

# 胡敏酸衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱研究

马连刚<sup>1,2</sup>, 肖保华<sup>1</sup>, 唐 婷<sup>1</sup>

(1. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002;

2. 中国科学院 研究生院, 北京 100049)

**摘要:**胡敏酸是土壤有机质的重要组成部分。胡敏酸的物化结构和特性直接影响其环境地球化学行为,因此,也是胡敏酸地球化学研究的重要内容。傅里叶变换-红外光谱是胡敏酸物化结构和性质研究的强大工具,以往的研究通常采用压片-透射吸收法来研究分析胡敏酸的有机官能团信息。本工作采用透射-傅里叶变换-红外光谱和衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱两种分析方法对比研究了黄壤和石灰土中胡敏酸的有机官能团信息。结果表明,两种分析方法给出完全一致的研究结果,即:黄壤胡敏酸脂肪碳含量较高,芳香结构含量较低;石灰土胡敏酸分子的脂肪碳含量较低,芳香结构和含氧官能团含量较高。比较而言,衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱操作简便,无需对待测胡敏酸样品进行预处理,可以广泛地应用于胡敏酸红外光谱的分析。

**关键词:**胡敏酸;衰减全反射;傅里叶变换红外光谱;自然土壤

**中图分类号:** S153 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-9250(2014)01-0055-07

胡敏酸(Humic acids)是一类非均质的大分子有机聚合物,它广泛分布于土壤、沉积物等地表系统中<sup>[1]</sup>。通常它被人为的定义为溶解于碱但不溶于酸的那一部分天然腐殖质<sup>[2]</sup>。胡敏酸的物理化学结构复杂,研究者已提出了很多分子结构模型<sup>[3-5]</sup>。胡敏酸构象易随其所处的环境变化而改变。大多数土壤中溶液中,由于胡敏酸浓度不高,且土壤溶液氢离子浓度和无机盐浓度不高,胡敏酸呈自由线性胶体态,一旦土壤溶液的条件发生变化,胡敏酸就可能卷曲浓缩成纺锤状构象<sup>[6]</sup>。胡敏酸具有双亲特性,其疏水端能够与疏水有机污染物发生相互作用,进而影响该类污染物的迁移和转化<sup>[7]</sup>,同时,胡敏酸的亲水端能与金属离子发生络合作用,从而影响有毒金属离子的生物有效性<sup>[8]</sup>。统计研究发现,胡敏酸是土壤有机质的主要组成物质,全球土壤有机碳含量高达 1500~2000 Gt,远高于陆地植被碳库与大气碳库之和(陆地植被碳库:450~650 Gt,大气碳库 760 Gt)<sup>[9]</sup>。鉴于这种情况,可以想象,占土壤有机碳绝大部分(50%~80%)的腐殖

质,尤其是相对比较稳定的胡敏酸组分的很小变化,将对全球碳平衡和气候变化产生重要的影响。鉴于胡敏酸这些重要的环境地球化学特性,对胡敏酸结构的深刻认识已经成为环境有机质地球化学研究的热点。

为了充分揭示胡敏酸的分子结构与其环境地球化学行为的联系,研究者不断地运用各种先进技术手段对其结构进行表征,如傅里叶变换-红外光谱、裂解-质谱仪和固体<sup>13</sup>C-核磁共振<sup>[10]</sup>。傅里叶变换-红外光谱作为有机物结构分析的重要工具,在胡敏酸的结构表征研究中有广泛的运用<sup>[11-15]</sup>。Josanaide 等人的研究指出,虽然不能根据胡敏酸的红外光谱建立起清晰的胡敏酸分类标准,但是不同来源的胡敏酸红外光谱确实存在着差异<sup>[11]</sup>。由于胡敏酸是一种天然高度缩合的大分子有机化合物,结构复杂,而且多种官能团的吸收频率相互叠加,增加了解析的难度,因此,傅里叶变换-红外光谱一般只用于胡敏酸的定性或半定量研究<sup>[16]</sup>。同时,由于胡敏酸对红外光谱吸收较强,以往的研究都是将

收稿日期:2013-03-08;改回日期:2013-08-27

基金项目:中科院“百人计划”资助项目、国家自然科学基金资助项目(41273149)、贵州科技计划项目(黔科合 SY 字[2011]3109)

第一作者简介:马连刚(1983-),男,博士研究生,从事环境地球化学研究,E-mail: maliangang@mail.gyig.ac.cn.

