

## 黄腐酸络合铜离子光谱学特征及机理构建

徐恒山<sup>2</sup>, 巩冠群<sup>1,2\*</sup>, 张英杰<sup>1,2</sup>, 袁飞<sup>2</sup>, 张永霞<sup>2</sup>

1. 煤炭加工与高效洁净利用教育部重点实验室, 江苏 徐州 221116

2. 中国矿业大学化工学院, 江苏 徐州 221116

**摘要** 二价金属离子  $\text{Cu}^{2+}$  在很多工矿企业周围水源及土壤中存量超标, 造成生态环境恶化, 传统的药剂及生物处理容易产生二次污染。黄腐酸由性质相似分子团簇构成, 具有水溶性好、络合作用强及化学活性高的特点, 对环境中  $\text{Cu}^{2+}$  分布、迁移和生物利用度可以实现高效控制与环保处理, 是近年科学研究热点。现代多光谱表征分析有助于揭示黄腐酸与金属离子作用过程构效关系变化、环境效应及重金属离子迁移行为规律, 对黄腐酸与  $\text{Cu}^{2+}$  络合过程特点及作用机理研究具有重要科学价值。综述了近年来黄腐酸与  $\text{Cu}^{2+}$  络合作用相关基础理论研究, 通过红外光谱、三维荧光光谱及差分光谱等方法对黄腐酸与  $\text{Cu}^{2+}$  络合前后表征对比分析和学科交叉协同研究, 探讨了 pH、离子浓度以及黄腐酸组分构成差异等对络合过程的影响, 揭示了黄腐酸与  $\text{Cu}^{2+}$  络合作用位点的结构特性及作用规律, 羧基与酚羟基等含氧酸性官能团是  $\text{Cu}^{2+}$  与黄腐酸络合的主要位点, 羧基型位点络合  $\text{Cu}^{2+}$  作用显著, 酚羟基型位点有助于增加  $\text{Cu}^{2+}$  络合物稳定性, 含氮官能团也在络合过程中发挥重要作用。在此基础上, 进一步指出 pH 值的变化将改变黄腐酸活性位点对  $\text{Cu}^{2+}$  的亲合力, 原因主要与活性位点上  $\text{Cu}^{2+}$  与  $\text{H}^+$  之间的离子交换以及黄腐酸的静电吸引力有关; 不同结构特征的黄腐酸对  $\text{Cu}^{2+}$  络合效果主要体现在具有不同数量的酚羟基、羧基以及含氮官能团活性位点; 溶液中共存  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Al}^{3+}$  等离子会与  $\text{Cu}^{2+}$  在黄腐酸的活性结合位点上产生显著络合竞争; 同时溶液环境中  $\text{K}^+$  和  $\text{Na}^+$  等非强吸附作用离子浓度增加, 使得溶液中大量正电荷离子就近进入黄腐酸的电子层而增强电荷屏蔽效应, 进而也抑制  $\text{Cu}^{2+}$  与黄腐酸络合。总结并展望了黄腐酸相关学科技术理论在现代农业、生态修复及环境治理等领域科学应用共存的问题及挑战。

**关键词** 黄腐酸; 铜离子; 离子络合; 活性位点; 谱图表征; 作用机理

**中图分类号:** O656.4 **文献标识码:** R **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)04-1010-07

## 引言

腐殖质(humus, HS)对金属离子的化学迁移、环境浓度分布、微生物利用与吸收<sup>[1]</sup>有重要影响。根据 HS 在不同 pH 环境下溶解特性, HS 分为可溶于酸碱的黄腐酸(fulvic acid, FA)、可溶于碱但不溶于酸的腐植酸(humic acid, HA)以及既不溶于酸也不溶于碱的腐黑物<sup>[2-4]</sup>。HA 含大量官能团, 分子尺度从几纳米到 100 nm; FA 分子半径约为 1 nm, 分子结构中含有大约 5~10 个可电离的羧基和最多一个含 N 或 S 官能团, FA 与金属离子络合物比 HA 的更稳定<sup>[5]</sup>; 同时, 由于具有较多羟基、羧基等亲水基团, 相较于 HA 络合物, FA

更具有亲水性, 水溶液中分散性更好<sup>[6]</sup>。因此, FA 通过络合作用对水体、土壤中不同金属离子浓度控制、迁移规律及转化利用研究具有重要价值<sup>[7]</sup>, 是近年科学研究热点。

FA 与金属离子相互作用的位点是特定的, 不同金属离子与 FA 相互作用的位点也不尽相同<sup>[8]</sup>。FA 来源物质和生成途径的多样性, 导致 FA 分子量、构象、质子亲和力以及羧基、酚羟基等含氧官能团数量存在一定差异<sup>[9]</sup>。FA 分子不同特性构成影响金属离子结合过程及作用规律, 与金属离子的键合主要与羟基和羧基有关, 而形成 FA 络合物分子特性不仅与 FA 的分子结构有关, 还与其分子中官能团数量、种类和构象相关, 且后者还可以通过金属配位络合物的形成来构成超分子结构<sup>[10]</sup>(图 1)。目前, FA 与金属离子的相互

收稿日期: 2021-03-26, 修订日期: 2021-06-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(21776299, 21576281)和中国矿业大学研究生教育教学改革与研究实践项目(2019YJSJG043, YJSJG-2018-01)资助

作者简介: 徐恒山, 1997 年生, 中国矿业大学化工学院硕士研究生 e-mail: 18821671546@163.com

\* 通讯作者 e-mail: ggqzyj@126.com

作用机理还缺少精准、全面、系统性研究。

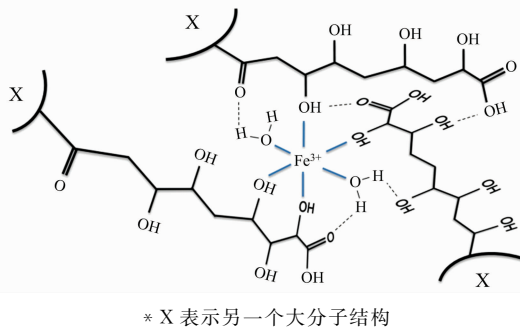


图 1 铁离子与 FA 四种羟基配位络合作用<sup>[10]</sup>

Fig. 1 The coordination complex of iron ions with the four hydroxyl groups of FA<sup>[10]</sup>

