

张文强,单保庆,张洪,等. 2014. 基于液相³¹P核磁共振技术的河流沉积物有机磷提取剂选择研究[J]. 环境科学学报, 34(1):194-201

Zhang W Q, Shan B Q, Zhang H, et al. 2014. Characterization and optimization of the extractants for solution ³¹P-nuclear magnetic resonance (³¹P-NMR) analysis of organic phosphorus in river sediments[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 34(1):194-201

基于液相³¹P核磁共振技术的河流沉积物有机磷提取剂选择研究

张文强^{1,2}, 单保庆^{1,*}, 张洪¹, 唐文忠¹

1. 中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室, 北京 100085

2. 中国科学院大学, 北京 100049

收稿日期: 2013-04-11

修回日期: 2013-05-24

录用日期: 2013-05-28

摘要:以高磷污染河流沉积物为研究对象,利用液相³¹P核磁共振(³¹P-NMR)技术研究了沉积物中有机磷提取剂的选择和提取过程.结果表明:前提取以BD和EDTA效果最佳,TP和Po的提取量分别为(322.87 ± 13.81)和(119.76 ± 16.00) mg·kg⁻¹、(24.91 ± 15.25)和(20.90 ± 2.58) mg·kg⁻¹,2种提取剂均促进了NaOH的提取效率,前提取后NaOH提取液中TP和Po的提取量分别达到(2271.20 ± 75.63)和(2477.40 ± 112.71) mg·kg⁻¹、(152.04 ± 1.55)和(186.93 ± 20.53) mg·kg⁻¹;对顺磁性离子Fe和Mn而言,利用BD和EDTA + Na₂S₂O₄作为前提取剂可以提取更多的Fe离子,提取液中的浓度分别为(5116.57 ± 24.32)和(10677 ± 215.61) mg·kg⁻¹;EDTA和EDTA + Na₂S₂O₄提取剂对Mn的去除效率较高,提取液中浓度分别为(243.02 ± 2.80)和(266.61 ± 1.61) mg·kg⁻¹.液相³¹P-NMR图谱显示,上述提取剂处理后均可得到正磷酸盐、焦磷酸、磷酸单酯、磷脂和DNA 5种磷形态,其中EDTA可提高沉积物中正磷酸盐、焦磷酸盐、磷脂和DNA的含量.综合考虑,利用EDTA和NaOH两步提取可实现较高的Po提取量和较低的顺磁性离子干扰,并得到理想的核磁共振图谱,从而保证沉积物中有机磷液相³¹P-NMR分析的科学性和有效性.

关键词:有机磷;沉积物;³¹P核磁共振;提取剂

文章编号:0253-2468(2014)01-194-08

中图分类号:X17

文献标识码:A

Characterization and optimization of the extractants for solution ³¹P-nuclear magnetic resonance (³¹P-NMR) analysis of organic phosphorus in river sediments

ZHANG Wenqiang^{1,2}, SHAN Baoqing^{1,*}, ZHANG Hong¹, TANG Wenzhong¹

1. State Key Laboratory on Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

Received 11 April 2013;

received in revised form 24 May 2013;

accepted 28 May 2013

Abstract: A two-step extraction using different extractants was studied on the phosphorus (P) pollution river sediments by solution ³¹P-NMR. Pre-extraction using BD or EDTA all increased TP and Po extraction amounts in NaOH post-extraction, which were (2271.20 ± 75.63) and (2477.40 ± 112.71) mg·kg⁻¹ for TP, and (152.04 ± 1.55) and (186.93 ± 20.53) mg·kg⁻¹ for Po. Moreover, the extractants (BD or EDTA + Na₂S₂O₄) increased Fe extraction amounts in pre-extraction, reaching (5116.57 ± 24.32) and (10677 ± 215.61) mg·kg⁻¹, respectively, while EDTA or EDTA + Na₂S₂O₄ increased Mn extraction amounts in pre-extraction, reaching (243.02 ± 2.80) and (266.61 ± 1.61) mg·kg⁻¹, respectively. Five P species, including orthophosphate (ortho-P), pyrophosphate (pyro-P), orthophosphate monoesters (mono-P), phospholipids (lipids-P) and deoxyribonucleic acids (DNA-P), were all detected in different extractions, and the EDTA pre-extraction could increase the concentrations of ortho-P, pyro-P, lipids-P and DNA-P. The results showed that the two-step extraction using EDTA and NaOH could increase TP and Po extraction amounts in post-

基金项目: 国家自然科学基金(No. 20907067, 21107126); 国家水体污染控制与治理重大专项(No. 2012ZX07203-006)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 20907067, 211071260) and the National Water Pollution Control and Management Technology Major Projects of China (No. 2012ZX07203-006)

作者简介: 张文强(1982—),男,E-mail: wenqiang100@gmail.com; * 通讯作者(责任作者), E-mail: bqshan@cees.ac.cn

Biography: ZHANG Wenqiang(1982—), male, E-mail: wenqiang100@gmail.com; * **Corresponding author**, E-mail: bqshan@cees.ac.cn

extract and Fe and Mn extraction amounts in pro-extract, which optimized ³¹P-NMR spectroscopy for Po analysis.

Keywords: organic phosphorus; sediment; ³¹P-NMR; extractant

1 引言(Introduction)

核磁共振(NMR)技术是现代科学中用途广泛的分析工具,它可以快速准确的用于土壤、动植物组织、沉积物等环境样品的分析,该技术检测尺度和使用范围较广(Cardoza *et al.*, 2004; Simpson *et al.*, 2010; Simpson *et al.*, 2012).自然界中的磷仅有一种稳定同位素(³¹P),其原子核质量数为奇数,原子核的自旋量子数为半整数,所以在外加磁场条件下可以产生核磁共振现象(Liang and Blake., 2006; Kuhl., 2008).虽然³¹P-NMR技术被应用于环境样品有机磷分析,但有机磷提取效率较低和核磁共振图谱质量不高等问题仍有待于进一步提高和完善(Cade-Menun., 2005).