\* 通讯作者:肖保华,研究员,从事环境地球化学研究,E-mail: xiaobaohua@mail.gyig.ac.cn.

胡敏酸与卤化物(一般为 KBr)按一定比例混合研磨,经压片,然后测试其透射光谱。连续波长的红外光源照射样品后,样品中的分子会吸收特定波长的红外光,没有被吸收的红外光到达检测器,检测器将检测到的光信号经过模数转换,再经过傅里叶变换,即可得到样品的常规透射-傅里叶变换-红外光谱。常规透射-傅里叶变换-红外光谱的压片过程复杂,且压片过程引起的样品水分的变化难于重复,使得红外光谱图中水(缔合-OH 伸缩振动)的吸收峰不一致,极大的限制了红外光谱技术在胡敏酸结构研究中的应用。随着技术的进步,出现了衰减全反射(Attenuate Total Reflectance, ATR)红外光谱。衰减全反射红外光谱根据红外光束由光密介质射入光疏介质,入射角大于临界角时,光线在两种光学介质界面上发生全反射现象的原理设计的。图 1 是水平 ATR 附件的光路示意图,光密介质是高折射率的晶体材料,如 KRS-5、锗、ZnSe 晶体等,低折射率的待测样品置于晶体材料上方,当红外光以大于临界角的入射角从晶体里面射向晶体与样品接触的界面时,红外光在晶体里面发生全反射,同时在晶体反射点的外表面产生驻波,这个驻波的振幅随空间急剧衰减而消失,称为衰减反射波。当样品与晶体外表面接触时,在每个反射点衰减反射波都穿入样品,样品选择性吸收,从衰减反射波的能量变化可以得到样品吸收的信息,从而得到样品的红外吸收光谱。衰减反射波穿入样品的距离称为穿透深度。穿透深度  $D$  可用式(1)表示。由公式(1)可以看出,入射光波长越长,穿透深度越深;晶体的折射率越大,穿透深度越浅;样品的折射率越大,穿透深度越深;入射角  $\alpha$  越大,穿透深度越浅,入射角  $\alpha$  越小,穿透深度越深。由此可见,在用衰减全反射附件测定样品的红外光谱时,由于短波与长波穿透深度不同,所得到的光谱图低波数区吸收峰的强度要比高波数区强很多,因此,要对 ATR 附件测得的光谱进行校正,现在的红外光谱仪一般都带有自动识别校正的功能<sup>[17]</sup>。利用衰减全反射红外光谱测试样品,不需要对样品进行处理,对样品的大小、形状、含水量没有特殊要求,可实现原位测试、实时跟踪,但衰减全反射所获得的是样品表面的信息,对于胡敏酸这种非均质的物质来说,其衰减全反射红外光谱是否与其红外透射光谱相似,是否可以利用衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱表征胡敏酸还未见研究。本文的目的是通过比较两

种土壤胡敏酸样品的衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱与透射-傅里叶变换-红外光谱的异同,拓展衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱的应用领域。

$$D = \frac{\lambda}{2\pi n_c \left[ (\sin \alpha)^2 - \left( \frac{n_s}{n_c} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}}} \quad (1)$$

