质素 N-alkyl, amino acids, lignin
60 ~ 93		炔基碳Alkyne C	醇类、氨基糖、塔日酸、脱氢母菊脂、聚炔烃 Alcohols, amino sugars, tariric acid, dehydromatricaria ester, polyynes
93 ~ 110		双氧烷基碳di-O-alkyl C	半纤维素Hemicelluloses
110 ~ 142	芳香碳Aromatic C	苯环基碳Aryl C	单宁、木质素 Tannin, lignin
142 ~ 160		酚芳香基碳Phenolic C	单宁、木质素、软木质 Tannin, lignin, suberin
160 ~ 190	羧基羰基碳 Carbonyl C	羧基碳、酰胺碳 Carboxy C, Amide C	酰胺、酯 Amide, ester
190 ~ 220		羰基碳Carbonyl C	酮、醌、醛 Ketone, quinone, aldehyde

芳香碳 (4.7% ~ 28.6%, 平均为 $19.0\% \pm 4.7\%$), 羧基羰基碳所占比例最少 (3.9% ~ 17.8%, 平均为 $11.2\% \pm 3.7\%$)。一般情况下, 森林土壤表层有机碳中烷氧碳相对比例普遍高于草地和农田, 这可能是因为森林生态系统表层土壤中凋落物含量较高。但在个别土壤中, 烷氧碳比例也存在差异, 如巴西朗多尼亚草地强育湿润老成土和高岭湿润老成土 (Paleudult & Kandiuoldult)、德国南部松软薄层土 (Mollic Leptosols) 和不饱和雏形土 (Dystic Cambisol), 烷基碳的相对比例略大于烷氧碳的比例^[23-24]。Pedersen等^[25]研究发现, 美国阿拉斯加州的莎草草甸冻土 (Gelisol) 有机碳化学结构与其他地区的土壤有机碳结构差别较大, 不同成土年限的冻土有机碳中烷氧碳比例非常高 (相对比例可达69%), 其次为烷基碳, 芳香碳和羧基羰基碳的比例很低。与形成时间更长的土壤有机碳相比, 新形成的土壤中烷基碳 (16% vs 28%) 和芳香碳 (9% vs 16%) 比例偏低, 烷氧碳比例偏高 (69% vs 50%), 羧基羰基碳无差异, 这可能与新形成土壤中外源植物残体中烷氧碳比例较高有关。此外, 来源于植物残体、藻类或微生物的脂肪族物质, 使新成土的烷基碳增加, 而泥炭和苔藓中的木质素含量偏低, 可能是导致新成土中芳香碳比例偏低的原因^[25]。

进一步选取了较典型的土壤有机碳核磁共振图谱进行对比, 发现世界范围内不同区域的土

壤有机碳化学结构图谱较相似, 各化学官能团所占相对比例存在差异 (图1, 表2)。其中, 南美洲巴西草地强育湿润老成土和高岭湿润老成土 (Paleudult & Kandiuoldult) 和北美洲美国中西部软土 (Paleustoll) 的 ^{13}C 核磁共振图谱相似程度最高, 北美洲加拿大草地土壤有机碳核磁图谱与之类似, 但较以上二者的芳香碳比例更高^[23, 30]。澳大利亚、亚洲中国和欧洲西班牙的土壤中烷氧碳比例最高, 其次为烷基碳、芳香碳, 羧基羰基碳比例最少^[28, 30-33]。南非草地聚铁网纹土 (Plinthosols) 中烷氧碳的比例最高, 其次为芳香碳和羧基羰基碳, 烷基碳比例是所有土样中最少的, 仅为9.1%^[40]。北美洲的美国阿拉斯加州冻原草甸冻土 (Gelisol) 烷氧碳比例为69%, 高于其他类型土壤烷氧碳比例^[25]。

烷基碳与烷氧碳的比值 (A/A-O) 可反映土壤有机质的腐解化程度。总体而言, 土壤全土有机碳的A/A-O比值在0.2 ~ 1.11之间, 在巴西、澳大利亚、加拿大、德国和美国 (巴罗除外) 的土壤有机碳中, A/A-O比值一般较大, 均大于0.65, 说明这些地区土壤腐殖化程度较高。而在欧洲大部分地区、哥斯达黎加、美国巴罗、亚洲的中国和非洲的肯尼亚和南非土壤中A/A-O比值一般较小, 均小于0.65, 说明这些地区土壤腐殖化程度较低。同时, 气候条件、土壤类型、土地利用方式和植被类型等

表2 核磁共振技术测定表层全土有机碳官能团相对含量比较

取样地点 Sampling sites	土壤类型 Soil types	土地利用方式 Land uses	官能团比例/Relative abundance of functional groups/%				烷基碳/ 烷氧碳		文献出处 References
			烷基碳 Alkyl C (δ=0~45)	烷氧碳 O-alkyl C (δ=45~110)	芳香碳 Aromatic C (δ=110~160)	羰基 Carbonyl C (δ=160~220)	烷基碳 A/A-O	烷氧碳 A/A-O	
中国南部云南西双版纳	赤红壤	森林	18.8~21.7	38.5~39.7	26.3~28.6	12.3~14.2	0.49~0.55	[26]	
中国中部河南封丘	潮土	农田	13.1~17.7	43.7~47.3	21.6~26.5	13.0~15.2	0.29~0.38	[27]	
中国东南浙江	富铁土, 人为土	农田, 竹林	19.3~26.4	45.2~52.3	13.4~19.6	11.9~14.5	0.37~0.58	[28-29]	
中国中南部安徽蒙城	砂姜黑土	农田	18.7~20.8	46.3~49.6	18.3~19.9	11.2~13.5	0.39~0.44	[30]	
中国西北陕西杨凌	石灰性疏松岩性土	农田	20.3~25.4	53.9~55.2	7.1~12.3	11.4~13.7	0.26~0.46	[31]	
中国南部台湾	不饱和湿润始成土	森林, 草地	22.3~34.8	43.7~56.1	7.7~14.4	6.9~8.5	0.43~0.80	[6]	
澳大利亚西南部	铁质低活性强淋溶土	草地	27~31	34~38	11~14	14~15	0.741~0.91	[32]	
西班牙南部穆尔西亚	新成土, 干旱土, 淋溶土, 软土	农田	21.0~22.8	41.0~44.0	20.0~23.0	13.5~14.3	0.49~0.54	[33]	
法国东部埃斯	滞水高活性淋溶土	森林	26	49	15	11	0.53	[7]	
德国中部莱内费尔德	筒育高活性淋溶土, 不饱和锥形土	森林	27~34	36~47	13~15	12~15	0.57~0.94	[7]	
德国南部	锥形土, 松软薄层土, 暗色土, 灰壤	农田, 草地, 森林	28.6~33.2	38.6~43.1	15.4~19.6	7.9~11.3	0.70~0.86	[21]	
德国西部波恩	高活性淋溶土	农田	29.9~37.4	41.5~44.4	12.6~21.5	5.6~10.8	0.63~0.84	[34]	
瑞典北部	—	森林	21.1~29.2	52.5~59.8	11.2~16.6	3.9~5.8	0.36~0.57	[35]	
瑞士大冰川消融带	薄层土, 疏松岩性土	苔原	15~29	47~63	9~20	9~14	0.2~0.6	[36]	
意大利北部卡德里亚诺	筒育钙积土	农田	26.9~27.9	43.9~45.5	19.1~19.3	8.1~9	0.59~0.64	[37]	
美国内布拉斯加州海尔蒙	软土	松树, 草地	30~34	36~46	18~18	9~11	0.65~0.94	[30]	
美国罕布什尔州白山南	灰土	森林	39	45	11	5	0.87	[38]	
美国密苏里州布恩县	软土	草地, 农田	60~75	—	15~28	—	—	[39]	
美国阿拉斯加州巴罗	冻土	莎草甸	15~39	32~69	9~22	6~13	0.22~1.11	[25]	
加拿大东南安大略省	—	农田, 草地, 森林	24.1~26.4	45.3~49.6	12.1~15.2	11.8~13.7	0.51~0.57	[12]	
加拿大艾伯塔萨斯喀彻温	黑钙土	草地, 农田	25~32	33~44	15~33	7~10	0.67~0.82	[23]	
美国北达科他州曼丹	典型黏化软土	草地, 农田	29	37,40	21,24	10	0.73,0.78	[23]	
美国科罗拉多州阿克伦	干旱强育湿润软土	草地, 农田	29,31	31,42	16,26	12,14	0.74,0.94	[23]	
哥斯达黎加	筒育黑色湿润火山灰土	草地, 放牧	23,25	51,52	16,18	5,11	0.45,0.48	[23]	
巴西朗多尼亚	强育湿润老成土和高岭湿润老成土	草地, 放牧	31,41	37,46	15,17	6,7	0.67,1.11	[23]	
肯尼亚西部	铁质艳色低活性强酸土	森林, 农田	13.3~18.6	43.6~51.3	19~24.2	13.2~15.6	0.26~0.39	[40]	
南非北部克龙斯塔德	聚铁网纹土	草地, 农田	9.1~20.6	36~46.1	21.5~27.6	13.7~17.8	0.2~0.57	[40]	