有机磷是土壤及河湖沉积物的重要组成部分,在沼泽、土壤及湖泊沉积物中可以占到10%~90%(Hesse, 1962; Sommers *et al.*, 1972; Stevenson, 1982).对有机磷的研究有助于人们深入认识磷的生物地球化学循环过程及其环境效应.传统的有机磷分析方法基于不同有机磷组分在酸碱提取液中的溶解性进行分离(Bowman, 1989; Pierzynski, 2004).这些方法虽然可以为认识磷在环境中的转化过程提供信息,但不能区分有机磷的组分及各组分在转化过程中的作用及影响因素,从而制约了人们对有机磷的深入研究.液相³¹P-NMR技术最低检出限较高,在进行分析前必须对环境样品的有机磷进行浓缩处理.而土壤样品具有复杂的物理化学性质,且含有铁锰等顺磁性离子,这些因素会影响核磁共振分析的效率.为了达到既能获得理想的有机磷提取效率,又可以降低提取液中的顺磁性离子(Fe³⁺、Mn²⁺等)干扰的目的,一些学者尝试用不同提取剂进行有机磷提取,主要包括NaOH(Ahlgren *et al.*, 2005)、离子交换树脂(Adams and Byrne, 1989)、螯合剂+NaOH(Gressel *et al.*, 1996)、NaOH+NaF(Sumann *et al.*, 1998)、NaHCO₃(Makarov *et al.*, 2002)、BD(Reitzel *et al.*, 2006)、H₂SO₄(Makarov *et al.*, 2002)和EDTA+NaOH(Cademenu *et al.*, 2000; Koopmans *et al.*, 2007)等.在提取过程选择上包括一步提取和多步提取等(Bai *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009).以上提取剂最初被应用于土壤样品分析,而沉积物有机磷的提取和

分析完全借鉴于土壤科学.目前仍然缺乏以高磷含量的河流沉积物为研究对象,进行有机磷核磁共振分析的研究.

本研究以磷污染较为严重的海河流域滏阳新河沉积物为研究对象,参照文献报道并结合目标沉积物理化特性,分别选择BD、EDTA、EDTA+Na₂S₂O₄、C₄O₆H₄KNa·4H₂O、Na₂S·9H₂O和NaOH为提取剂,采用两步提取的方式,利用液相³¹P-NMR技术系统评估不同提取剂和提取方式对沉积物样品总磷、有机磷、金属离子和核磁共振图谱质量的影响,以期在选择和优化理想沉积物有机磷提取剂和提取方式的基础上,探索沉积物有机磷的提取机理.本研究结果将为构建科学和普适的环境样品有机磷分析方法体系提供重要参考.

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 样品采集与处理

样品采集自海河流域滏阳新河,滏阳新河是子牙河水系的重要河流,开挖自20世纪60年代,主要用于分流滏阳河、醴河等的洪水.随着沿河社会经济的发展,大量污水进入滏阳新河,导致河水水质下降.自滏阳新河上游至下游共布设5个样点(1:37.500°N, 115.058°E; 2:37.681°N, 115.665°E; 3:37.827°N, 115.862°E; 4:37.930°N, 115.967°E; 5:38.117°N, 116.075°E),利用彼得逊采泥器采集表层约5cm沉积物样品.将样品用密封自封袋保存,带回实验室利用冷冻干燥机冷干样品.剔除沉积物样品中的杂质后将5个样品均匀混合,四分法取部分样品研磨,研磨样品过筛用于试验分析.

2.2 沉积物物理化学性质分析

样品分析指标包括pH、有机质(OM)、总磷(TP)、有机磷(Po)、铁(Fe)、锰(Mn)、铝(Al)、钙(Ca)、镁(Mg).pH:去CO₂水与过20目筛沉积物以2.5:1的水土比混合后pH计测定(Bai *et al.*, 2009);TP和Po:TP的提取,将沉积物样品置于马弗炉中500℃处理2h,样品在干燥皿中放置常温后使用1mol·L⁻¹HCl提取16h,沉积物无机磷(Pi)直接利用1mol·L⁻¹HCl提取16h,采用钼酸盐比色法分别测定提取液中的TP和Pi,沉积物有机磷(Po)为总磷和无机磷的差值(Aspila *et al.*, 1976);OM:采用烧蚀法测定,将去除水分的沉积物样品置于马弗

炉中 550 °C 处理 4 h, 灼烧前后的质量差值即为 OM (Jensen *et al.*, 1992); 金属离子测定: 沉积物样品取 0.1 g 过 100 目筛后利用微波消解仪消解 (MARSXpress, CEM, USA), 消解液为 HNO₃-HCl-HF, 样品消解完全后加 1 滴 HClO₄ 赶酸, 利用 ICP-OES/MS 测定 (USEPA, 2007; Wen *et al.*, 2012).