铜是生物体物质代谢和生化反应过程不可缺少的微量元素，主要以离子的形式被生物吸收转化利用，在水溶液中以一价亚铜离子( $\text{Cu}^+$ )和二价铜离子( $\text{Cu}^{2+}$ )两种氧化态存在，铜在两种氧化态之间的转化影响其反应性、溶解性和生物利用度。二价金属铜离子  $\text{Cu}^{2+}$  在很多工矿企业周围水源及土壤中存量超标，对生态环境造成了重要影响，传统的药剂及生物处理容易产生二次污染，寻找绿色环保、性能优良的处理方法是当前亟待解决的重要科学问题。研究表明， $\text{Cu}^{2+}$  与 FA 主要以络合的形式存在水环境中，不能立即被生物利用，但是能有效降低铜毒性<sup>[11-13]</sup>。研究 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  的络合作用机理有助于揭示环境中铜的具体形态、毒性控制和生物利用度等，进而实现 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合规律及机理的科学应用。本工作结合红外光谱、三维荧光光谱及差分光谱等多光谱谱图特征征研究结果，重点阐述 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  的络合过程规律、作用机理及影响因素，并指出未来发展的问题和挑战。

## 1 FA 与 $\text{Cu}^{2+}$ 络合机理

目前，FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  作用规律研究还不是非常深入，尤其是对其作用过程机理的揭示尚无科学定论。有研究<sup>[14-15]</sup>认为 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  之间的相互作用为络合反应，由特定的络合位点控制，其中，羧基与酚羟基等含氧酸性官能团是  $\text{Cu}^{2+}$  与 FA 络合的主要位点，但 FA 的含氮官能团对络合过程也有一定的影响，芳香碳结构和疏水性结构也可能有助于 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  的络合。近年来，研究者通过傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectrometer, FTIR)、三维荧光光谱(three dimensional fluorescence spectrum, 3DEEM)等对  $\text{Cu}^{2+}$  与 FA 络合前后进行交叉表征，对  $\text{Cu}^{2+}$  与 FA 络合前后的差异进行解释和机理阐述，有力促进了相关研究进程。

Ephraim 等<sup>[16-17]</sup>发现聚电解质效应和功能异质对 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合平衡有影响，FA 水溶液中分子组分比例依次为：pK 值为 1.8 的羧酸占 24.5%，pK 值为 3.4 的羧酸占 30.4%，pK 值为 4.2 的羧酸占据 22.4%，pK 值为 5.7 的酸性醇(烯醇)占据 22.7%；与  $\text{Cu}^{2+}$  与 FA 络合形成双齿结构有关的是 pK 值为 3.4 的羧基和 pK 值为 5.7 的羟基，而且

FA 分子在低 pH 值下氨基酸位点相对较少，对低浓度  $\text{Cu}^{2+}$  可以实现高度选择性络合，pH 值在 3.5~6 的实验结果与计算模型预测结果相符；但是，当 pH 值超过 6 时，FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合特性预测与实验不符。这可能与溶液中  $\text{Cu}^{2+}$  在 pH >5 时以  $[\text{Cu}(\text{OH})]^+$  的形式存在，而  $[\text{Cu}(\text{OH})]^+$  又可能在失去质子的同时，与 FA- $\text{Cu}^{2+}$  络合物发生不可逆的相互作用有关。虽然该研究发现 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合位点，但未能对 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合位点(羧基与酚羟基)进行详细解释，作用机理仍需深入研究。

不同浓度下， $\text{Cu}^{2+}$  与 FA 羧基和酚羟基结合，表现出明显的双齿络合特征，作用过程部分非特异性静电相互作用一般较小可忽略不计<sup>[18-19]</sup>。与 FA 作用过程中  $\text{Cu}^{2+}$  分为可溶性  $\text{Cu}^{2+}$ 、与羧基类位点络合的  $\text{Cu}^{2+}$ 、与酚羟基类位点络合的  $\text{Cu}^{2+}$  和位于 Donnan 相中的  $\text{Cu}^{2+}$ ；而且与酚羟基类位点络合的  $\text{Cu}^{2+}$  数量比羧基类位点络合  $\text{Cu}^{2+}$  数量少 1~2 个数量级<sup>[18-21]</sup>。因此，FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  的络合数量主要受羧基类位点控制，酚基型位点的作用较小，但酚羟基类位点有助于 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  的络合物的稳定性，羧基和酚羟基为 FA 络合  $\text{Cu}^{2+}$  过程主要络合作用位点<sup>[20-21]</sup>。目前，FA 分子结构中其他官能团在  $\text{Cu}^{2+}$  络合过程中是否有作用及作用机理还需理论及实验数据支撑。