$\lambda$ : 入射波长,  $n_c$ : 晶体折射率,  $n_s$ : 样品折射率,  $\alpha$ : 入射角。

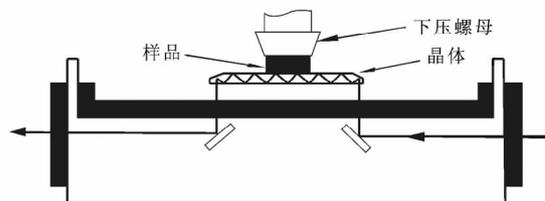


图 1 水平 ATR 附件的光路示意图

Fig. 1 The optical diagram of horizontal ATR kit

## 1 材料与方法

### 1.1 胡敏酸的制备

土壤胡敏酸从黄壤和石灰土中提取,提取方法参考国际腐殖质协会推荐方法,并做了适当修改<sup>[10]</sup>。即称取石灰土样品 100 g, 记为 L1; 黄壤样品 100 g, 记为 Y1。首先,取土壤样品 L1,放入聚四氟乙烯的离心瓶中,先加入少量(记下体积)1 M (mol/L)与土壤混合,并调节 pH 1~2,然后加入 0.1 M,使液体体积与土壤重量达到 4:1,摇晃 1 h,离心(10 min, 3500 r/min)去除酸化上清液。残留土壤用 1 M NaOH 溶液调节 pH 7 后,在氮气保护下,加入 0.5 M NaOH 400 mL,摇晃 4 h 后,离心分离黑褐色提取液,一边搅拌,一边向提取液中添加 6 M HCl 酸化至 pH1,静置 12 h 后,离心(10 min, 3500 r/min)得胡敏酸沉淀,舍去上清液。土壤残渣继续加入 0.5 M NaOH 溶液反复提取,直至提取液清亮为止。最后将所得胡敏酸合并后加入 0.1 M KOH 溶液(液体体积与固体重量比约为 10:1),并添加适量固体 KCl,使  $K^+$  浓度达 0.3 M,在氮气保护下搅拌 0.5 h 后,离心(10 min, 10000 r/min)得上层液体胡敏酸,沉淀为无机颗粒残渣,可丢弃。然后加入 6 M HCl 酸化胡敏酸至 pH 1,静置 12 小时后得沉淀,沉淀加入混酸(0.1 M HCl/0.3 M HF, 液体体积与固体重量比约为 10:1)处理,摇晃 24 h,如此反复处理两次后,离心弃上清液,沉淀转入透析袋,于超纯水中透析至无  $Cl^-$  后,冷冻干燥,

记为 HAL1,放置于防潮柜中保存,待分析。对于黄壤样品 Y1,胡敏酸的提取过程与石灰土提取过程基本一致,只是黄壤样品在加入 0.5 M NaOH 溶液提取胡敏酸之前,不需要进行酸化处理,所得胡敏酸记为 HAY1。胡敏酸 HAL1 和 HAY1 的元素组成通过元素分析仪获得,胡敏酸的 E4/E6(胡敏酸溶液在 465nm 与 665nm 处吸光度比值)比例采用 Agilent Technologies Cary series UV-VIS 分光光度计测定。胡敏酸 HAY1, HAL1 的基本性质见表 1。

## 1.2 傅里叶变换红外光谱分析

### 1.2.1 透射光谱

胡敏酸红外透射光谱通过称取 1 mg 样品与 160 mg KBr(105℃烘干,光谱纯)混和研磨后压片,研磨过程在红外恒温箱内进行,压片需要有经验的实验人员进行指导,压制好的薄片直径 10 mm,厚 1 mm,放入薄片夹,然后插入红外光路插槽,进行红外光谱透射扫描。红外光谱仪为 Bruker VERTEX 70 型傅立叶变换-红外光谱仪,分辨率 4  $\text{cm}^{-1}$ ,扫描范围 4000~400  $\text{cm}^{-1}$ 。