2.3 沉积物 Po 提取与液相³¹P-NMR 分析

参照相关文献报道的基础上, 分别利用 BD、EDTA 和 Na₂S·9H₂O 等提取剂进行提取实验 (表 1). 提取剂分别选择 BD (0.11 mol·L⁻¹ NaHCO₃ + 0.11 mol·L⁻¹ Na₂S₂O₄), EDTA (50 mmol·L⁻¹), EDTA (50 mmol·L⁻¹ + Na₂S₂O₄ (2%, g/mL), C₄O₆H₄KNa·4H₂O (0.1 mol·L⁻¹), Na₂S·9H₂O (0.1 mol·L⁻¹), NaOH (0.25 mol·L⁻¹). 提取过程分为两步: 分别称取 6 份等量 (5 g) 沉积物置于 50 mL 离心

管, 前 5 个样品分别依次加入前 5 种提取剂, 提取比例为 1:10, 室温、240 r·min⁻¹ 下振荡 2 h, 振荡结束后将离心管置于冷冻离心机中 4 °C 条件下 8000 r·min⁻¹ 离心 30 min. 过滤上清液用于 TP、Po 及金属离子检测, 剩余沉积物与第 6 个样品一同加入 0.25 mol·L⁻¹ NaOH 溶液 (浸提比例为 1:10), 室温、240 r·min⁻¹ 下振荡 16 h. 振荡结束后置于冷冻离心机 4 °C 条件下 8000 r·min⁻¹ 离心 30 min. 过滤弃去沉积物残渣, 过滤液部分用于 TP、Po 及金属离子检测, 剩余提取液冷冻干燥待用. 2 次提取液稀释用于不同元素分析: TP 测定需要首先利用过硫酸钾高温消解, 提取液 Po 为 TP 和 Pi 的差值, TP 和 Pi 含量采用化学分析仪测定含量 (型号: SmartChem200; 厂商: 德国 AMS); 金属离子利用 ICP-OES/MS 分析; 剩余提取液冷冻干燥机冷干至粉末, 冷藏待用.

表 1 沉积物有机磷提取剂及提取过程

Table 1 Extractants and extract procedure of Po in river sediments

编号	前提取液	提取液 pH	提取过程	提取溶液	提取过程
1	BD	7.06	1:10 浸提比, 室温 240 转振荡 2		
2	EDTA	4.66	h, 4 °C 8000 r·min ⁻¹ 离心 30		
3	EDTA + Na ₂ S ₂ O ₄	3.37	min, 过滤沉积物加入提取剂	NaOH	1:10 浸提比, 室温、240 r·min ⁻¹ 下
4	C ₄ O ₆ H ₄ KNa·4H ₂ O	7.30	提取		振荡 16 h, 4 °C, 8000 r·min ⁻¹ 离心
5	Na ₂ S·9H ₂ O	12.80			30 min, 过滤, 上清液冷干, 用于
6		13.20		NaOH	NMR 分析

注: 参考文献: Ahlgren *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2009; Bai *et al.*, 2009; 4 本研究; 5 本研究; 6 Turner *et al.*, 2005.

液相³¹P-NMR 磷最低检出限较高, 为了保证不同提取液提取后核磁共振分析可以获得理想的图谱, 用 0.1 mL 10 mol·L⁻¹ NaOH + 0.6 mL D₂O 的混合溶液溶解 300 mg 冷冻样品. 混合溶液超声处理 30 min, 超声结束后静止平衡 5 min, 平衡结束后样品溶液 14000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 上清液转移至核磁共振管检测. 检测仪器为瑞士 BRUKER 公司生产的 BRUKER AV400 核磁共振仪. 采用 BRUKER 标准腔 5 mm 的 BBO 探头, ³¹P 谱的脉冲 P1 = 12.00 usec, 脉冲功率 PL1 = 3.00 dB, ³¹P 的共振频率为 129.534 Hz, 循环延迟 dl = 2 s, 扫描 20000 次左右, 测定温度为 20 °C. 化学位移均参照 85% 的 H₃PO₄, 样品检测所得峰值参考已发表文献确定不同成分化学位移的组成 (Turner *et al.*, 2003; Cade-Menun., 2005), 对不同组分图谱进行积分, 用于计算沉积物中不同组分有机磷的含量.

3 结果与讨论 (Results and discussion)

3.1 沉积物物理化学特征

沉积物样品基本理化性质如表 2 所示. 点面源污染物排放的加剧增加了河流沉积物磷的累积, 本研究样品沉积物总磷高达 (4228.86 ± 98.11) mg·kg⁻¹, 其中有机磷含量为 (535.35 ± 23.09) mg·kg⁻¹, 有机磷占到沉积物总磷的 12.66%; 沉积物 OM 值较高, 为 12.09% ± 1.18%. 濠阳新河沿岸农田广布、人口密集、城镇化进程加快, 产生了大量的工农业及生活污水, 污水携带了大量污染物进入河流, 导致河流沉积物有机质含量较高, 这一现象在海河流域较为普遍 (Qu and Kroeze, 2010; Pernet-Coudrier *et al.*, 2012); 沉积物 pH 为 7.25 ± 0.31, 呈弱碱性; 濠阳新河沉积物 Fe、Al 离子浓度高于 Ca 离子, Fe、Mn、Al、Ca、Mg 的离子浓度分别为 (57.59 ± 1.23)、(0.63 ± 0.11)、(27.12 ± 2.76)、(14.15 ± 2.87) 和 (3.90 ± 0.66) g·kg⁻¹, 为典型的 Fe/Al 型沉积物.