利用 FTIR 及 3DEEM 光谱研究发现<sup>[18]</sup>， $\text{Cu}^{2+}$  在 FA 上的吸附主要有离子交换和表面络合两种活性位点，表面络合位对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附亲和性高于离子交换位，表面络合位的吸附容量小于离子交换位的吸附容量， $\text{Cu}^{2+}$  在 FA 上的吸附主要以表面络合为主。同时，对 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  总吸附容量和最大吸附容量研究也表明羧基和酚羟基为 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合的主要络合位点<sup>[23-24]</sup>。通过比较  $\text{Cu}^{2+}$  结合前后 FA 与 FA-Cu 络合物的 FTIR 特征官能团光谱差异<sup>[22]</sup>(见图 2)，发现官能团—OH 峰强度在  $3447\text{ cm}^{-1}$  附近发生了急剧下降(大约偏移了  $20\text{ cm}^{-1}$ )，—COOH 峰强度在  $1630\text{ cm}^{-1}$  附近发生了急剧下降(其中位移约  $20\text{ cm}^{-1}$ )，证实两种基团已参与络合反应；FA-Cu 络合物峰强度在  $1120$ (偏移约  $5\text{ cm}^{-1}$ )和  $1035\text{ cm}^{-1}$ (偏移约  $10\text{ cm}^{-1}$ )之间减小，表明 FA-Cu 络合物是通过对羟基中 C—O 的高亲和力而形成； $610\text{ cm}^{-1}$  附近的峰强度(几乎没有偏移发生)降低，表明含氮基团可能部分参与了吸附过程；FA-Cu 络合物在  $1370\sim 1400\text{ cm}^{-1}$  附近峰强度增加，意味着吸附后  $\text{COO}^-$  含量增加<sup>[19-22]</sup>。

FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合前后 3DEEM 光谱显示(A 峰和 B 峰均与高度共轭基团相关(如醌基)，C 峰与羧基和羰基相关，在  $\text{Cu}^{2+}$  吸附后，B 和 C 峰均发生荧光猝灭，表明吸附过程包括羧基的结合作用，峰 A 的荧光强度增加表明 FA-Cu 络合物可能比 FA 包含更多的 CO-结构，与 FTIR 光谱一致，也证实了羧基和酚羟基为 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合的主要位点<sup>[20-24]</sup>。FA 分子结构中羧基、酚羟基、含氮基团等含量对  $\text{Cu}^{2+}$  络合起到决定作用(图 2)<sup>[22]</sup>，但是该研究基于离子交换和表面络合的两种吸附位点的假设，没有综合考虑 FA 分子结构的整体效应，也造成了该理论假设的部分缺陷。

Yan 等<sup>[25]</sup>通过紫外可见差分光谱法研究 FA 结构变化对 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合过程影响，并与模型化合物(磺基水杨酸、

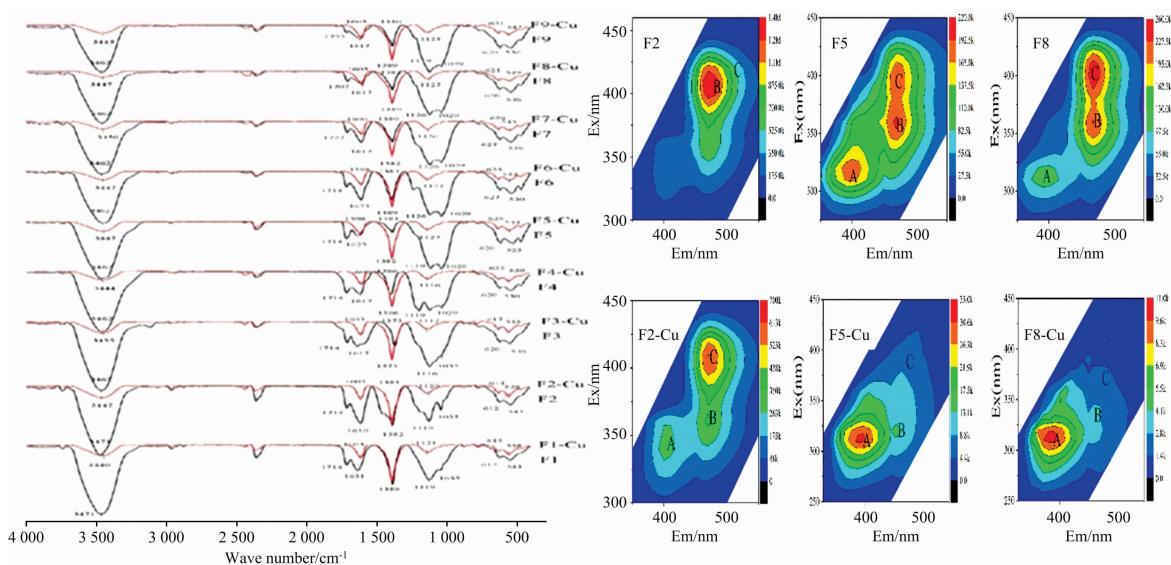


图 2 9 种 FA 络合  $\text{Cu}^{2+}$  前后 FTIR 及 3DEEM 谱图<sup>[22]</sup>

Fig. 2 FTIR and 3DEEM spectra of 9 kinds of FA before and after complexing  $\text{Cu}^{2+}$ <sup>[22]</sup>

鞣酸和聚苯乙烯磺酸-马来酸等)的光谱进行差分吸收结果比较,发现谱图中存在 6 个高斯谱带(A0, A1, A2, A3, A4 和 A5),各谱带峰强最大值分别位于波长为 208, 242, 276, 314, 378 和 551 nm 处(图 3);模型化合物微光谱特征与实验真值 FA 特征不同,但高斯谱带 A1, A3 及 A2 的特征在很大程度上归因于水杨基和多羟基酚基团的响应,而高斯谱带 A4 和 A5 仅能在 FA 的差分光谱中检测到;这表明  $\text{Cu}^{2+}$  与 FA 中发色官能团的相互作用可能涉及不同官能团的去质子化(如水杨酸型基团和多酚羟基等);该研究还发现  $\text{Cu}^{2+}$  与 FA 中羧基和酚羟基键合的数量多于与凝胶静电相互作用键合;同时,在不同的  $\text{Cu}^{2+}$  浓度体系下,FA 的离散官能团、整个电子跃迁系统、FA 分子构象会发生改变,与铜络合引起的生色团相对位置也会发生改变;不同 FA 分子之间的分子效应也对 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合过程有一定的影响。