### 1.2.2 衰减全反射光谱

胡敏酸衰减全反射-红外光谱只需将适量(约 1mg)胡敏酸样品直接放到 Bruker VERTEX 70 傅里叶变换-红外光谱仪配制的 ATR 附件晶体面上,旋紧螺母,压住样品,使样品紧贴晶体,然后进行扫描,扫描精度为 4  $\text{cm}^{-1}$ ,扫描范围 4000~400  $\text{cm}^{-1}$ 。在衰减全反射光谱模式下,仪器记录的是红外吸光度与波数,最后要对此信号进行波长校正。

## 2 结果与讨论

### 2.1 透射-傅里叶变换-红外光谱

图 2 展示了胡敏酸 HAL1 和 HAY1 的透射-傅里叶变换-红外光谱吸收图。胡敏酸红外光谱吸收峰与胡敏酸分子内运动的对应关系为:3500~2500  $\text{cm}^{-1}$ (缩合-O 伸缩振动),3000~2800  $\text{cm}^{-1}$ (C-H 伸缩振动),1710  $\text{cm}^{-1}$ (C=O 伸缩振动),

1630  $\text{cm}^{-1}$ (C=C 及带氢键的 C=O 伸缩振动),1525  $\text{cm}^{-1}$ (芳香 C=C 伸缩振动),1450  $\text{cm}^{-1}$ (C-H 变形与弯曲),1400  $\text{cm}^{-1}$ (醇和羧基中 OH 弯曲振动,酚 C-O 伸缩振动),1250  $\text{cm}^{-1}$ (C-O 伸缩振动,O-H 弯曲变形),1170  $\text{cm}^{-1}$ (醇羟基 C-O 伸缩振动),775  $\text{cm}^{-1}$ (芳香环上 C-H 弯曲)<sup>[18]</sup>。总体来说,这两种胡敏酸的透射-傅里叶变换-红外光谱吸收图与文献中报道的图谱基本相似,说明本次试验提取的胡敏酸与之前研究者所用胡敏酸有非常相似的分子结构和官能团分布,通过对比表明,本次实验获得的图谱分辨率较高,且在 3500~2500  $\text{cm}^{-1}$  处,水缔合-OH 伸缩振动吸收的干扰较小,使得 3000~2800  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收更明显<sup>[2, 13, 19]</sup>,说明本次试验的研磨压片过程所引起水分改变与之前研究者的研磨压片过程所引起水分改变有较大差别。进一步比较胡敏酸 HAY1 和胡敏酸 HAL1,在 3000~2800  $\text{cm}^{-1}$  处,胡敏酸 HAY1 比胡敏酸 HAL1 的吸收强,这与表 1 中胡敏酸 HAY1 的 E4/E6 比例所得推论较为一致,有研究指出胡敏酸分子量大小与其 E4/E6 值呈负相关<sup>[20]</sup>,而胡敏酸分子量大小与其分子结构中脂肪碳含量呈正相关<sup>[13]</sup>,即分子量大的胡敏酸分子具有较高比例的脂肪碳含量,表 1 中胡敏酸 HAY1 的 H/C 比例较胡敏酸 HAL1 略高,但相差极小,这可能与胡敏酸本身的含水量有关。在 1630  $\text{cm}^{-1}$ , 1525  $\text{cm}^{-1}$ , 1170  $\text{cm}^{-1}$  和 775  $\text{cm}^{-1}$  等位置上,胡敏酸 HAL1 比胡敏酸 HAY1 的吸收强,说明石灰土胡敏酸分子内不饱和结构即芳香结构和含氧官能团含量较高。这与表 1 中胡敏酸 C/O 比例数据较为一致,同时与分子量较小的胡敏酸有较高比例的芳香结构和含氧官能团的观点一致<sup>[13]</sup>。

### 2.2 衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱

图 3 展示了未矫正的胡敏酸 HAL1 和 HAY1 的衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱吸收图。图中基本能够找到胡敏酸的特征吸收区段,由于水峰的影响,使得 3000~2800  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收不明显,