表 2 河流沉积物理化性质

Table 2 Properties of the sediments used in this study

pH	OM	Total P /(mg·kg ⁻¹)	Total Po /(mg·kg ⁻¹)	Fe /(g·kg ⁻¹)	Mn /(g·kg ⁻¹)	Al /(g·kg ⁻¹)	Ca /(g·kg ⁻¹)	Mg /(g·kg ⁻¹)
7.25 ± 0.31	12.09% ± 1.18%	4228.86 ± 98.11	535.35 ± 23.09	57.59 ± 1.23	0.63 ± 0.11	27.12 ± 2.76	14.15 ± 2.87	3.90 ± 0.66

3.2 总磷(TP)和有机磷(Po)提取效率分析

不同提取剂前提取处理 TP 和 Po 的提取效率差异较大(图 1)。EDTA + Na₂S₂O₄ 提取的 TP 量最大为(1160.52 ± 32.00) mg·kg⁻¹, 其次为 Na₂S·9H₂O 提取的 TP 量为(846.34 ± 18.18) mg·kg⁻¹, BD 和 C₄O₆H₄KNa·4H₂O 提取的 TP 量分别为(322.87 ± 13.82)和(306.42 ± 5.09) mg·kg⁻¹, EDTA 前提取液中的 TP 含量最低, 为(119.76 ± 16.00) mg·kg⁻¹。不同提取剂前提取后 NaOH 提取沉积物样

品所得到的 TP 浓度差别较大。与仅用 NaOH 一步提取相比, EDTA 前提取后 NaOH 提取液中 TP 浓度较高, 为(2477.40 ± 112.72) mg·kg⁻¹, BD 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 前提取后 NaOH 提取液中 TP 浓度分别为(2271.20 ± 75.63)和(1909.71 ± 31.27) mg·kg⁻¹, 与仅用 NaOH 提取相差不大, 而其余两个处理 C₄O₆H₄KNa·4H₂O 和 Na₂S·9H₂O 前提取后 NaOH 提取液中 TP 浓度低于仅用 NaOH 一步提取的结果。

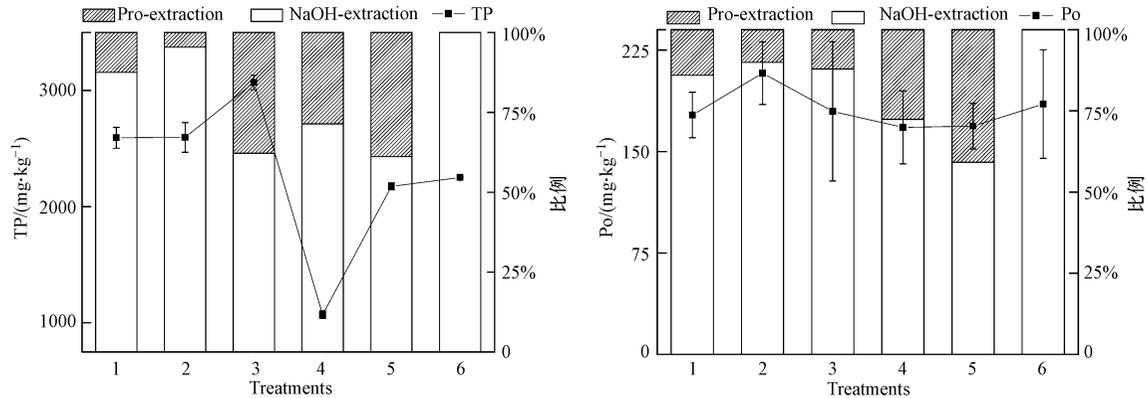


图 1 不同提取液中 TP 和 Po 的含量

Fig. 1 Content of TP and Po in the sediments with different extractants (1: BD + NaOH; 2: EDTA + NaOH; 3: (EDTA + Na₂S₂O₄) + NaOH; 4: C₄O₆H₄KNa·4H₂O + NaOH; 5: Na₂S·9H₂O + NaOH; 6: NaOH)

不同提取液处理对沉积物 Po 的提取效率差异明显。5 种前提取液中以 Na₂S·9H₂O 前提取 Po 的损失最严重, 损失量为(68.82 ± 1.74) mg·kg⁻¹, 其次为 C₄O₆H₄KNa·4H₂O 前提取液中 Po 损失量为(46.36 ± 5.81) mg·kg⁻¹, 其余 3 种提取液 BD、EDTA 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 前提取液中 Po 损失量基本一致, 分别为(24.91 ± 15.24)、(20.90 ± 2.58)和(21.69 ± 5.16) mg·kg⁻¹。前提取液对 NaOH 提取 Po 的效率亦产生影响。与仅用 NaOH (Po: (185.05 ± 40.12) mg·kg⁻¹) 一步提取相比, EDTA 提取后 NaOH 提取液中 Po 含量较高, 为(186.93 ± 20.53) mg·kg⁻¹, 其余 4 种提取剂提取后 NaOH 提取液中 Po 浓度分别为(152.04 ± 1.55) (BD)、(157.92 ± 46.27) (EDTA + Na₂S₂O₄)、(121.47 ± 21.21) (C₄O₆H₄KNa·4H₂O)、(99.87 ± 15.20) mg·kg⁻¹

(Na₂S·9H₂O)。

综合来看, EDTA 前处理显著增加了 TP 的提取效率, 与仅用 NaOH 提取对比, TP 的提取量增加了 10%。这一研究结论与相关研究一致 (Turner *et al.*, 2005; Ahlgern *et al.*, 2007)。EDTA 作为一种应用广泛的螯合剂, 可以与沉积物中的金属离子 (Fe、Al 等) 螯合形成络合物, 从而促进了沉积物中铁铝结合态磷的释放, 增加了提取液中 TP 的浓度 (Cade-Menun and Preston, 1996; Cade-Menun and Lavkulich, 1997)。BD 处理也可以促进沉积物磷的释放, 其机理与 EDTA 不同, BD 可以使高价态金属离子还原为低价态金属离子, 低价态金属离子对磷的吸附能力小于高价态离子从而促进磷的释放 (Ahlgern *et al.*, 2007)。EDTA 对沉积物中金属离子的螯合作用大于 BD, 因此, EDTA 提取液中 TP 的浓