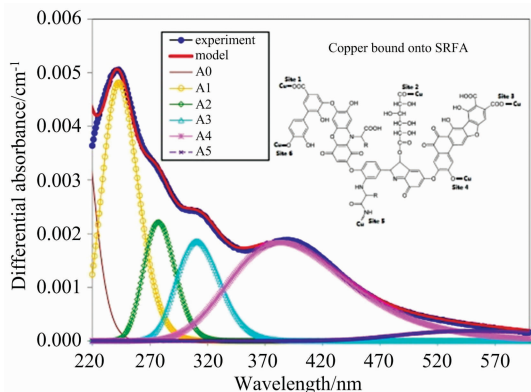


图 3 FA 的差分光谱<sup>[25]</sup>

Fig. 3 Differential optical absorption spectroscopy of FA<sup>[25]</sup>

## 2 FA 与 $\text{Cu}^{2+}$ 的络合作用过程规律

### 2.1 pH 值的影响

在 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  的络合过程中, pH 值通过改变 FA 活性位点对  $\text{Cu}^{2+}$  的亲合力影响 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  的络合,主要由表面离子交换位点上  $\text{Cu}^{2+}$  与  $\text{H}^{+}$  之间的离子交换导致<sup>[26]</sup>,也可能是羧基在 pH 值介于 2.5 和 7 之间时解离形成羧酸根及酚羟基,会在 pH 值为 8 和 13.5 之间解离形成  $(\text{C}_6\text{H}_5\text{O})^-$ <sup>[27]</sup>,随 pH 值的增加,FA 表面的负电荷增加,对  $\text{Cu}^{2+}$  的静电吸引力增加,FA 的络合能力也随之增加,同时 pH 值也会影响游离  $\text{Cu}^{2+}$  的浓度,进而影响 FA 对  $\text{Cu}^{2+}$  的络合量。

根据条件亲和谱(conditional affinity spectrum, CAS)可以描述络合剂在不同浓度下平衡状态亲合力或结合能的有效分布, Xu 等<sup>[18]</sup>利用 CAS 对 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合规律表征,发现 CAS 值准确反映了 pH 值对羧基和酚羟基型络合位点对  $\text{Cu}^{2+}$  亲和力的影响;随着 pH 值的增加, CAS 对羧基和酚羟基的亲合力都向较高条件迁移,但是酚羟基向右迁移较明显,与 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合时质子交换所消耗的能量减少有关(图 4)。

实验揭示<sup>[28-29]</sup>给定 pH 条件下,与羧基位点质子相比,需要较大的离子交换能量才能去除酚羟基位点质子,导致 pH 值对酚羟基铜的影响比对羧酸铜的影响更大,即随着 pH 值的增大,酚羟基的作用逐渐减小,羧基逐渐为控制 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合的主要位点。Zhang 等<sup>[22]</sup>研究 pH 对 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$  络合过程规律时发现在 pH 值达到  $\text{pH}_{\text{zpcp}}$ (电荷零点处的 pH 值)之前,随着 pH 值从 3 升到 4, FA 的电离度也增大,FA 表面产生更大的负电荷,使得 FA 对溶液中阳离子的吸引力增大,FA 的络合能力随着 pH 值的增大而增大,此时 Cu 主要以带正电荷的  $\text{Cu}^{2+}$  和  $[\text{Cu}(\text{OH})]^+$  形式存在;当 pH 值高于  $\text{pH}_{\text{zpcp}}$  时,随着 pH 值从 4 增加到 11, FA 的络合能力显著下降,这可能与  $\text{Cu}^{2+}$  的水解和 FA 聚集体的形成相关(图 5)。

### 2.2 FA 组分差异的影响

由于来源、生成途径以及后续的提取分级的多样性,出现 FA 具有不同数量的酚羟基、羧基以及不同的质子亲和力<sup>[22, 30-31]</sup>,与  $\text{Cu}^{2+}$  络合特征也不相同。



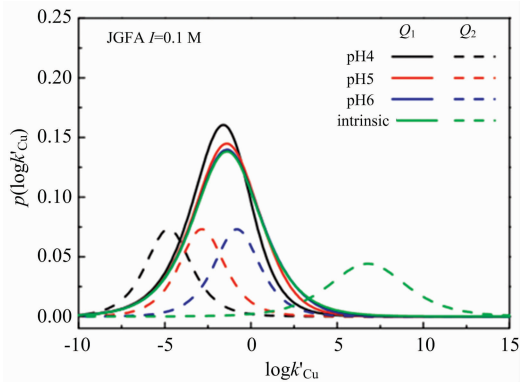


图 4 不同 pH 值下 CAS 平均值的羧基和酚羟基分布的双对数拟合参数 ( $\log k'_{Cu}$  表征不同铜离子浓度下活性位点对铜亲和力,  $p(\log k'_{Cu})$  表征 FA 上活性位点分布)<sup>[18]</sup>

Q<sub>1</sub>: 羧基; Q<sub>2</sub>: 酚羟基

Fig. 4 The logarithmic fitting parameters of the distribution of carboxyl and phenolic hydroxyl groups based on the average CAS value at different pH values ( $\log k'_{Cu}$  is a parameter related to the affinity of sites for copper under different copper ion concentrations,  $p(\log k'_{Cu})$  is a parameter related to the distribution of the site on FA)<sup>[18]</sup>