注: 土壤分类的命名参考龚子同等^[41] Note: Refer to Gong et al^[41] for nomenclature of soils

因子也会影响A/A-O比值(表2)。

2.2 有机质化学结构分异因素

土壤有机质的形成和累积是在特定气候和生物环境条件下,不断形成复杂有机化合物的长期演变过程,它包括部分腐解植物的生物大分子残基(例如多糖、木质素、蛋白质和表皮材料)、动物及微生物代谢残体、排泄物、分泌物和土壤腐殖物质,是处于不同分解阶段的有机集合体^[1,42],其大小取决于初始土壤有机质水平、不同土地利用方式、土壤管理措施下外源有机物质的输入、原有土壤有机质的矿化损失^[43-44]。外源物质的多样性和复杂性决定了土壤有机质的复杂性和不均一性^[40]。Mahieu等^[4]测定了84种外源有机物,包括秸秆、根、茎、叶、树枝、粪便、堆腐物等的化学结构图谱,发现秸秆和木质物质中烷氧碳比例最高可达70%~90%,在树叶、根和堆腐物中烷氧碳比例最低也有38%,说明植物残体中碳水化合物的含量较高,包含了从简单的小分子糖类到淀粉和纤维素组

分等大分子的糖类物质。同时,有报道^[4,35]称植物残体和土壤中的烷氧碳存在较好的相关性,土壤有机碳含量与烷氧碳比例也具有很好的相关性(图2),有机碳含量高,其烷氧碳比例也大,这是土壤有机碳中烷氧碳比例最高的原因。不同土壤有机碳中化学结构的微小差别可能与形成土壤的气候条件、土壤类型、土壤质地特征、地上植被类型、进入土壤的凋落物和根系分泌物的质量、微生物种类、活性和代谢残体特征有关。Soucémariánadin等^[18]利用二维NMR技术研究了森林系统凋落物和土壤有机质的化学结构,也发现土壤有机质的化学结构与凋落物的结构有关系。土壤有机质化学结构中非极性烷基碳和芳香碳相对比例的多少可能与气候条件、土壤类型和土地利用方式等外界条件有关。同时,土壤微生物和酶活性不同也会引起外源物质降解过程和产物发生变化,进而影响土壤有机碳化学结构和稳定性。中国云南西双版纳的森林赤红壤(Latosolic red earths)、河南封丘的农

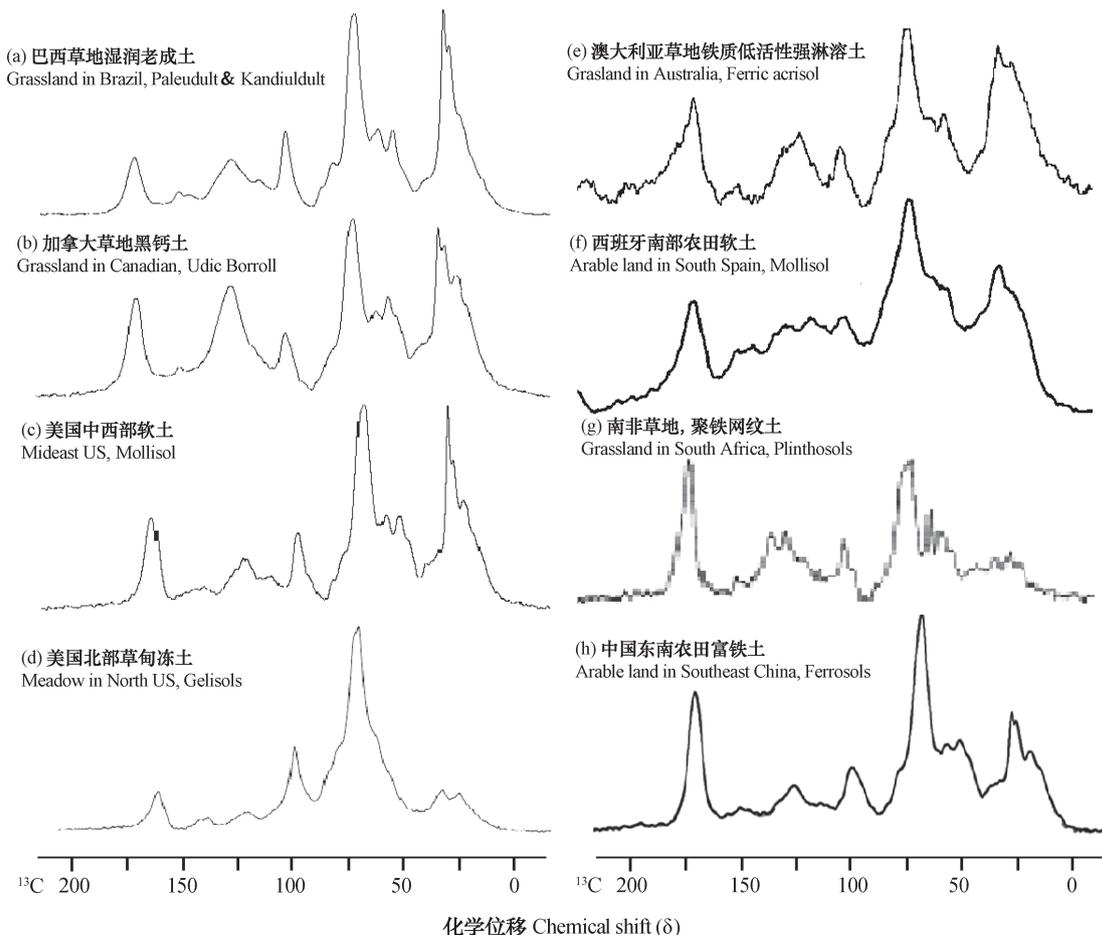


图1 ^{13}C 核磁共振技术测定世界范围内代表性土壤有机碳化学结构波谱^[5,39-42]

Fig. 1 Chemical structure spectra of soil organic matter in typical soils worldwide determined by ^{13}C NMR^[5,39-42]

田潮土 (Fluvo-aquic soils)、东北的黑土 (Black soils)、加拿大埃德蒙顿土壤 (Udic Borroll)、肯尼亚西部土壤 (Ferralo-chromic Acrisols, Humic nitosols) 和南非土壤烷基碳的相对比例小于芳香碳比例^[23,26-27,40]。芳香碳是土壤中较难分解的有机碳组分之一, 芳香碳的比例较高, 可能是由于植物残体的木质素在分解初期被选择性保留^[45], 提高了芳香碳的比例, 同时, 土壤有机碳中烷氧碳比例降低也会相应地增加芳香碳比例。在中国浙江、台湾中部、欧洲大部、南美洲的巴西、北美洲的加拿大和美国、澳大利亚等土壤中, 土壤烷基碳相对比例均大于芳香碳比例 (表2), 可能与这些土壤中较强的酶活性和微生物活性有关, 使土壤中芳香碳物质被氧化分解, 土壤芳香碳比例降低, 羧基碳比例显著增加。也有研究发现, 土壤有机碳中烷基碳和芳香碳的相对比例差异不显著, 如西班牙南部不同类型的土壤有机碳中烷基碳和芳香碳的比例相当, 不存在明显差异^[33], 这主要是因为该土壤有机碳化学结构基本不受成土母质和土壤类型的影响, 主要受地上植被和气候条件的影响。Chen等^[46]对中国安徽砂姜黑土有机碳化学结构的研究也发现土壤有机碳中烷氧碳和芳香碳比例差异不明显 (表2)。

一些研究学者认为“初始凋落物”理论确实存在, 即植物残体组成的差异性随残余物的不断降解一直存在, 即使最终转化为土壤有机质^[47], 这也是为何不同土地利用方式下土壤有机碳的化学结构存在差异的主因。土壤有机碳的化学结构及其稳定性与地上植被类型和外源进入土壤的有机物质数量和质量 (化学结构) 密切相关。地上植被通过植物残体和根系分泌物直接影响输入土壤的外源有机物的数量和质量, 进而影响土壤微生物种类、群落结构和活性, 最终影响土壤有机质的化学结构。外源有机物质化学结构的差异性, 必然影响土壤有机碳化学结构及稳定性。Clemente等^[48]研究了玉米秸秆的根、茎、叶等不同部位分别添加至土壤中对土壤有机碳化学结构的影响, 发现土壤化学结构变化随添加物质不断分解过程而变化: 添加玉米茎的土壤有机碳中碳水化合物含量高, 而添加玉米叶的土壤腐殖质中脂肪族碳含量高, 这是因为玉米叶组织中脂肪族碳含量高, 玉米叶中的化学物质对于土壤有机碳的稳定性有促进作用。Chen等^[46]发现玉