度显著高于 BD 处理,且 EDTA 前提取液中 TP 的损失量小于 BD. 在本研究中,EDTA + Na₂S₂O₄ 提取并没有增加 TP 的提取量,且前提取液中 TP 损失较大. C₄O₆H₄KNa·4H₂O 和 Na₂S·9H₂O 两种提取剂在 TP 提取上效果均较 EDTA 和 BD 差. Po 的提取效率与 TP 类似. 沉积物有机磷亦可以被 Fe 离子等金属离子结合,EDTA 的存在整合了金属离子从而促进了有机磷的释放 (Turner *et al.*, 2007). EDTA 前处理在获得较高 Po 提取量的同时 Po 损失量最少,而 BD 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 前提取液中 Po 损失量较少,但 NaOH 提取液中 Po 的提取量也较小,

C₄O₆H₄KNa·4H₂O 和 Na₂S·9H₂O 两种提取剂对 Po 的提取效率低于其他处理.

3.3 金属离子提取效率分析

沉积物有机磷提取的最优效果是获得较理想的有机磷提取量和低浓度的顺磁性离子 (Fe (III)、Mn (II)、Co (II)、Ni (II)), 这些顺磁性离子的存在会提高弛豫时间,增加谱图的线宽使峰形重叠 (Ding *et al.*, 2010). 不同提取剂 Fe、Mn 等 5 种离子的提取情况见图 2. 就 Fe 离子而言,EDTA + Na₂S₂O₄ 前处理对 Fe 离子的去除效率最高,提取液中 Fe 离子浓度为 (106677.21 ± 215.82) mg·kg⁻¹. 5 种前处理

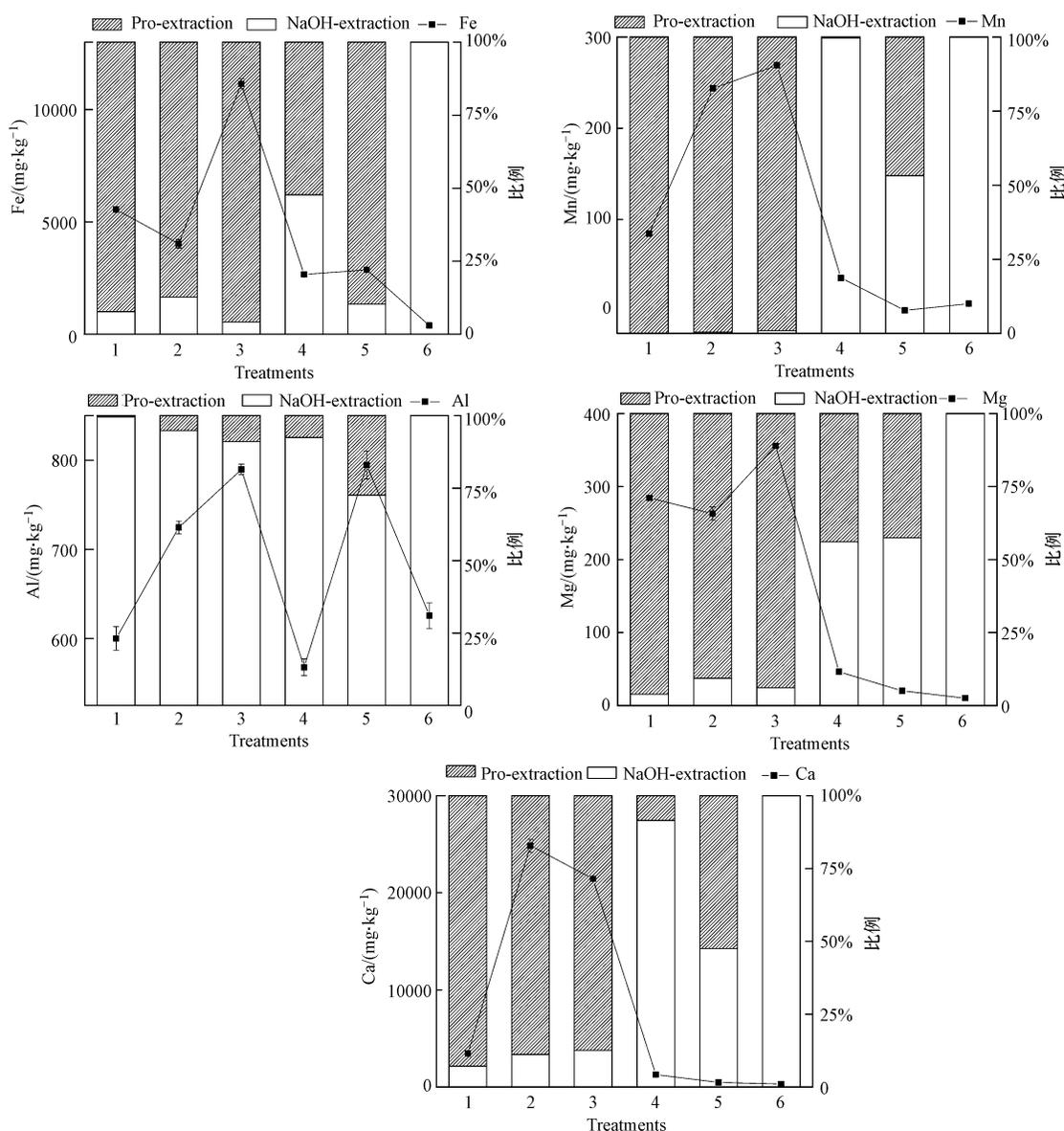


图 2 不同提取液中 Fe、Mn、Al、Mg、Ca 离子浓度变化

Fig. 2 Contents of Fe, Mn, Al, Mg, Ca in the sediments with different extractants (1: BD + NaOH; 2: EDTA + NaOH; 3: (EDTA + Na₂S₂O₄) + NaOH; 4: C₄O₆H₄KNa·4H₂O + NaOH; 5: Na₂S·9H₂O + NaOH; 6: NaOH)