Q<sub>1</sub>: Carboxyl group; Q<sub>2</sub>: Phenol hydroxyl group

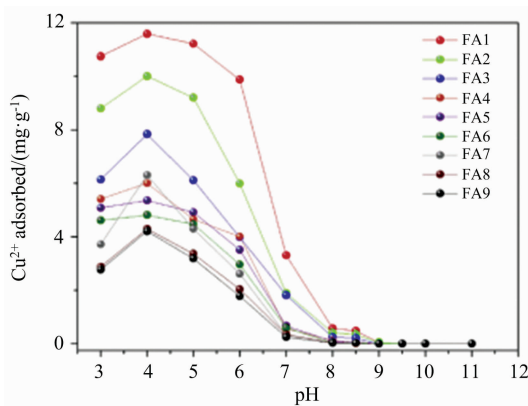


图 5 pH 对 FA 与 Cu<sup>2+</sup> 络合过程的影响<sup>[22]</sup>

Fig. 5 The effect of pH on the complexation process of FA and Cu<sup>2+</sup><sup>[22]</sup>

Joaquim 等<sup>[32]</sup> 用分子荧光光谱发现城市垃圾堆肥和畜禽粪便堆肥中提取的 FA 与从土壤中提取的天然 FA 结构组成上有一定的差异, 但与从低腐殖质土壤 (如落叶层和上层土壤) 中提取的 FA 有一定的相似性, 堆肥提取 FA 与天然土壤 FA 弱络合位点的光谱相似 (<420 nm), 而天然土壤 FA 强络合位点的谱带出现在较大波长 (>420 nm) 处; 堆肥 FA 计算出的  $I_{\text{cul}}$  (结合位点荧光强度) 都在 30~40 之间, 而天然 FA 则为 0, 这表明在堆肥 FA 样品中, 约 30%~40% 的荧光基团不具有络合能力, 在天然 FA 中荧光基团几乎完全由络合结构构成, 而堆肥 FA 的络合位点的数量较少, 络合能力较低, 这可能与腐殖化程度较低有关<sup>[32-33]</sup>。

相较于从天然土壤提取的 FA, 从堆肥污泥提取的 FA 相对强酸结构 (pK 值为 3) 浓度较低, 而这种相对强酸结构与水杨酸结构相对应, 在络合过程发挥积极作用, 使得两种 FA 在络合能力上存在一定的差异<sup>[33]</sup>。在堆肥污泥提取 FA 中, 除含氧结构外, 含氮结合位点结构可能在络合反应中也起重要作用; 而天然土壤与 Cu<sup>2+</sup> 络合主要是由羧基和酚羟基结构引起的。随着 FA 萃取次数的增加, FA 有机碳、芳香性、分子极性、羧基和酚羟基含量均降低, 分子量、脂肪含量和含氮基团含量增加, FA 与 Cu<sup>2+</sup> 的络合能力随之降低, Cu<sup>2+</sup> 与 FA 不同萃取组分络合能力有明显差异, 但含氮基团对络合作用贡献随着萃取次数的增加而逐渐提高<sup>[22]</sup> (图 6)。

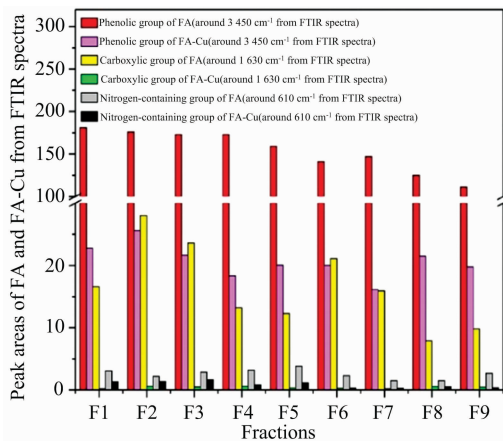


图 6 络合 Cu<sup>2+</sup> 前后 FA 的 FTIR 谱峰面积<sup>[22]</sup>

Fig. 6 FTIR peak area of FA before and after complexing with Cu<sup>2+</sup><sup>[22]</sup>

### 2.3 金属离子竞争效应及离子强度的影响

在 FA 与 Cu<sup>2+</sup> 的络合过程中, 溶液中存在的其他金属离子 (Fe<sup>3+</sup>, Mg<sup>2+</sup> 和 Al<sup>3+</sup> 等) 与 Cu<sup>2+</sup> 发生竞争吸附, 同时, FA 对 Cu<sup>2+</sup> 的络合能力随着溶液的离子强度 (缓冲液中的离子如 K<sup>+</sup> 和 Na<sup>+</sup>) 的增加而下降, 研究认为, 可能与正电荷离子进入 FA 的电子层而增强电荷屏蔽效应有关, 使 FA 的静电吸附容量显著下降, 同时, 溶液中 K<sup>+</sup> 浓度增加会抑制 Cu<sup>2+</sup> 与 FA 的络合<sup>[34-36]</sup>。

Iglesias 等<sup>[37]</sup> 利用电位滴定测定 FA 与 Cu<sup>2+</sup> 和 Ca<sup>2+</sup> 的络合容量, 并对 Cu<sup>2+</sup> 和 Ca<sup>2+</sup> 在 FA 上的竞争效应进行了深度分析。研究指出, 随着 Ca<sup>2+</sup> 浓度的增加, 铜的络合程度降低, 而钙离子浓度越高, 铜的络合程度降低得越明显, 且 Cu<sup>2+</sup> 与 FA 络合比 Ca<sup>2+</sup> 与 FA 络合更依赖 pH 值, Cu<sup>2+</sup> 所占据的位点数量仅占 FA 上电离羧基总浓度的 20%。Ca<sup>2+</sup> 的竞争主要影响 Cu<sup>2+</sup>-FA 络合物的最大结合容量, 而对结合常数影响较小, 说明 Ca<sup>2+</sup> 与 Cu<sup>2+</sup> 在 FA 上的络合位点相类似, Ca<sup>2+</sup> 会竞争 FA 上 Cu<sup>2+</sup> 的特定结合位点, 但对 FA 对 Cu<sup>2+</sup> 络合能力影响不大, 而 Cu<sup>2+</sup> 与 FA 络合更依赖于 pH 值是因为 Cu<sup>2+</sup> 比 Ca<sup>2+</sup> 在高 pH 值下更容易沉淀, 游离 Cu<sup>2+</sup> 比游离 Ca<sup>2+</sup> 浓度更少。