米秸秆中木质素组分含量要高于小麦秸秆的木质素含量, 相应地, 玉米秸秆还田处理的土壤有机碳中木质素衍生物结构 (芳香碳和酚基碳) 要高于小麦秸秆还田处理。Wang等^[49]研究了中国海伦、封丘和鹰潭3种不同气候和土壤类型条件下玉米秸秆和小麦秸秆的腐解特征, 发现玉米和小麦秸秆在腐解初期, 受到秸秆类型、温度和土壤类型等条件的影 响, 玉米和小麦秸秆的化学结构变化显著, 随着腐解时间延长, 腐解2年后, 玉米和小麦秸秆的化学结构趋于接近, 但仍存在差异。此结果也可用来解释不同气候条件和土壤类型中土壤有机碳化学结构存在的“趋同特征”, 可能由于土壤的形成和发育进程是相当漫长的, 其外源植物残体在经过几十年、几百年甚至更长时间的分解转化后, 分解产物的化学结构才趋于一致, 被全部分解进入土壤有机质后使得土壤有机碳的化学结构才更趋于相似。尽管土地利用和管理方式、土壤类型、矿物组成、气候条件、植被和土壤有机碳含量不同, Mahieu等^[4]也发现土壤全土有机碳也具有较相似的化学结构特征。Mathers和Xu^[50]研究认为烷氧碳是植物残体中最易分解的有机碳官能基团。在植物凋落物腐解的快速阶段, 植物残体中的烷氧碳会快速损失进入土壤中; 与之相反, 植物残体中芳香碳和烷基碳会选择性保留, 进一步说明世界范围内典型土壤有机碳化学机构为何存在差异。

为揭示土壤有机碳化学结构与土壤有机质稳定性的关系, 本文将土壤有机质化学官能团比例与土壤有机质含量和黏粒含量做相关性分析。结果发现, 全土有机碳含量与有机碳官能团中的烷氧碳呈显著正相关关系 ($P < 0.005$), 与芳香碳和羧基羰基碳呈显著负相关关系 ($P < 0.005$) (图2 (a) ~ 图2 (d)); 土壤黏粒含量与有机碳官能团中的烷基碳呈显著正相关关系 ($P < 0.005$), 与烷氧碳呈显著负相关关系 ($P < 0.005$) (图2 (f) ~ 图2 (i)); 土壤黏粒含量与烷基碳/烷氧碳比例呈显著正相关关系 ($P < 0.001$), 与土壤有机碳含量关系不显著, 仅达到0.1的显著性检验 (图2 (e), 图2 (j))。烷基碳比例与有机碳含量、芳香碳比例与黏粒含量无显著相关性 ($P > 0.05$)。本文的相关性分析结果与Mahieu等^[4]的分析结论一致。高有机质含量的土壤, 烷氧碳比例越高, 植物来源碳的比例越大, 其土壤有

机质的腐解化程度越低,土壤有机质越不稳定。土壤黏粒含量越高,土壤中烷基碳比例越大;烷氧碳

比例显著减少,土壤有机质腐殖化程度越高,土壤有机质越稳定。

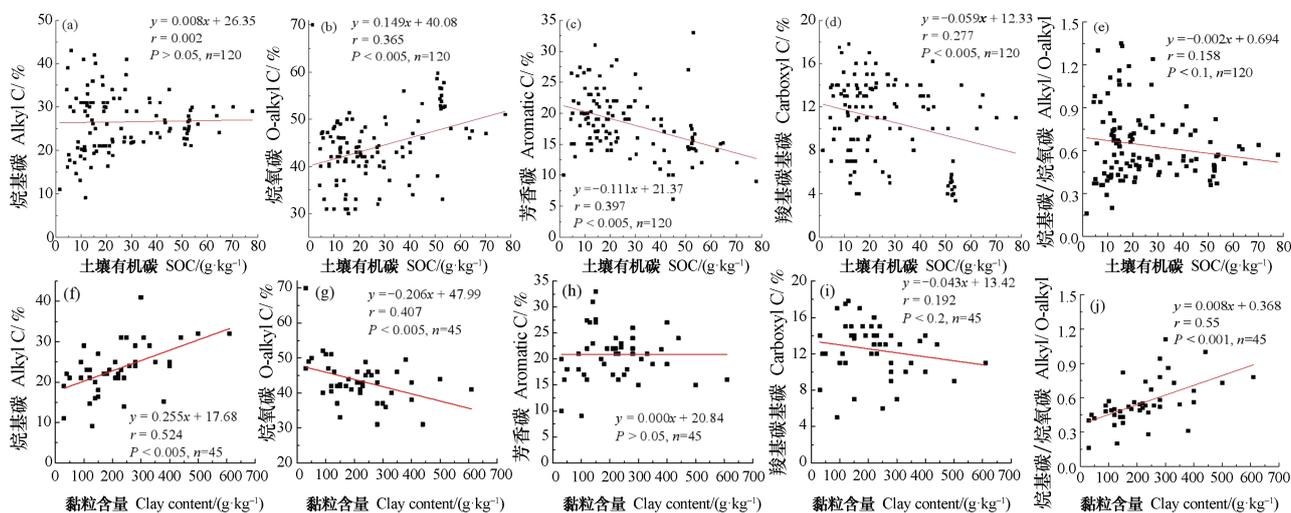


图2 土壤有机碳含量、黏粒含量与有机碳官能团相对比例相关性

Fig. 2 Abundance of alkyl, O-alkyl, aromatic, and carbonyl functional groups determined by ^{13}C NMR, relative to soil organic carbon (SOC) content and clay content in bulk soil

3 土壤不同组分有机质的化学结构特征

土壤有机质根据物理、化学和生物学性质分组得到的不同组分是研究有机质特定转化过程的指示因子^[3,50]。常采用的分组方法有团聚体分组、密度分组、化学分组、团聚体分组与物理化学分组相结合等,应用 ^{13}C NMR技术开展了土壤不同有机碳组分的化学结构特征研究,研究结果对土壤有机碳降解、转化和稳定化过程及机理揭示提供了强有力的科学支撑。

3.1 土壤团聚体内有机质化学结构特征

进入土壤的植物残体质量会影响土壤团聚体和非团聚体中的有机质组分,使不同组分的土壤有机碳组分和化学结构发生分异^[51]。森林土壤中颗粒有机质所占比例很大,大部分为来自于地上植物凋落物分解的烷基碳;草地和玉米地土壤中矿质结合态有机质含量很高,其中芳香碳和羰基碳比例较大。一般地,土壤团聚体的粒径越大,有机碳中烷氧碳所占比例越高;土壤粒径越小,有机质的烷氧碳所占比例越低^[33,48]。随着土壤团聚体粒径的减小,烷基碳和羰基碳相对含量逐渐增加,芳香碳相对比例在不同土壤中变化不一致,有的升高^[52],有的降低^[25]。烷氧碳是植物残体有机碳的主要组

成部分(比例为50%~70%)^[21],植物分解程度较低的土壤大团聚体中烷氧碳比例高于微团聚体。相反,烷基碳的增加反映了分解过程中选择性保留的有机物质(如角质、软木脂等)和微生物再合成物质在小团聚体中的积累^[45]。农田土壤中,外源植物残留物进入土壤后,优先积聚于大粒径组分的有机碳中,随着植物残体分解程度增加,逐渐向小粒径土壤有机质组分转移。郭素春等^[27]研究了我国河南商丘潮土团聚体有机碳结构特征,发现随着团聚体粒径减小,烷氧碳和芳香碳所占比例降低,可能是由于大团聚体中植物残体来源的木质素在分解初期选择性保留,提高了芳香碳的比例^[45]。

3.2 土壤颗粒组内有机质化学结构特征

Steffens等^[52]和Helfrich等^[53]对德国土壤不同大小颗粒组分研究发现,芳香碳所占比例随土壤粒径减小而增加,抗分解芳香碳在土壤小粒径组分中选择性积累,且不同土地利用方式下游离态轻组有机质(LFOM)中烷氧碳比例约为50%,其次为烷基碳和芳香碳,与闭蓄态有机质相比,游离态有机质中含有较多的烷氧碳,而烷基碳较少。中国江西水稻土的颗粒有机质(Particulate organic matter, POM)主要由烷氧碳、烷基碳和芳香碳组成,其中烷氧碳相对比例最高,占POM总