中 EDTA 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 前提取液中 Mn 离子浓度高于其它 3 个处理,分别为 (243.02 ± 2.80) 和 (266.61 ± 1.84) mg·kg⁻¹. Na₂S·9H₂O 前提取液中 Al 离子浓度最高为 (217.65 ± 7.12) mg·kg⁻¹. 5 种提取剂前提取后 NaOH 溶液提取液中 Al 离子的浓度 EDTA + Na₂S₂O₄ 和 EDTA 处理较高为 (718.95 ± 5.25) 和 (687.73 ± 3.53) mg·kg⁻¹,其余 3 个处理 NaOH 提取液中 Al 离子浓度均低于前两个处理. EDTA 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 两处理前提取液中 Ca 离子浓度较高,分别为 (22062.99 ± 486.93) 和 (18729.74 ± 26.93) mg·kg⁻¹. BD、EDTA 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 前提取液中 Mg 离子浓度较高,分别为 (273.06 ± 1.24)、(238.32 ± 8.37) 和 (333.68 ± 0.36) mg·kg⁻¹,其余两处理前提取液中 Mg 离子浓度较低.

不同提取剂对顺磁性离子的去除效率存在差异. EDTA 是一种有效的络合剂,拥有 6 个配位原子,可以和金属离子形成稳定的水溶性络合物,EDTA 提高有机磷提取量的同时结合 Fe、Mn 等顺磁性离子. 在本研究中大量的 Fe 和 Mn 离子在 EDTA 提前提取中去除,从而减少了 NaOH 提取液中顺磁性离子的干扰;BD 为 0.11 mol·L⁻¹ NaHCO₃ 和 0.11 mol·L⁻¹ Na₂S₂O₄ 的混合溶液,可以将金属离子从高价态还原成低价态从而促进磷的释放,在本研究中,BD 对 Fe、Mn 等离子的提取效率均小于 EDTA 的提取效率;EDTA 和 Na₂S₂O₄ 的混合溶液表现出了对 Fe 和 Mn 离子更高的去除效率,原因为 EDTA 和强还原性的 Na₂S₂O₄ 混合保证了金属离子的高去除率;而作为探索研究, C₄O₆H₄KNa·4H₂O 和 Na₂S·9H₂O 对金属离子的去除效果较差,也没有较高的 TP 和 Po 提取效率. 所以在对河流沉积物的有机磷提取中 BD、EDTA 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 对顺磁性离子的去除效果较为理想.

3.4 沉积物有机磷提取图谱分析

利用液相³¹P-NMR 对 NaOH 提取液进行分析得到 5 种磷组分,分别是正磷酸盐 (Ortho-P: 6 ~ 7 ppm)、焦磷酸盐 (Pyro-P: -3.5 ~ -4.5 ppm)、磷酸单酯 (Mono-P: 4 ~ 6 ppm)、磷脂 (Lipids-P: 1 ~ 3 ppm) 和 DNA-P (DNA-P: 0 ~ -1 ppm) (Turner *et al.*, 2003; Cade-Menun., 2005; Cade-menun *et al.*, 2006) (图 3). 从图谱分析可以看出,提取剂对沉积物磷形态并没有产生影响,提取剂前提取后,均可以得到 5 种磷形态. 不同提取剂对沉积物中不同磷

形态含量造成的影响存在差异. EDTA 和 BD 处理后显著提高了沉积物 NaOH 提取液中 Pi 的提取量. EDTA 处理后提高了沉积物 NaOH 提取液中焦磷酸盐的量,5 种提取剂处理后并没有提高磷酸单酯的量. EDTA、EDTA + Na₂S₂O₄ 和 C₄O₆H₄KNa·4H₂O 3 个处理显著提高了磷脂的含量,分别由 0.63 mg·kg⁻¹ 增加到 3.44、2.58 和 4.09 mg·kg⁻¹;对 DNA-P 而言,仅 EDTA 处理提高了其含量(表 3).

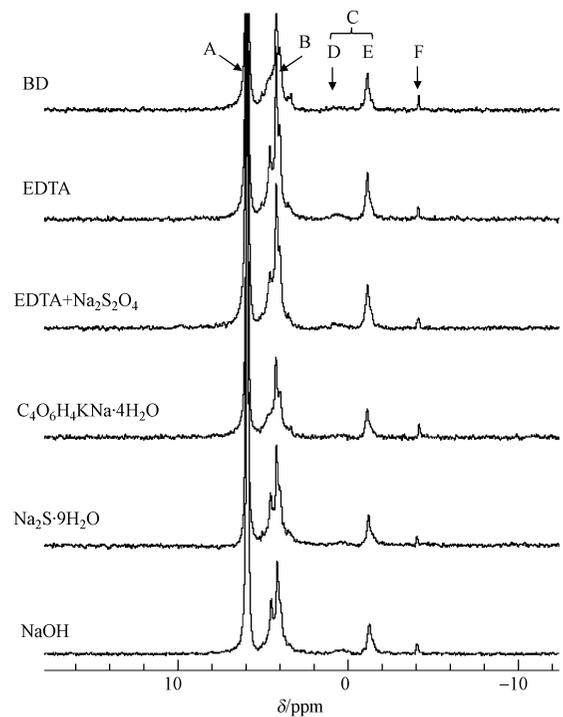


图 3 河流沉积物有机磷核磁共振磷化合物图谱

Fig. 3 ³¹P-NMR spectra of NaOH post-extraction of river sediments (A: orthophosphate; B: orthophosphate monoesters; C: orthophosphate diesters; D: PL; E: DNA; F: pyrophosphate)