Rey-Castro 等<sup>[29]</sup> 利用 CAS 研究发现 FA 对不同离子亲和性各不相同, Al<sup>3+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 及 Zn<sup>2+</sup> 六种

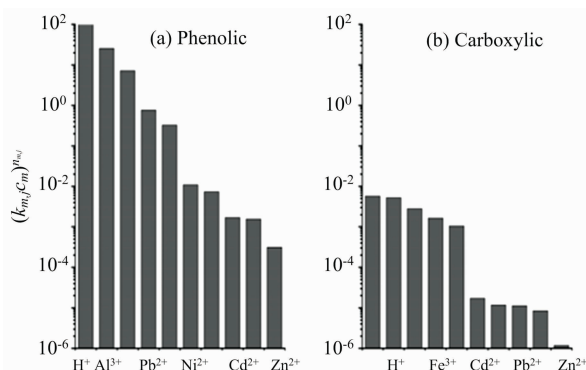


图 7 (a)不同金属离子与 FA 酚羟基位点结合的  $(k_{m,j}c_m)^{n_{m,j}}$  值<sup>[29]</sup>; (b)不同金属离子与 FA 羧基位点结合的  $(k_{m,j}c_m)^{n_{m,j}}$  值 ( $(k_{m,j}c_m)^{n_{m,j}}$  表征竞争离子浓度, 该值越高, 该离子的竞争效应越强)<sup>[29]</sup>

Fig. 7 (a) The value of  $(k_{m,j}c_m)^{n_{m,j}}$  of different metal ions combined with FA phenolic hydroxyl site<sup>[29]</sup>; (b) The value of  $(k_{m,j}c_m)^{n_{m,j}}$  of different metal ions combined with FA carboxyl site ( $(k_{m,j}c_m)^{n_{m,j}}$  is a parameter related to the concentration of competitive ions. The higher the value, the stronger the competitive effect of this ion)<sup>[29]</sup>

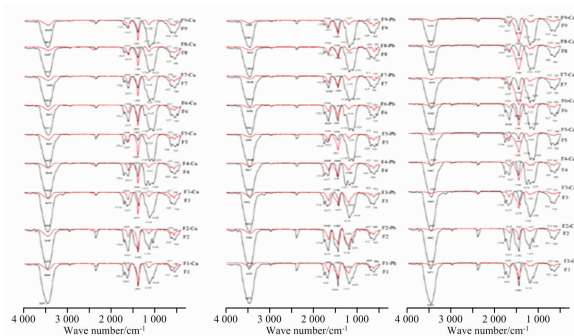


图 8 依次提取的 9 种 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  络合前后的 FTIR 谱<sup>[38]</sup>

Fig. 8 FTIR spectra before and after complexation of 9 kinds of FA with  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ <sup>[38]</sup>

Li 等<sup>[39]</sup>采用 FTIR 光谱对湖泊沉积物提取 FA 与重金属络合产物结构表征研究发现, 酚羟基、羧基和含氮基团是提供重金属离子络合位点的主要官能团; 而 FA 对  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  的吸附量在较高离子浓度环境下趋于稳定, 相反在较低离子浓度 (小于  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 时, FA 吸附能力变化幅度大 (图 9)。分析认为当离子强度增加时, 一方面阳离子会中和 FA 表面的负电荷, 使 FA 的双电子层被压缩, 降低了 FA 对金属离子的静电吸引力, 促使 FA 变成聚集体, 阻碍金属离子进入 FA 内部; 同时, 溶液中存在部分  $\text{K}^+$  和  $\text{Na}^+$  就近优先进入黄腐酸的电子层而增强电荷屏蔽效应, 与  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  发生竞争性吸附 FA, 占据了 FA 表面酸性官能团 (如羧基) 的络合位点, 形成部分质子置换的钾盐, 黄腐酸对  $\text{Cu}^{2+}$  的络合能力会随着溶液中离子如  $\text{K}^+$  和  $\text{Na}^+$  的增加而下降, 降低了 FA 吸附  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  能力<sup>[39-40]</sup>。

离子共存时,  $\text{Al}^{3+}$  会优先与 FA 的酚类位点络合,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  会对 FA 中羧酸类位点显示出更大的有效亲和力,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  会与 FA 的酚类位点和羧酸类位点结合形成双齿类络合物 [图 7(a,b)]。因此, 在存在其他金属离子的条件下, FA 对  $\text{Cu}^{2+}$  的络合能力的下降不仅仅归因于 FA 中  $\text{Cu}^{2+}$  的特定络合位点被其他离子竞争性吸附, 也由于 FA 在其他离子的影响下对  $\text{Cu}^{2+}$  静电吸引力的减小, 使得 FA 对  $\text{Cu}^{2+}$  络合能力下降。

Zhang 等<sup>[38]</sup>通过逐步提取方法从湖泊沉积物中获得 9 种 FA, 比较 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  络合前后 FTIR 光谱,  $3447$  和  $1630 \text{ cm}^{-1}$  附近的峰强度显著下降, 在  $1120$ ,  $1035$  和  $610 \text{ cm}^{-1}$  处峰强度下降, 表明 FA 的羧基、酚羟基、醇类、多糖类物质、以及含氮官能团参与了络合反应; 分别对  $610 \sim 620$ ,  $1620 \sim 1730$  和  $3300 \sim 3500 \text{ cm}^{-1}$  处 FA 与  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  络合前后的峰面积积分计算发现, FA 与金属离子络合前后酚羟基的峰面积的差异为  $\text{FA-Pb} > \text{FA-Cd} > \text{FA-Cu}$ , 表明酚羟基对  $\text{Pb}^{2+}$  的亲性强于  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$ ; 而羧基和含氮基团峰面积表征的络合能力高低显示为  $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ , 这表明这些基团对  $\text{Cu}^{2+}$  的亲合力强于其他基团 (图 8)。