量的46%~53%，其次为烷基碳和芳香碳，分别占POM总量的20%~26%和15%~21%，羰基酚基碳仅占POM的6%^[54]。进入土壤的外源有机物质，被土壤微生物占领，随后被大团聚体内的矿物颗粒包裹，分解破碎成更稳定难分解的结构后，矿物颗粒进一步包裹缠绕形成稳定的微团聚体，最终被微生物转化，参与微生物新陈代谢，微生物残体进一步与矿物颗粒结合，形成稳定土壤有机质^[55]。Courtier-Murias等^[37]对意大利北部高山草原土壤团聚体内不同有机碳组分化学结构的研究发现，与游离态轻组有机碳相比，团聚体内部，特别是微团聚体内部有机碳中非极性烷基碳、甲氧基、烷基芳香碳、羧基碳和酰胺的比例较高，烷氧碳的比例较低。相比游离态轻组和团聚体内部组分，矿质结合态有机碳中来源于烷基碳、羧基碳和酰胺碳的比例较高，碳水化合物比例较少（图3），说明游离态和闭蓄态团聚体内部的有机碳组分由不同分解阶段的植物残体组成。从游离态组分到大团聚体内部，再到微团聚体内部，来自于脂质生物聚合物，如蜡质、角质和软木质的非极性烷基碳化合物，这类富含亚甲基的非极性不可氢代的烷基碳增加，说明随着团聚体粒径的减小，植物残体腐解程度也在增加。其他研究也发现，矿质结合态有机碳组分特别是细粉粒有机质组分中，C/N比、木质素和植物来源碳含量很低，而主要是微生物来源碳较高^[21, 47, 55-57]，土壤微生物及其代谢残体对土壤有机碳组分库和结构的贡献程度，可能远远超出预期程度^[57-59]（表3）。

土壤中黏土矿质颗粒是决定土壤有机质结合形态和稳定性的主要因子。土壤中大部分有机质会与土壤黏土矿物结合，其胶结作用大小对土壤有机质的动态至关重要。不同粒径大小的土壤颗粒表面化学性质存在差异，与土壤矿物相结合的有机质稳定性和化学性质存在明显区别^[3]。土壤黏粒中虽然也含有一些新鲜来源的有机质，但大多数为惰性较高、稳定性较好的物质，其中惰性有机质会与细粉粒和黏粒组分结合，使得土壤碳库或氮库主要还是由惰性库组成^[76]。土壤砂粒中有机质主要来源于植物体，细粒级中含有大量的脂肪族化合物^[44]。烷基碳和羰基碳来源于土壤微生物代谢产物或者微生物残体，使得与黏粒结合的小颗粒有机碳中烷基碳和羰基碳的相对含量较高；芳香碳可能主要来自

于植物残留物的选择性保留，使得与粉粒结合的颗粒态有机质组分中芳香碳较高^[24, 33]。同时，应用¹³C核磁共振技术测定的不同类型土壤不同颗粒中黏粒的化学结构图谱（图4）发现，不同类型土壤表层土壤黏粒的有机碳化学结构差别较大，这可能与不同类型土壤中黏土矿物的组成有关。其中灰化土土壤有机碳中烷基碳比例较大，而棕红壤和暗棕壤的土壤黏粒中因为多糖的缘故含有大量的芳香碳和烷氧碳，草甸土的黏粒中含有较大比例的芳香碳^[3]。

4 土壤腐殖物质化学结构特征

土壤腐殖物质是土壤有机质的主体，主要来源于植物凋落物的分解和生物组分，主要由胡敏酸、富里酸和胡敏素组成。与全土相比，土壤腐殖质中三种物质的烷氧碳比例较全土低，烷基碳比例较全土高（表3）。对森林土壤腐殖质层的研究发现，三种腐殖质的化学结构差异很大，胡敏素中仅包含分解初期的植物残体，富里酸中碳水化合物比例高，而胡敏酸中烷基碳和芳香碳比例高^[77]。中国桃源农田旱地和水稻土中胡敏素中含有更多烷氧碳（27%~31%），芳香碳比例很低（12%~23%），富里酸中以羧基碳为主，胡敏酸中主要含有芳香碳。该研究还推测，土壤腐殖质的形成顺序可能为：外源植物残体首先转化进入胡敏素，降解程度增加，进一步被氧化，转化为胡敏酸，最终进入富里酸中^[78]。埃塞俄比亚的森林和农田土壤三种腐殖质的化学结构均以羧基羰基碳为主，平均值为41%，烷基碳和烷氧碳次之（均值分别为30.3%和23.4%），芳香碳比例最少，均值为4.9%。当森林转变为农田生态系统后，三种腐殖物质中烷基碳的比例均显著减少，烷氧碳的比例增加^[75]。

胡敏酸（humic acids, HA）作为土壤腐殖物质的碱溶组分，更容易受到土地利用和管理措施的影响，其含量和结构的变化与土壤肥力水平密切相关^[79]，前人对土壤胡敏酸化学结构的研究较多。与前文关于全土中有机碳化学结构的相似性有所不同，对比分析了几个典型地区和土壤类型条件下土壤HA化学结构（图5），发现其化学结构差异很大，无普遍规律可循。中国东北吉林的黑

表3 核磁共振技术测得的土壤有机碳组分的官能团相对含量变化比较

取样地点 Sampling sites	土壤类型 Soil types	土地利用方式 Land uses	土壤有机碳组分 Soil particle-size fractions	官能团所占比例/Relative abundance of functional groups/%					文献出处 References
				烷基碳 Alkyl C ($\delta = 0 \sim 45$)	烷氧基碳 O-alkyl C ($\delta = 45 \sim 110$)	芳香碳 Aromatic C ($\delta = 110 \sim 160$)	羰基碳 Carbonyl C ($\delta = 160 \sim 220$)	羧基碳 A/A-O	
				C	($\delta = 45 \sim 110$)	($\delta = 110 \sim 160$)	($\delta = 160 \sim 220$)	A/A-O	
中国中部河南封丘	潮土	农田	团聚体	14~24	44.3~48	17.8~30.3	10~16	—	[27]
中国南部江西红壤站	红壤	农田	团聚体, 颗粒组分	21.1~31.9	40.0~53.3	14.7~21.3	9.6~14.0	0.37~0.75	[54]
中国台湾中部	不饱和湿润始成土	竹林, 森林, 草地	团聚体, 密度组分	20.0~42.3	40.6~59.3	8.1~22.6	8.0~12.1	0.37~1.1	[6]
德国东南巴伐利亚州	滞水冲积土, 雏形土	森林, 草地, 农田	团聚体, 密度组分	16.2~40.1	40.2~70.3	9.4~27.9	3.7~14.4	0.22~1.0	[53,60]
德国中部莱内费尔德	高活性淋溶土	森林	团聚体, 密度组分	27~31	40~51	11~19	7~13	0.53~0.78	[7,61]
法国东部埃斯	滞水高活性淋溶土	森林	团聚体, 密度组分	25~29	44~53	9~21	8~11	0.52~0.61	[7,61]
德国萨克森州	不饱和和雏形土	森林, 农田	团聚体, 密度组分	16~36	39~66	13~23	5~18	0.24~0.92	[37]
意大利北部卡德里亚诺	筒育钙积土	农田	团聚体, 密度组分	16.3~32	40.3~54.8	17.4~25.9	6.0~10.8	0.3~0.79	[12]
澳大利亚	软土	—	团聚体, 密度组分	3.5~21.2	30~57.4	10.1~21.5	7.6~18	0.32~1.59	[60]
西班牙西南部加的斯	—	农田	团聚体组分	20.8~34.1	32.6~45.8	15.4~22.5	11.1~15.2	0.48~0.99	[62-63]
澳大利亚东南部	雏形土, 氧化土	森林, 草地	密度组分	19.1~32.8	30.1~61.9	8.7~36.5	5.1~11.2	0.18~1.08	[64]
澳大利亚昆士兰东南	淋溶土	森林	密度组分	14.8~39.9	38.4~49.6	8.5~27.5	6.2~15.6	0.34~0.91	[65]
美国中部内布拉斯加州	新成土	森林, 灌丛	密度组分	12.6~27.6	46.6~61.9	16.0~21.6	3.9~13.8	0.22~0.58	[66]
巴西塞拉多	淋溶土	农田, 草地	细黏粒	17.5~39.5	29.3~49.8	15.1~30.0	4.8~17.7	0.35~1.35	[67]
中国中部河南封丘	铁铝土	农田, 草地	密度组分	12.2~24.6	44.1~61.9	14.8~26.5	6.2~12.7	0.2~0.54	[68-70]
中国中部河南桃源	冲积土	农田	胡敏酸, 富里酸, 胡敏素	24.0~24.4	33.7~42.5	21.4~29.9	11.9~16.2	0.57~0.71	[70]
中国中部湖南桃源	人为土	农田	胡敏酸, 富里酸, 胡敏素	27.0~35.0	32.9~43.2	12.2~22.9	9.7~17.2	0.81~0.97	[71-72]
中国东北吉林	黑土	农田	胡敏酸, 胡敏素	35~66.0	8.89~31.3	1.22~39.51	16.3~23.8	0.68~7.43	[73]
中国西北内蒙古	栗钙土	草地	胡敏酸	25.97	28.57	27.01	18.43	0.91	[74]
中国华北河北承德	潮土	农田	胡敏酸	23.42	32.32	28.1	16.15	0.72	[75]
日本筑波县, 长野县	火山灰土	草地, 森林	胡敏酸, 富里酸	6.0~29.5	13.0~30	22~56.5	20.8~28.7	0.46~1.1	[76]
英国爱尔兰	棕壤	农田	胡敏酸, 富里酸	15.2~24.7	30.7~47	16.6~31.6	10.4~24.9	0.33~0.79	[77]
西班牙中部	腐殖质湿润弱育土	森林	胡敏酸	39.6~47.6	15.5~20	12.8~16.2	7.5~9	1.98~3.07	[78]
美国中部内布拉斯加州	新成土	农田	胡敏酸	8.9~11.8	17.4~24.8	42.4~50.2	17.9~22.6	0.45~0.73	[79]
美国东部新罕布什尔州	灰土	森林	胡敏酸, 富里酸	37.48	25.29	15.18	12.16	1.92, 1.28	[80]
埃塞俄比亚	火山灰土, 变性土, 淋溶土	森林, 草地	胡敏酸, 富里酸和胡敏素	18.1~43.2	16.8~33.6	0~9.1	29~60.6	0.73~2.07	[81]