4 结论与展望 (Conclusions and prospectation)

1) 从 TP 和 Po 的提取效率来看, BD 和 EDTA 前处理能提高 TP 的提取效率,而且前提取液中 TP 的损失量较小. 5 种提取剂前处理 Po 的损失量差别不大, EDTA 处理可以提高 Po 的提取量. 综合 TP 和 Po 来看, EDTA 前处理既可以提高 TP 和 Po 的提取效率,又能保证 TP 和 Po 在前提取液中的损失量较小;核磁共振图谱分析显示, EDTA 可以提高沉积物中正磷酸盐、焦磷酸盐、磷脂和 DNA 的含量.

2) 不同的提取剂对顺磁性离子 Fe 和 Mn 提取效率差异较大: 与仅用 NaOH 提取相比, 几种提取剂前提取后对 NaOH 提取液中 Fe 离子的影响不显著,

表 3 液相³¹P-NMR 检测的河流表层沉积物不同形态磷含量Table 3 Concentrations of P compounds in NaOH post-extraction of the river sediments determined by solution³¹P-NMR

Treatments	TP /(mg·kg ⁻¹)	Pi/(mg·kg ⁻¹)		Po/(mg·kg ⁻¹)		
		Ortho-P	Pyro-P	Mono-P	Lipids-P	DNA-P
BD	2271.20	2119.2	3.5	134.9	0.6	13.1
EDTA	2477.40	2290.5	7.3	154.7	3.4	21.5
EDTA + Na ₂ S ₂ O ₄	1909.71	1751.8	4.6	139.3	2.6	11.5
C ₄ O ₆ H ₄ KNa·4H ₂ O	764.06	642.6	2.6	101.5	4.1	13.4
Na ₂ S·9H ₂ O	1328.66	1228.8	1.9	88.5	0.2	9.3
NaOH	2251.66	2066.6	6.7	157.9	0.6	19.9

但 BD、EDTA 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 前提提取可以去除大量 Fe 离子,从而降低沉积物中 Fe 离子的含量;对 Mn 离子而言,EDTA 和 EDTA + Na₂S₂O₄ 前提提取可以降低沉积物中 Mn 离子含量,保证了 NaOH 提取液中 Mn 离子含量低于仅用 NaOH 提取。

3) 综合以上 3 个主要指标可以得到,对于总磷和有机磷含量均较高的河流沉积物样品,在进行有机磷提取分析时,采用两步提取方法,即首先利用 50 mmol·L⁻¹ EDTA 进行前提提取后利用 0.25 mol·L⁻¹ NaOH 提取可以保证较理想的 Po 提取效率和核磁共振图谱、较低的顺磁性离子干扰,从而保证沉积物有机磷液相³¹P-NMR 分析的科学性和有效性。

本研究基于河流沉积物样品探究了 5 种常用提取剂的提取效果,取得了较为理想的结果。与目前使用范围较广的提取剂配比(0.25 mol·L⁻¹ NaOH + 50 mmol·L⁻¹ EDTA)相比,本研究在探索不同提取剂提取机理和优选更适用的提取剂方面具有科学意义,而且作者利用本文优化的提取方法对海河流域其他河流进行有机磷提取分析,均取得了较好的效果(未发表数据)。因此,本方法完全可以应用于高磷含量的河流沉积物有机磷分析。环境样品理化性质千差万别,要想获得较为理想的提取剂必须针对不同环境样品进行大量的实验,以验证提取剂和提取方法的普适性。目前,我国河湖富营养化问题突出,在对水-沉积物界面磷的生物地球化学循环过程及影响因素等问题上仍需深入探讨,而核磁共振技术可以为此提供有力的技术支持。基于以上考虑,将来可以加大提取剂的选择范围和扩大环境样品类型,以选择理想的有机磷提取剂,优化有机磷提取方法体系。

参考文献 (References):

Adams M A, Byrne L T. 1989. ³¹P-NMR analysis of phosphorus

compounds in extracts of surface soils from selected karri (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) forests [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 21(4):523-528

Ahlgern J, Barbandere H D, Reitzel K, et al. 2007. Sediment phosphorus extractants for phosphorus-31 nuclear magnetic resonance analysis: a quantitative evaluation [J]. *Journal of Environmental Quality*, 36:892-898

Ahlgren J, Tranvik L, Gogoll A, et al. 2005. Sediment depth attenuation of biogenic phosphorus compounds measured by ³¹P NMR [J]. *Environmental Science & Technology*, 39: 867-872

Aspila K I, Agemian H, Chau A S Y. 1976. A Semi-automated method for the determination of inorganic organic and total phosphate in sediments [J]. *Analyst*, 101:187-197

Bai X L, Ding S M, Fan C X, et al. 2009. Organic phosphorus species in surface sediments of a large shallow, eutrophic lake, Lake Taihu, China [J]. *Environmental Pollution*, 157: 2507-2513

Bowman R A. 1989. A sequential extraction procedure with concentrated sulfuric acid and dilute base for soil organic phosphorus [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 53: 362-366

Cade-Menun B J. 2005. Characterizing phosphorus in environmental and agricultural samples by ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Talanta*, 66: 359-371

Cade-menun B J, Benitez-Nelson C R, Pellechia P, et al. 2005. Refining ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy for marine particulate samples: storage conditions and extraction recovery[J]. *Marine Chemistry*, 97: 293-306