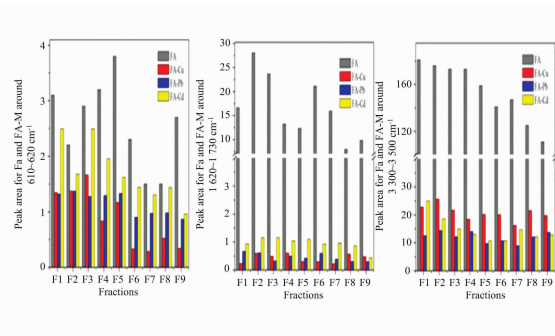


图 9 离子强度对 FA 与金属离子络合的影响<sup>[39]</sup>

Fig. 9 The effect of ionic strength on the complexation of FA and metal ions<sup>[39]</sup>

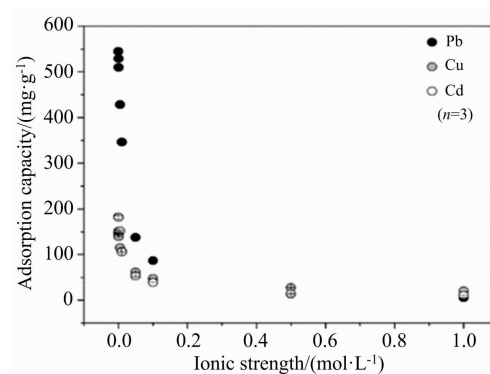


图 9 离子强度对 FA 与金属离子络合的影响<sup>[39]</sup>

Fig. 9 The effect of ionic strength on the complexation of FA and metal ions<sup>[39]</sup>

## 2.4 其他影响

FA与Cu<sup>2+</sup>的络合也会受到自身浓度的影响,不同官能团吸附规律也有差异。Cu<sup>2+</sup>浓度越高,FA的酚羟基类位点的吸附作用越小;同样在较高的Cu<sup>2+</sup>浓度条件下,Cu<sup>2+</sup>主要与FA中的羧基类位点形成单齿络合物,FA中含有大量的羧基,FA对Cu<sup>2+</sup>的吸附容量会随着Cu<sup>2+</sup>浓度的增加而增加<sup>[27]</sup>。但是,FA的浓度增加,FA对Cu<sup>2+</sup>的吸附能力不变,出现Cu<sup>2+</sup>的吸附量减少现象;这可能是由于电荷辅助氢键促进分子间力的增加使得FA分子之间发生酚羟基和羧基等官能团参与自聚集或均共轭<sup>[33,40]</sup>,FA中酚羟基和羧基总量降低;进而导致Cu<sup>2+</sup>的吸附量减少。

## 3 结论

红外光谱、荧光光谱及差分光谱等现代检测技术,对

FA与Cu<sup>2+</sup>络合前后动态特征分析,尤其是络合位点及络合过程规律揭示起到重要作用,揭示了FA中的酚羟基、羧基、含氮基团、pH值、离子浓度以及FA的组分差异等对FA与Cu<sup>2+</sup>络合的重要影响,有力促进了黄腐酸相关学科技术理论在现代农业、生态修复及环境治理等多领域科学应用。但是,综合目前研究结果可见,FA与Cu<sup>2+</sup>络合机制研究中仍存在问题及挑战;如,目前对FA与Cu<sup>2+</sup>络合过程探索均是基于实验室层面数据进行分析,对自然环境中FA与Cu<sup>2+</sup>络合应用研究非常欠缺;相关作用过程规律仍不清晰和系统性;FA的分子结构对络合作用机理影响还不精准、明确等,因此,面对黄腐酸相关在学科和行业领域迅猛发展的美好前景,未来这些问题亟需实现有效突破,以促进黄腐酸基础理论及应用的创新、健康、科学发展。

## References

- [1] Town R M, Duval J F L, van Leeuwen H P. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(20): 11682.
- [2] Ikeya K, Hikage T, Arai S, et al. *Organic Geochemistry*, 2010, 42(1): 55.
- [3] Zhang Y, Liu W, Hu X, et al. *ChemistrySelect*, 2019, 4(4): 1448.
- [4] These A, Winkler M, Thomas C, et al. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2004, 18(16): 1777.
- [5] Li H, Li Y, Li C. *Asian Journal of Chemistry (Asian J. Chem.)*, 2013, 25(18): 10087.
- [6] Iimura Y, Ohtani T, Chersich S, et al. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2012, 58(4): 404.
- [7] Liang Y, Ding Y, Wang P, et al. *Science of the Total Environment*, 2019, 656: 521.
- [8] Fuentes M, Olaetxea M, Baigorri R, et al. *Journal of Geochemical Exploration*, 2013, 129: 14.
- [9] Li W, Zhang F, Ye Q, et al. *Chemosphere*, 2017, 172: 496.
- [10] Klencsár Z, Köntös Z. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2018, 122(12): 3190.
- [11] Xing G, Garg S, Miller C J, et al. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(4): 2334.
- [12] Rong Q, Zhong K, Huang H, et al. *Applied Sciences*, 2020, 10: 1077.
- [13] Dos Santos J V, Fregolente L G, Mounier S, et al. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 205: 111173.
- [14] Chen W, Habibul N, Liu X, et al. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(4): 2052.
- [15] Hur J, Lee B. *Chemosphere*, 2011, 83(11): 1603.
- [16] Ephraim J, Alegret S, Mathuthu A, et al. *Environmental Science & Technology*, 1986, 20(4): 354.
- [17] Ephraim J, Marinsky J A. *Environmental Science & Technology*, 1986, 20(4): 367.
- [18] Xu J, Tan W, Xiong J, et al. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2016, 473: 141.
- [19] Saito T, Nagasaki S, Tanaka S, et al. *Radiochimica Acta*, 2004, 92: 567.
- [20] Kinniburgh D G, Milne C J, Benedetti M F, et al. *Environmental Science & Technology*, 1996, 30(5): 1687.
- [21] Milne C J, Kinniburgh D G, van Riemsdijk W H, et al. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(5): 958.
- [22] Zhang Z, Lü C, He J, et al. *Chemosphere*, 2018, 191: 458.
- [23] Sahuquillo A, Rigol A, Rauret G. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2003, 22(3): 152.
- [24] Shi W, Lü C, He J, et al. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 154: 59.
- [25] Yan M, Dryer D, Korshin G V, et al. *Water Research*, 2013, 47(2): 588.
- [26] Croué J P, Benedetti M F, Violleau D, et al. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(2): 328.
- [27] Boguta P, D'Orazio V, Sokolowska Z, et al. *Journal of Geochemical Exploration*, 2016, 168: 119.
- [28] Puy J, Galceran J, Huidobro C, et al. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(24): 9289.
- [29] Rey-Castro C, Mongin S, Huidobro C, et al. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(19): 7184.
- [30] Xu H, Guan D, Zou L, et al. *Environmental Pollution*, 2018, 239: 205.
- [31] Yang K, Miao G, Wu W, et al. *Chemosphere*, 2015, 138: 657.
- [32] Esteves Da Silva J C G, Adelio A S C. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 1997, 32(4): 469.
- [33] Esteves Da Silva J C G, Oliveira C J S. *Water Research*, 2002, 36(13): 3404.
- [34] He E, Lü C, He J, et al. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(22): 22667.
- [35] Wang J, Lü C, He J, et al. *Environmental Earth Sciences*, 2016, 75(9): 768.