注: 土壤分类的命名参考龚子同等^[41] Note: Refer to Gong et al.^[41] for nomenclature of soils

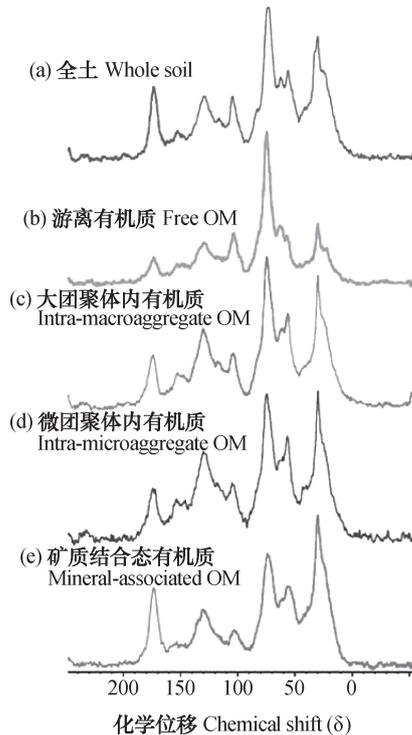


图3 全土与不同有机碳组分化学结构的¹³C核磁图谱示例^[37]

Fig. 3 ¹³C NMR spectra of chemical structure of organic carbon in bulk soil and different carbon fractions^[37]

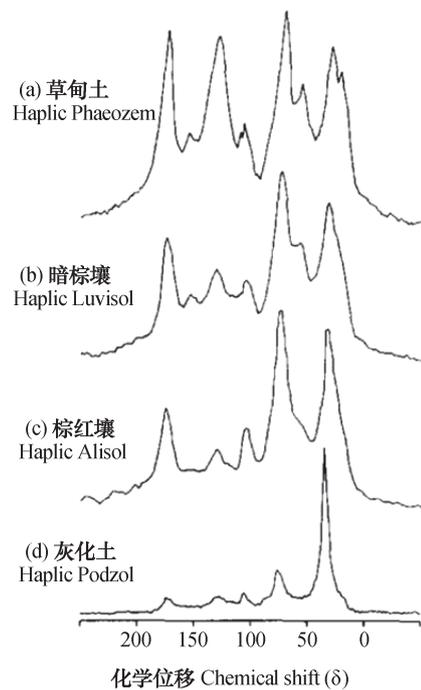


图4 ¹³C核磁共振技术测定的不同类型土壤黏粒有机碳化学结构图谱^[3]

Fig. 4 Solid-state ¹³C NMR spectra of the clay-size fraction obtained from different soil types^[3]

土和日本驻波县的火山灰土, 土壤HA的化学结构均在 $\delta = 57$ 的甲氧基碳和 $\delta = 73$ 的烷氧碳处表现出非常明显的双峰波谱, 但相对比例在土壤间有差异^[68, 71]。美国中部的新成土和东北部的普通灰化土HA中烷氧碳所占比例最多, 烷基碳比例在东北部的普通灰化土中高于中部的新成土。西班牙中部和东南部森林土壤的HA, 烷基碳所占比例最大, 其次为芳香碳、烷氧碳, 羧基羰基碳比例最少, 仅为7.0%~10.0%, 随着植物残体不断腐解, 土壤中抗性较强的烷基碳比例增加, 烷氧碳比例减少(表3, 图5)。澳大利亚热带雨林不同植被覆盖下土壤HA的化学结构中, 含有较低比例的芳香碳, 可能与热带地区降雨量过高有关, 强降水使纤维素中易溶解物质在进入土壤稳定性腐殖组分之前随降水流走或淋溶^[80]。非洲肯尼亚土壤胡敏酸的芳香度也与降水量呈负相关关系^[6]。西班牙土壤、日本驻波的火山灰土、中国台湾的脱潮土、中国内蒙古的栗钙土和中部平原的潮土HA中, 烷基碳所占比例最高。与美国和西班牙的土壤相比, 中国和日本土壤HA中, 羧基羰基碳的比例较高, 且日本

驻波的火山灰土和中国台湾的脱潮土HA的化学结构图谱比较相似(图5)。Cao等^[16]研究了美国爱荷华州农田土壤HA结构, 发现HA中含有大量的质子碳, 异头碳和烷氧中碳非质子化的比例较低, 且 $\delta = 64 \sim 44$ 处主要为含氮烷基而非甲氧基。Xu等^[67]在中国南方潮土的研究中也得到了类似的结果, 在 $\delta = 113 \sim 93$ 处除了异头碳外, 还含有一定的芳香碳, 施有机肥能增加该区域的芳香碳比例, 且主要以质子化芳香碳为主, 说明不同施肥处理的HA在腐殖化过程中形成的途径有所差异。

土壤腐殖化和植物凋落物的腐解过程除了受环境因子, 如温度、pH、土壤养分有效性等影响, 还受土壤微生物的调控作用。除了上述影响因子, 土壤自身属性、外源物的质量也至关重要。外源物的质量通过影响土壤微生物群落的组成、活性和分布, 控制着土壤有机质的矿化和腐殖化过程^[6, 81]。Quideau等^[65]研究发现, A/O-A比在植物凋落物、土壤游离态轻组、细粉粒、黏粒中逐渐增加, 符合土壤腐殖化程度逐渐增加的趋势。Chen和Chiu^[6]研究了台湾中部森林和草地土壤颗粒组分

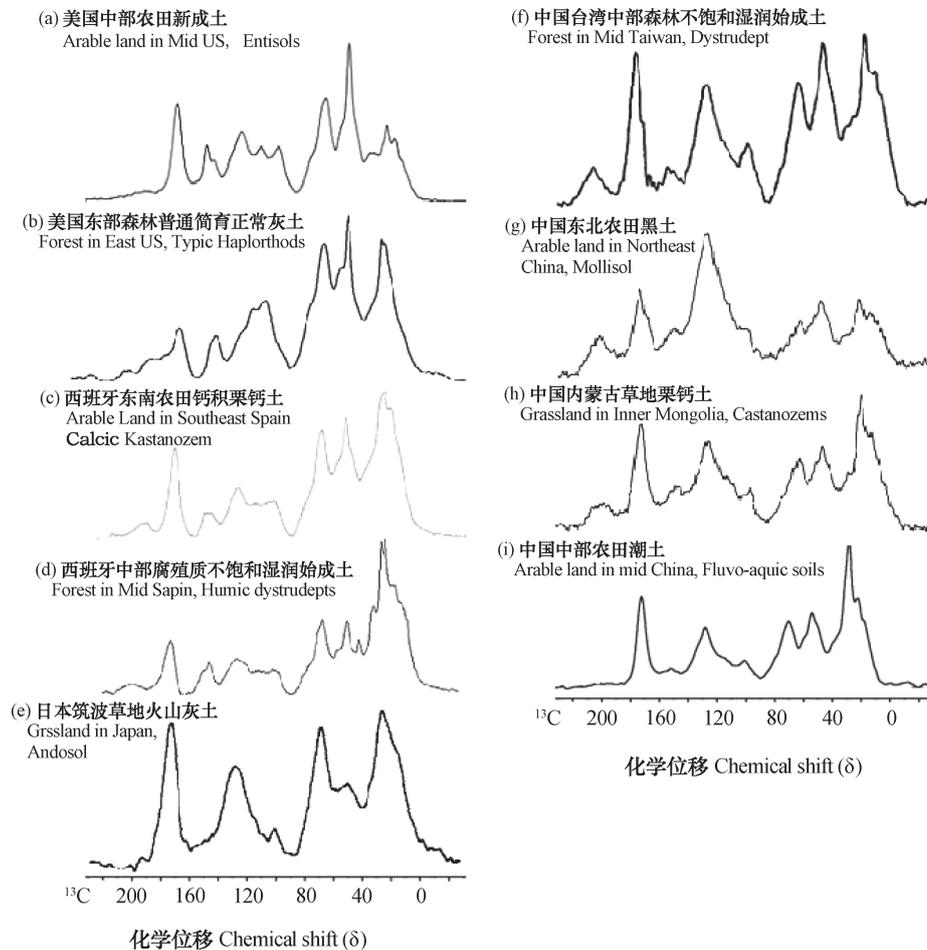


图 5 ^{13}C 核磁共振技术测定代表性土壤胡敏酸有机碳化学结构波谱 [16, 38, 65, 67, 70-74]