表 1 胡敏酸基本性质

Table1 the basic properties of humic acids

名称	元素组成 (wt%)			Atomic Ratio			Ash Content	E4/E6
	C	H	N	O	H/C	C/O	(wt%)	
HAY1	55.0	6.1	3.7	35.5	1.34	2.06	1.55	3.84
HAL1	53.3	5.9	5.3	35.6	1.32	1.99	2.99	5.29

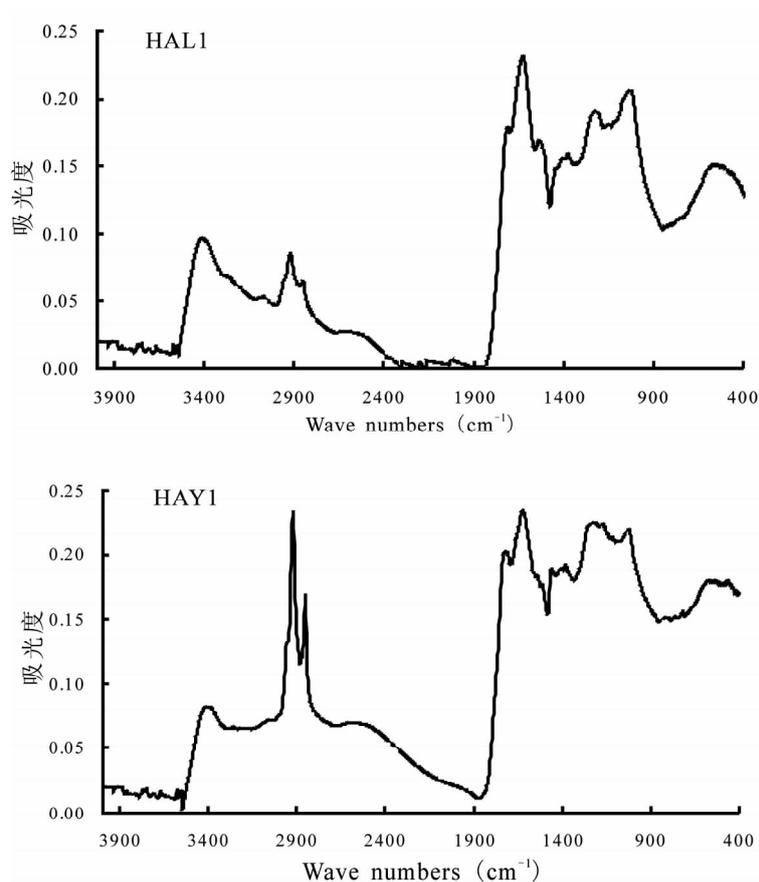


图2 胡敏酸透射傅里叶变换红外光谱

Fig 2 The T-FTIR of HAL1 (up) and HAY1 (down)

两种胡敏酸的红外光谱图已很难区分,同时我们还看到,与衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱机理推测一致,未校正的胡敏酸红外光谱吸收图出现了随光波长的增加,吸光度逐渐增大的趋势<sup>[17]</sup>。图4展示了经过校正的胡敏酸 HAL1 和 HAY1 衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱图。比较胡敏酸 HAY1 和胡敏酸 HAL1 的红外光谱图,在  $3000 \sim 2800 \text{ cm}^{-1}$  处,胡敏酸 HAY1 比胡敏酸 HAL1 的吸收强,胡敏酸 HAL1 在此处的 C—H 振动吸收几乎被水缔合—OH 伸缩振动吸收所掩盖,而在  $1630 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1525 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1170 \text{ cm}^{-1}$  和  $775 \text{ cm}^{-1}$  位置,胡敏酸 HAL1 比胡敏酸 HAY1 的吸收强,可见,这两种胡敏酸的红外吸收特征也可以通过衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱获得。进一步对比图2与图4,我们发现,图2中,在  $3500 \sim 2500 \text{ cm}^{-1}$  处,水缔合—OH 伸缩振动吸收较弱,与前人研究的胡敏酸红外光谱图差别较大,图4中,在  $3500 \sim 2500 \text{ cm}^{-1}$  处,水缔合—OH 伸缩振动吸收较强,对 C—H 伸缩振动的覆盖较大,这倒与先前研究者的胡敏酸红外光谱图较为相似<sup>[2, 13, 19]</sup>。这是衰减全反射-傅