- [36] Xiong J, Koopal L K, Tan W, et al. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(20): 11634.
- [37] Iglesias A, López R, Fiol S, et al. *Water Research*, 2003, 37(15): 3749.
- [38] Zhang Z, Shi W, Ma H. *Water Air Soil Pollut*, 2020, 231: 184.
- [39] Li H, Wang J, Zhao B, et al. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 162: 514.
- [40] Liu S, Liu Y, Pan B, et al. *Chemosphere*, 2020, 245: 125612.

## The Spectroscopic Characteristics of Fulvic Acid Complexed With Copper Ion and the Construction of the Mechanism of Action

XU Heng-shan<sup>2</sup>, GONG Guan-qun<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Ying-jie<sup>1,2</sup>, YUAN Fei<sup>2</sup>, ZHANG Yong-xia<sup>2</sup>

1. Key Laboratory of Coal Processing and Efficient and Clean Utilization, Ministry of Education, Xuzhou 221116, China

2. School of Chemical Engineering, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China

**Abstract** The divalent metal ion  $\text{Cu}^{2+}$  exceeds the standard in water sources and soils around many industrial and mining enterprises, causing deterioration of the ecological environment, and traditional chemical and biological treatments are prone to secondary pollution. Fulvic acid is composed of molecular clusters with similar properties. It has the characteristics of good water solubility, strong complexation and high chemical activity. It can efficiently control the distribution, migration and bioavailability of  $\text{Cu}^{2+}$  in the environment and is a hot spot in scientific research in recent years. Modern multispectral characterization analysis is helpful to reveal the changes in the structure-activity relationship between fulvic acid and metal ions, environmental effects and the migration behavior of heavy metal ions. It has important scientific value for studying the characteristics and mechanism of the complexation process of fulvic acid and  $\text{Cu}^{2+}$ . This article reviews the basic theoretical research on the complexation of fulvic acid with  $\text{Cu}^{2+}$  in recent years. This paper further analyzes the characterization of fulvic acid and  $\text{Cu}^{2+}$  before and after complexation through infrared spectroscopy, fluorescence spectroscopy, differential spectroscopy, and interdisciplinary collaborative research. The effects of pH, ion concentration and the difference in composition of fulvic acid on the complexation process were discussed. The complex sites' structural characteristics and action rules between fulvic acid and  $\text{Cu}^{2+}$  are revealed. Oxygen-containing acidic functional groups, such as carboxyl and phenolic hydroxyl, are the main complex sites between the complexation process of  $\text{Cu}^{2+}$  and fulvic acid. The carboxyl site has a significant ability to complex  $\text{Cu}^{2+}$ . The phenolic hydroxyl site is helpful to increase the stability of the  $\text{Cu}^{2+}$  and fulvic acid complex, and the nitrogen-containing functional group also plays an important role in the complex process. On this basis, this article further points out that the change of pH value will change the affinity of the active site of fulvic acid to  $\text{Cu}^{2+}$ , the reason is mainly related to the ion exchange between  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{H}^+$  on the active site and the electrostatic attraction of fulvic acid. The difference in FA components affects the complexation of FA and  $\text{Cu}^{2+}$ , which is mainly reflected in the different numbers of phenolic hydroxyl, carboxyl and nitrogen-containing functional groups in different FA. The coexistence of  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{Al}^{3+}$  the solution will have significant competition with  $\text{Cu}^{2+}$  at the active binding site of fulvic acid. At the same time, the concentration of non-strong adsorption ions such as  $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$  in the solution environment increases, so that a large number of positively charged ions in the solution enter the electronic layer of fulvic acid nearby to enhance the charge shielding effect, inhibiting the complexation of  $\text{Cu}^{2+}$  and FA. Finally, this paper summarizes and looks forward to the problems and challenges of coexistence of scientific application of fulvic acid-related disciplines and technical theories in modern agriculture, ecological restoration and environmental governance.

**Keywords** Fulvic acid; Copper ion; Ion complexation; Active site; Spectral characterization; Mechanism of action

(Received Mar. 26, 2021; accepted Jun. 21, 2021)

\* Corresponding author