Fig. 5 ^{13}C NMR spectra of chemical structure of the typical humic acids worldwide [16, 38, 65, 67, 70-74]

有机碳的化学结构,发现A/O-A比随着粗颗粒、细砂、粉粒、细粉粒至黏粒的顺序增加,说明腐殖化程度在增加。森林土壤不同颗粒中A/O-A比大于草地土壤,说明森林土壤颗粒的腐殖化程度要高于草地生态系统,土壤有机质中碳组分的分异与地上植被变化是息息相关的。Zech等^[82]比较了温带和亚热带环境下土壤有机质的腐殖化过程,提出腐殖化过程中的化学途径是相似的,由于所处的环境因子,如温度、水分条件、土壤理化参数差别,使得土壤有机质的周转速率存在差异。其中,温度和湿度/降水指数主要影响全土的芳香化程度,但不涉及颗粒碳的芳香化程度。土壤有机碳的芳香碳比例随着粒径的减少而降低,说明有机碳的芳香化程度在逐渐降低。一些研究发现,烷基碳而非芳香碳是形成土壤稳定难降解腐殖物质的重要来源^[77]。凋落物在生物降解和腐殖化过程中,来源于可提取和结合态的类脂物,或者是植物体来源的生物聚酯物

和不可皂化脂肪类的生物大分子物质的含量增加,使得土壤有机碳中烷基碳比例增加^[62]。也有观点认为,凋落物降解和腐殖化过程中形成的稳定烷基碳物质是由于土壤微生物合成代谢选择性保留的结果。但由于土壤腐殖质本身的高度复杂性和特异性,加之外在环境条件的异质性,目前关于土壤腐殖物质形成和稳定机制方面的研究尚无定论,未来需要借助先进的分析技术,来揭示土壤学研究中的土壤腐殖质形成理论,探讨土壤形成和演变之谜。

5 研究展望

本文综述了应用 ^{13}C -NMR技术研究土壤有机质及不同组分中有机质的化学结构特征及其影响因素,由于土壤系统的开放性、复杂性和多变性,对土壤有机质化学结构的研究还需要进一步深入。笔者认为以下几方面研究在未来的工作中仍需加强:

1) 土壤有机质来源的定量化研究与生态学功能解读。土壤有机质来源广泛, 分解转化过程和途径复杂多变, 很容易受气候环境条件的影响, 依目前的研究技术和手段, 尚无法完全判明土壤有机质的化学组分究竟是来源于植物体自身的分解产物还是来源于微生物的二次代谢产物。如何准确分析、示踪外源有机物进入土壤有机碳的分子转化途径及其对于环境的响应特征, 阐明不同来源的有机碳对土壤碳库的稳定性和土壤肥力的生态学涵义, 将是未来研究的热点和难点。

2) 特定土壤微生物在土壤有机质分解和转化过程中的作用机制。土壤微生物在土壤有机碳形成和稳定化过程中起至关重要的作用, 对土壤有机碳结构和库的贡献可能远超预期。目前大多数研究停留在微生物群落或种群尺度的描述上, 土壤微生物与有机碳分子结构转换的耦合关系及其贡献程度尚不清楚, 且某些特定功能微生物对有机碳分解转化和碳库组分化学结构转化的定量分析尚缺乏, 还需深入研究。

3) 土壤有机质分子结构及其稳定性的物理、化学和生物学保护机制。土壤有机质稳定化过程受土壤生物、物理、化学调控耦合作用。如何定量描述不同分子结构、组织和较大团粒的选择性保留机制? 土壤团聚结构如何形成空间隔离, 使有机物质不能与微生物、酶和氧气接触而被降解? 有机物质如何胶结在不同黏土矿物颗粒组成和电性的矿物表面, 与黏土矿物形成难降解的稳定大分子结构? 这些方面研究还有待深入。

4) 区域大尺度环境因子/土壤生态过程与土壤有机碳化学结构的耦合作用。环境条件与土壤有机碳化学结构在空间尺度上存在差异, 如何将宏观大尺度环境过程与微观尺度土壤有机质的微生物化学过程相转换是目前研究难点。由于环境条件和土壤生态系统过程变化涉及多个影响因子, 且这些因子之间耦合作用与陆地其他圈层之间存在极复杂的正负反馈关系, 揭示土壤有机碳化学结构对多重环境和土壤生态系统变化的响应是未来研究的主要方向。

5) 多种土壤有机碳化学结构分析技术的开发及解读。目前, 核磁共振技术结合其他先进分析技术, 包括¹³C-微生物探针技术、热裂解气相色谱/质谱法等, 已被广泛应用于土壤有机质稳定性、不同

物理化学组分的保护机制、土壤有机碳与黏土矿物结合的稳定机制及以上过程中的生物化学和调控机制方面的研究中。然而, 这些技术或多或少存在一定缺陷, 如核磁共振技术仅能得到土壤有机质化学基团种类和相对比例信息, 很难深入研究其化学官能团之间的相互关系, 势必影响对有机质稳定性和生态学功能的认知。此外, 由于土壤有机质本身高度复杂性和不均一性, 如何将有机碳化学官能团与生态系统中的大分子化合物进行正确的判断和联系, 如何将分子尺度的官能团结构推测到土壤有机质的物质组成, 均需要建立更全面准确的数据辨识技术体系。发展新的技术方法、构建丰富完整的土壤有机碳化学分子结构数据库、提高化合物自动判读的精度与准度将是当前研究中面临的巨大挑战。

致 谢 感谢中国科学院东北地理与农业生态研究所隋跃宇研究员对文章表 2 和表 3 中关于土壤分类给予的指导和意见。

参 考 文 献

- [1] 潘根兴, 周萍, 李恋卿, 等. 固碳土壤学的核心科学问题与研究进展. 土壤学报, 2007, 44 (2): 327—337
Pan G X, Zhou P, Li L Q, et al. Core issue and research progresses of soil science of C sequestration (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2007, 44 (2): 327—337
- [2] Lal R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. Science, 2004, 304 (5677): 1623—1627
- [3] Kögel-Knabner I. ¹³C and ¹⁵N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. Geoderma, 1997, 80: 243—270
- [4] Mahieu N, Powlson D S, Randall E W. Statistical analysis of published carbon-13 CPMAS NMR spectra of soil organic matter. Soil Science Society of American Journal, 1999, 63: 307—319
- [5] 卓苏能, 文启孝. 核磁共振技术在土壤有机质研究中应用的新进展 (上). 土壤学进展, 1994, 22 (5): 46—52
Zhuo S N, Wen Q X. New advances in applying Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in soil organic matter (In Chinese). Progress in Soil Science, 1994, 22 (5): 46—52
- [6] Chen J S, Chiu C Y. Characterization of soil organic matter in different particle-size fractions in humid