Cade-Menun B J, Berch S M, Preston C M. 2000. Phosphorus forms and related soil chemistry of podzolic soils on northern Vancouver Island. II. The effects of clear-cutting and burning [J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 30: 1726-1741

Cade-menun B J, Lavkulich L M. 1997. A comparison of methods to determine total, organic, and available phosphorus in forest soils [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 28(9/10):651-663

Cade-Menun B J, Navaratnam J A, Walbridge M R. 2006. Characterizing dissolved and particulate phosphorus in water with ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Environmental Science & Technology*, 40:7874-7880

Cade-Menun, B J, Preston C M. 1996. A comparison of soil extraction procedures for ³¹P NMR spectroscopy [J]. *Soil Science*, 161:

- 770-785
- Cardoza L A, Korir A K, Otto W H, *et al.* 2004. Application of NMR spectroscopy in environmental science [J]. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 45: 209-238
- Ding S M, Xu D, Li B, *et al.* 2010. Improvement of ³¹P NMR spectral resolution by 8-Hydroxyquinoline precipitation of paramagnetic Fe and Mn in environmental samples [J]. *Environmental Science & Technology*, 44: 2555-2561
- Golterman H L. 2001. Phosphate release from anoxic sediments or 'What did Mortimer really write?' [J]. *Hydrobiologia*, 450: 99-106
- Jensen H S, Kristensen P, Jeppesen E, *et al.* 1992. Iron:phosphorus ratio in surface sediment as an indicator of phosphate release from aerobic sediments in shallow lakes [J]. *Hydrobiologia*, 235/236: 731-743
- Hesse P R. 1962. Phosphorus fixation in mangrove swamp muds [J]. *Nature*, 193: 295-296
- Gressel N, McColl J G, Preston C M, *et al.* 1996. Linkages between phosphorus transformations and carbon decomposition in a forest soil [J]. *Biogeochemistry*, 33(2):97-123
- Koopmans G F, Chardon W J, McDowell R W. 2007. Phosphorus movement and speciation in a sandy soil profile after longterm animal manure applications [J]. *Journal of Environmental Quality*, 36: 305-315
- Kühl O. 2008. Phosphorus-31 NMR spectroscopy: A concise introduction for the synthetic organic and organometallic chemist [M]. Berlin: Springer. 1-3
- Liang Y, Blake R E. 2006. Oxygen isotope composition of phosphate in organic compounds; Isotope effects of extraction methods [J]. *Organic Geochemistry*, 37:1263-1277
- Liu J Y, Wang H, Yang H J, *et al.* 2009. Detection of phosphorus species in sediments of artificial landscape lakes in China by fractionation and phosphorus- 31 nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Environmental Pollution*, 157: 49-56
- Makarov M I, Haumaier L, Zech W. 2002. The nature and origins of diester phosphates in soils: a ³¹P -NMR study [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 35: 136-146
- Newman R H, Tate K R. 1980. Soil phosphorus characterization by ³¹P nuclear magnetic resonance [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 11: 835-842
- Pernet-Coudrier B, Qi W X, Liu H J, *et al.* 2012. Sources and pathways of nutrients in the semi-arid region of Beijing-Tianjin, China [J]. *Environmental Science & Technology*, 46: 5294-5301
- Pierzynski G M. 2004. Methods of phosphorus analysis for soils, sediments, residuals, and waters [M]. Kansas: Southern Cooperative Series Bulletin. 54-56
- Qu H J, Kroeze C. 2010. Past and future trends in nutrients export by rivers to the coastal waters of China [J]. *Science of the total Environment*, 408:2075-2086
- Reitzel K, Ahlgren J, Gogoll A. 2006. Characterization of phosphorus in sequential extracts from lake sediments using ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63: 1686-1699
- Simpson A J, McNally D J, Simpson M J. 2010. NMR spectroscopy in environmental research: From molecular interactions to global processes [J]. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 58: 97-175
- Simpson A J, Simpson M J, Soong R. 2012. Nuclear magnetic resonance spectroscopy and its key role in environmental research [J]. *Environmental Science & Technology*, 46(21): 11488-11496
- Sommers L E, Harris R F, Williams J D H. 1972. Fractionation of organic phosphorus in lakes sediments [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 36:51-54
- Stevenson F J. 1982. *Humus Chemistry* [M]. John Wiley & Sons, New York. 443
- Sumann M, Amelung W, Haumaier L, *et al.* 1998. Climatic effects on soil organic phosphorus in the north American great plains identified by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 62(6): 1580-1586
- Turner B L, Cade-menun B J, Condron L M, *et al.* 2005. Extraction of soil organic phosphorus [J]. *Talanta*, 66: 294-306
- Turner B L, Mahieu N, Condron L M. 2003. Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectral assignments of phosphorus compounds in soil NaOH-EDTA extracts [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 67:497-510
- Turner B L, Richardson A E, Mullaney E J. 2007. Inositol phosphates — linking agriculture and the environment [M]. London: CAB International. 261-277
- U. S. Environmental Protection Agency. 2007. Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils [R]. Method 3051 Washington: Environmental Protection Agency, Office of Water, DC. 1-14
- Wen S F, Shan B Q, Zhang H. 2012. Metals in sediment/pore water in Chaohu Lake: Distribution, trends and flux [J]. *Journal of Environmental Science*, 24(12): 2041-2050
- Zhang R Y, Wu F C, He Z Q, *et al.* 2009. Phosphorus composition in sediments from seven different trophic lakes, China: A phosphorus-31 NMR study [J]. *Journal of Environmental Quality*, 38:353-359