- subalpine soils by CP/MAS ^{13}C NMR. *Geoderma*, 2003, 117 (1/2): 129—141
- [7] Schöning I, Kögel-Knabner I. Chemical composition of young and old carbon pools throughout Cambisol and Luvisol profiles under forests. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38 (8): 2411—2424
- [8] Barton D H R, Schnitzer M. A new experimental approach to the humic acid problem. *Nature*, 1963, 198: 217—218
- [9] Neyroud J A, Schnitzer M. The chemistry of high molecular weight fulvic acid fractions. *Canadian Journal of Chemistry*, 1972, 52: 4123—4132
- [10] Gonzalez-Vila F J, Lentz H, Liidemann H D. FT- ^{13}C nuclear magnetic resonance spectra of natural humic substances. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1976, 72: 1063—1070
- [11] Wilson M A, Pugmire R J, Zilm K W, et al. Cross-polarization ^{13}C NMR spectroscopy with ‘magic angle’ spinning characterizes organic matter in whole soils. *Nature*, 1981, 294: 648—650
- [12] Nelson P N, Baldock J A. Estimating the molecular composition of a diverse range of natural organic materials from solid-state ^{13}C NMR and elemental analyses. *Biogeochemistry*, 2005, 72 (1): 1—34
- [13] Mao J D, Hu W G, Schmidt-Rohr K, et al. Quantitative characterization of humic substances by solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. *Soil Science Society of America Journal*, 2000, 64 (3): 873—884
- [14] Mao J D, Olk D C, Fang X Y, et al. Influence of animal manure application on the chemical structures of soil organic matter as investigated by advanced solid-state NMR and FTIR spectroscopy. *Geoderma*, 2008, 146: 353—362
- [15] Mao J D, Chen N, Cao X Y. Characterization of humic substances by advanced solid state NMR spectroscopy: demonstration of a systematic approach. *Organic Geochemistry*, 2011, 42: 891—902
- [16] Cao X Y, Olk D C, Chappell M, et al. Solid-state NMR analysis of soil organic matter fractions from integrated physical-chemical extraction. *Soil Science Society of America Journal*, 2011, 75 (4): 1374—1384
- [17] Angst Š, Mueller C W, Cajthaml T, et al. Stabilization of soil organic matter by earthworms is connected with physical protection rather than with chemical changes of organic matter. *Geoderma*, 2017, 289: 29—35
- [18] Soucémarianadin L N, Erhagen B, Nilsson M B, et al. Two dimensional NMR spectroscopy for molecular characterization of soil organic matter: Application to boreal soils and litter. *Organic Geochemistry*, 2017, 113: 184—195
- [19] 李昌明, 王晓玥, 孙波. 基于固态 ^{13}C 核磁共振波谱研究植物残体分解和转化机制的进展. *土壤*, 2017, 49 (4): 658—664
- Li C M, Wang X Y, Sun B. Advances in studying mechanisms of plant residue decomposition and turnover based on solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy (In Chinese). *Soils*, 2017, 49 (4): 658—664
- [20] Skjemstad J O, Frost R L, Barron P F. Structural units in humic acids from southeastern Queensland soils as determined by ^{13}C -NMR spectroscopy. *Australian Journal of Soil Research*, 1983, 21: 539—547
- [21] Kögel-Knabner I. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34 (2): 139—162
- [22] von Lützw M, Kögel-Knabner I, Ekschmitt K, et al. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions—a review. *European Journal of Soil Science*, 2006, 57: 426—445
- [23] Pisani O, Haddix M, Conant R, et al. Molecular composition of soil organic matter with land-use change along a bi-continental mean annual temperature gradient. *Science of the Total Environment*, 2016, 573: 470—480
- [24] Speilvogel S, Knicker H, Knabner-Kögel I. Soil organic matter composition and soil lightness. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2004, 167: 545—555
- [25] Pedersen J A, Simpson M A, Bockheim J G, et al. Characterization of soil organic carbon in drained thaw-lake basins of Arctic Alaska using NMR and FTIR photoacoustic spectroscopy. *Organic Geochemistry*. 2011, 42: 947—954
- [26] Zhang M, Schaefer D A, Chan O C, et al. Decomposition differences of labile carbon from litter to soil in a tropical rain forest and rubber plantation of Xishuangbanna, southwest China. *European Journal of Soil Biology*, 2013, 55: 55—61
- [27] 郭素春, 郁红艳, 朱雪竹, 等. 长期施肥对潮土团聚体有机碳分子结构的影响. *土壤学报*, 2013, 50

- (5): 922—930
- Guo S C, Yu H Y, Zhu X Z, et al. Effect of long term fertilization on molecular structure of organic carbon in soil aggregates in Fluvo-Aquic soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2013, 50 (5): 922—930
- [28] Zhou Z G, Cao X Y, Schmidt-Rohr Klaus, et al. Similarities in chemical composition of soil organic matter across a millennia-old paddy soil chronosequence as revealed by advanced solid-state NMR spectroscopy. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50: 571—581
- [29] Li Y C, Li Y F, Chang S X, et al. Linking soil fungal community structure and function to soil organic carbon chemical composition in intensively managed subtropical bamboo forests. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 107: 19—31
- [30] Pisani O, Hills K M, Courtier-Murias D, et al. Molecular level analysis of long term vegetative shifts and relationships to soil organic matter composition. *Organic Geochemistry*, 2013, 62: 7—16
- [31] He Y T, He X H, Xu M G, et al. Long-term fertilization increases soil organic carbon and alters its chemical composition in three wheat-maize cropping sites across central and south China. *Soil & Tillage Research*, 2018, 177: 79—87
- [32] Mendham D S, Mathers N J, O'Connell A M, et al. Impact of land-use on soil organic matter quality in south-western Australia - characterization with ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34: 1669—1673
- [33] Faz Cano A, Mermut A R, Ortiz R, et al. ¹³C CP/MAS NMR spectra of organic matter as influenced by vegetation, climate, and soil characteristics in soils from Murcia, Spain. *Canadian Journal of Soil Science*, 2002, 82 (4): 403—411
- [34] Lima D L D, Santos S M, Scherer H W, et al. Effects of organic and inorganic amendments on soil organic matter properties. *Geoderma*, 2009, 150: 38—45
- [35] Erhagen B, Öquist M, Sparrman T, et al. Temperature response of litter and soil organic matter decomposition is determined by chemical composition of organic material. *Global Change Biology*, 2013, 19 (12): 3858—3871
- [36] Dümig A, Smittenberg R, Kögel-Knabner I. Concurrent evolution of organic and mineral components during initial soil development after retreat of the Damma glacier, Switzerland. *Geoderma*, 2011, 163: 83—94
- [37] Courtier-Murias D, Simpson A J, Marzadori C, et al. Unraveling the long-term stabilization mechanisms of organic materials in soils by physical fractionation and NMR spectroscopy. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 2013, 171: 9—18
- [38] Ussiri D A N, Johnson C E. Characterization of organic matter in a northern hardwood forest soil by ¹³C NMR spectroscopy and chemical methods. *Geoderma*, 2003, 111: 123—149
- [39] Veum K S, Goynes K W, Kremer R J, et al. Biological indicators of soil quality and soil organic matter characteristics in an agricultural management continuum. *Biogeochemistry*, 2014, 117 (1): 81—99
- [40] Solomon D, Lehmann J, Kinyangi J, et al. Long-term impacts of anthropogenic perturbations on dynamics and speciation of organic carbon in tropical forest and subtropical grassland ecosystems. *Global Change Biology*, 2007, 13: 511—530
- [41] 龚子同, 陈志诚, 张甘霖. 世界土壤资源参比基础 (WRB): 建立和发展. *土壤*, 2003, 35 (4): 271—278
- Gong Z T, Chen Z C, Zhang G L. World reference base for soil resources (WRB): Establishment and development (In Chinese). *Soils*, 2003, 35 (4): 271—278
- [42] Dungait J A J, Kemmitt S J, Michallon L, et al. Variable response of the soil microbial biomass to trace concentrations of ¹³C-labeled glucose, using ¹³C-PLFA analysis. *European Journal of Soil Science*, 2011, 62 (1): 117—126
- [43] Six J, Frey S D, Thiet R K, et al. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society of American Journal*, 2006, 70: 555—569
- [44] Amelung W, Brodowski S, Sandhage-Hofmann A, et al. Combining biomarker with stable isotope analyses for assessing the transformation and turnover of soil organic matter. *Advances in Agronomy*, 2008, 100: 155—250
- [45] Baldock J A, Oades J M, Waters A G, et al. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ¹³C NMR spectroscopy. *Biogeochemistry*, 1992, 16: 1—42
- [46] Chen X, Xu Y J, Gao H J, et al. Biochemical stabilization of soil organic matter in straw-amended, anaerobic and aerobic soils. *Science of the Total Environment*, 2018, 625: 1065—1073

- [47] Guggenberger G, Zech W, Haumaier L, et al. Land use effects on the composition of organic matter in particle size separates of soil. II. CPMAS and solution ^{13}C NMR analysis. *European Journal of Soil Science*, 1995, 46: 147—158
- [48] Clemente J S, Simpson M J, Simpson A J, et al. Comparison of soil organic matter composition after incubation with maize leaves, roots, and stems. *Geoderma*, 2013, 192: 86—96
- [49] Wang X Y, Sun B, Mao J D, et al. Structural convergence of maize and wheat straw during two-year decomposition under different climate conditions. *Environmental Science and Technology*, 2012, 46: 7159—7165
- [50] Mathers N J, Xu Z. Solid-state ^{13}C NMR spectroscopy: characterization of soil organic matter under two contrasting residue management regimes in a 2-year-old pine plantation of subtropical Australia. *Geoderma*, 2003, 114 (1) : 19—31
- [51] Stewart C E, Neff J C, Amatangelo K L, et al. Vegetation effects on soil organic matter chemistry of aggregate fractions in a Hawaiian forest. *Ecosystems*, 2011, 14 (3) : 382—397
- [52] Steffens M, Kolbl E, Schork E, et al. Distribution of soil organic matter between fractions and aggregate size classes in grazed semiarid steppe soil profiles. *Plant and Soil*, 2011, 338 (1/2) : 63—81
- [53] Helfrich M, Ludwig B, Buurman P, et al. Effect of land use on the composition of soil organic matter in density and aggregate fractions as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. *Geoderma*, 2006, 136: 331—341
- [54] 周萍, Piccolo A, 潘根兴, 等. 三种南方典型水稻土长期试验下有机碳积累机制研究 Ⅲ. 两种水稻土颗粒有机质结构特征的变化. *土壤学报*, 2009, 46 (3) : 398—405
Zhou P, Piccolo A, Pan G X, et al. SOC enhancement in three major typed of paddy soils in a long-term agro-ecosystem experiment in South China Ⅲ. Structural variation of particulate organic matter of two paddy soils (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2009, 46 (3) : 398—405
- [55] Golchin A, Oades J M, Skjemstad J O, et al. Soil structure and carbon cycling. *Australian Journal of Soil Research*, 1994, 32: 1043—1068
- [56] Kögel-Knabner I, Guggenberger G, Kleber M, et al. Organo-mineral associations in temperate soils: integrating biology, mineralogy, and organic matter chemistry. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2008, 171: 61—82
- [57] Liang C, Schimel J P, Jastrow J D. The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17105. doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.105
- [58] Simpson A J, Simpson M J, Smith E, et al. Microbially derived inputs to soil organic matter: are current estimates too low? *Environmental Science and Technology*, 2007, 41: 8070—8076
- [59] Miltner A, Kindler R, Knicker H, et al. Fate of microbial biomass-derived amino acids in soil and their contribution to soil organic matter. *Organic Geochemistry*, 2009, 40: 978—985
- [60] Panettieri M, Knicker H, Berns A E, et al. Moldboard plowing effects on soil aggregation and soil organic matter quality assessed by ^{13}C CPMAS NMR and biochemical analyses. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2013, 177: 48—57
- [61] Leifeld J, Kögel-Knabner I. Soil organic matter fractions as early indicators for carbon stock changes under different land-use? *Geoderma*, 2005, 124: 143—155
- [62] Mastrodonato G, Rumpel C, Forte C, et al. Abundance and composition of free and aggregate-occluded carbohydrates and lignin in two forest soils as affected by wildfires of different severity. *Geoderma*, 2015, 245/246: 40—51
- [63] Kölbl A, Kögel-Knabner I. Content and composition of free and occluded particulate organic matter in a differently textured arable Cambisol as revealed by ^{13}C NMR spectroscopy. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2004, 167: 45—53
- [64] He Y, Chen C R, Xu Z H, et al. Assessing management impacts on soil organic matter quality in subtropical Australian forests using physical and chemical fractionation as well as ^{13}C NMR spectroscopy. *Soil Biology & Biochemistry* 2009, 41: 640—650
- [65] Quideau S A, Chadwick O A, Benesi A, et al. A direct link between forest vegetation type and soil organic matter composition. *Geoderma*, 2001, 104 (1) : 41—60
- [66] Boeni M, Bayer C, Dieckow J, et al. Organic matter composition in density fractions of Cerrado Ferralsols as revealed by CPMAS ^{13}C NMR: Influence of pastureland, cropland and integrated crop-livestock. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2014, 190: 80—86
- [67] Xu J S, Zhao B Z, Chu W Y, et al. Chemical

- nature of humic substances in two typical Chinese soils (upland vs paddy soil): A comparative advanced solid state NMR study. *Science of the Total Environment*, 2017, 576: 444—452
- [68] 张晋京, 窦森, 朱平, 等. 长期施用有机肥对黑土胡敏素结构特征的影响—固态¹³C核磁共振研究. *中国农业科学*, 2009, 42 (6): 2223—2228
Zhang J J, Dou S, Zhu P, et al. Effect of long-term application of organic fertilizer on structural characteristics of humin in black soil—A solid-state ¹³C NMR study (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42 (6): 2223—2228
- [69] Zhang J J, Dou S, Song X Y. Effect of long-term combined nitrogen and phosphorus fertilizer application on ¹³C CPMAS NMR spectra of humin in a typic Hapludoll of northeast China. *European Journal of Soil Science*, 2009, 60: 966—973
- [70] 郑殷恬, 赵红, 赵楠, 等. 黑土、栗钙土和潮土胡敏酸分子结构的差异性分析. *土壤*, 2011, 43 (5): 804—808
Zheng Y T, Zhao H, Zhao N, et al. Molecular structure differences of humic acid in black soil, Chestnut soil and Fluvo-aquic soil (In Chinese). *Soils*, 2011, 43 (5): 804—808
- [71] Golchin A, Clarke P, Baldock J A, et al. The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter in a volcanic ash soil as shown by ¹³C NMR spectroscopy. I. Whole soil and humic acid fraction. *Geoderma*, 1997, 76: 155—174
- [72] Iimura Y, Fujimoto M, Hirota M, et al. Effects of ecological succession on surface mineral horizons in Japanese volcanic ash soil. *Geoderma*, 2010, 159: 122—130
- [73] Song G X, Novotny E H, Mao J D, et al. Characterization of transformations of maize residues into soil organic matter. *Science of the Total Environment*, 2017, 579: 1843—1854
- [74] Duarte R M B O, Fernández-Getino A P, Duarte C. Humic acids as proxies for assessing different Mediterranean forest soils signatures using solid-state CPMAS ¹³C NMR spectroscopy. *Chemosphere*, 2013, 91: 1556—1565
- [75] Spaccini R, Mbagwu J S C, Conte P, et al. Change of humic substances characteristics from forested to cultivated soils in Ethiopia. *Geoderma*, 2006, 132: 9—19
- [76] Christensen B T. Carbon in primary and secondary organomineral complexes//Carter M R, Stewart B A. Eds. *Structure and organic matter storage in agricultural soils. Advances in Soil Science*, Boca Raton: CRC Lewis Publishers, 1996: 97—165
- [77] Kögel I, Hempfling R, Zech W, et al. Chemical composition of the organic matter in forest soils 1. Forest litter. *Soil Science*, 1988, 146: 124—136
- [78] Jindo K, Hernández T, García C, et al. Influence of stability and origin of organic amendments on humification in semiarid soils. *Soil Science Society of American Journal*, 2011, 75: 2178—2187
- [79] 朱青藤, 申连玉, 钱黎慧, 等. 有机物料对白土土壤胡敏酸结构特征的影响. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21 (2): 396—403
Zhu Q T, Shen L Y, Qian L H, et al. Effects of organic material application on the structures of humic acids in low yield paddy soil (In Chinese). *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2015, 21 (2): 396—403
- [80] Preston C M. Using NMR to characterize the development of soil organic matter with varying climate and vegetation. *Stable isotopes in plant nutrition, soil fertility and environmental studies//Proceedings of an International Symposium on the use of Stable Isotopes in Plant Nutrition*. Vienna, 1991: 27—36
- [81] Almendros G, Dorado J, Gonzalez-Vila F J, et al. ¹³C NMR assessment of decomposition patterns during composting of forest and shrub biomass. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 793—804
- [82] Zech W, Hempfling R, Haumaier L, et al. Humification in subalpine Rendzinas: Chemical analysis, IR and ¹³C NMR spectroscopy and pyrolysis—field ionization mass spectrometry. *Geoderma*, 1990, 47: 123—138

Advancement in Research on Application of ^{13}C NMR Techniques to Exploration of Chemical Structure of Soil Organic Matter

LI Na¹ SHENG Ming^{1,2} YOU Mengyang¹ HAN Xiaozeng^{1†}

(1 *Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China*)

(2 *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

Abstract The knowledge about chemical structure of soil organic matter (SOM) is crucial to accurate assessment of stability and function of SOM in the soil ecosystem. In the study on chemical structure of soil organic matter, the technology of solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy possesses a unique advantage of being capable of depicting chemical structure of nature soil organic matter, nondestructively and state-of-the-artly. Although extensive studies have been carried out on stability and molecular structure of SOM at a regional-climatic belt and ecosystem-community scale, little has been documented about chemical characteristics of SOM and its relationships with environmental factors at the global scale. This study presents a review on uses of the ^{13}C NMR technology in determining chemical structures of organic carbons in bulk soil, soil aggregates, density fractions and humus components, and analyzes factors that alter the chemical structure of SOM. Organic carbons in bulk soils, regardless climate conditions, type of vegetation, land use pattern, soil type and content of organic carbon in the soil, were quite similar in chemical structure, all being the highest in O-alkyl C, which was followed by alkyl C, aromatic C, and carbonyl C in the end. It is widely accepted that soil organic carbon is mainly derived from plant residues, which are quite similar in chemical structure, so that soil organic carbons are similar in chemical structure, too. Differences in environment condition, soil property and microbial activity may cause some variations, but very minor, of the chemical structure of soil organic carbon, and the variations in soil particles and chemical components of the soil are quite significant. O-alkyl C abundance of the organic carbon is the highest in large-sized soil particles, while alkyl and carbonyl C are in small-sized or mineral associated particles. Chemical structure of organic carbon in silt-clayed particles and humic acid components vary quite sharply between soils different in type. Future researches should focus on quantitative analysis of SOM sources, contribution of soil microbes to the composition of SOM and stability of its structure and regulatory mechanisms, biophysico-chemical protection mechanisms of soil organic carbon stability, coupling mechanisms of spatial large-scaled environmental factors/soil ecological processes with microscopic scaled molecular structure of soil organic carbon, and interdisciplinary means and techniques to determine chemical structure of soil organic carbon.

Key words Soil organic matter; ^{13}C -NMR; Chemical function groups; Density fractions; Humic substances

(责任编辑: 陈荣府)