里叶变换-红外光谱与透射-傅里叶变换-红外光谱的最大区别。本次透射-傅里叶变换-红外光谱实验中,研磨过程在红外恒温箱内进行,本次研磨过程对胡敏酸样品水分的改变与之前研究者研磨过程对水分的改变肯定不一致,也无法做到一致,因此,得到的透射-傅里叶变换-红外光谱与前人研究的胡敏酸透射-傅里叶变换-红外光谱在  $3500 \sim 2500 \text{ cm}^{-1}$  处吸收特征不一致<sup>[2, 13, 19]</sup>。仔细研究发现,前人研究研磨压片过程并没有在红外恒温箱内进行,而把水分作为胡敏酸的一部分同时进行分析,因此,所获得的透射-傅里叶变换-红外光谱图中水缔合—OH 伸缩振动吸收较强。本次衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱实验过程中,没有对样品就行预处理,其获取的衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱图中,携带了完整的水缔合—OH 伸缩振动吸收的信息,因此,在  $3500 \sim 2500 \text{ cm}^{-1}$  处,水缔合—OH 伸缩振动吸收特征与前人研究较为一致<sup>[2, 13, 19]</sup>。这说明水分含量可以作胡敏酸的一个特征参数,胡敏酸水分对红外光谱的吸收具有可重复性。胡敏酸研磨压片过程的非标准化,

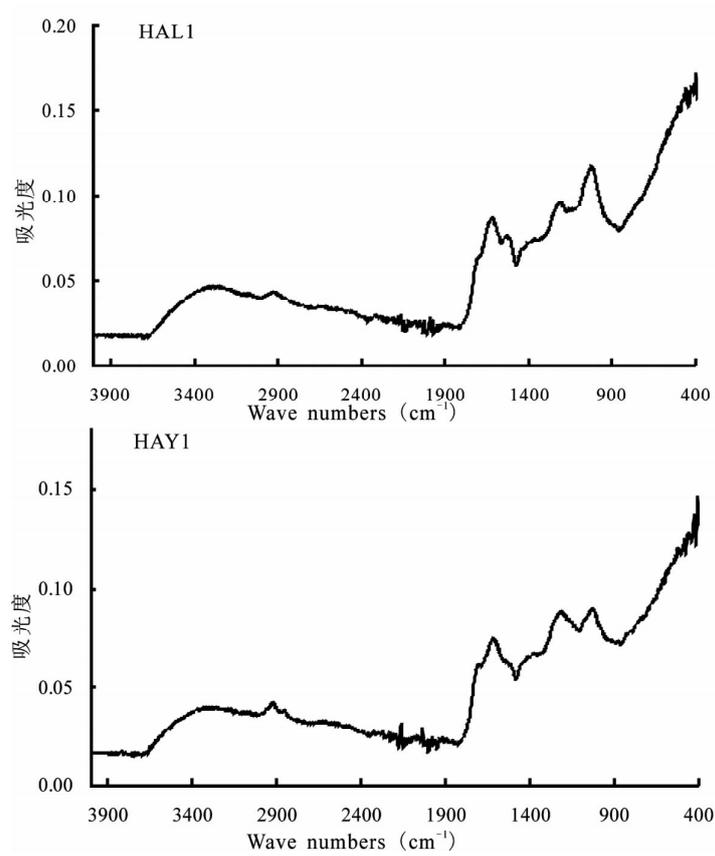


图 3 胡敏酸衰减全反射傅里叶变换红外光谱

Fig 3 The ATR-FTIR of HAL1 (up) and HAY1 (down)

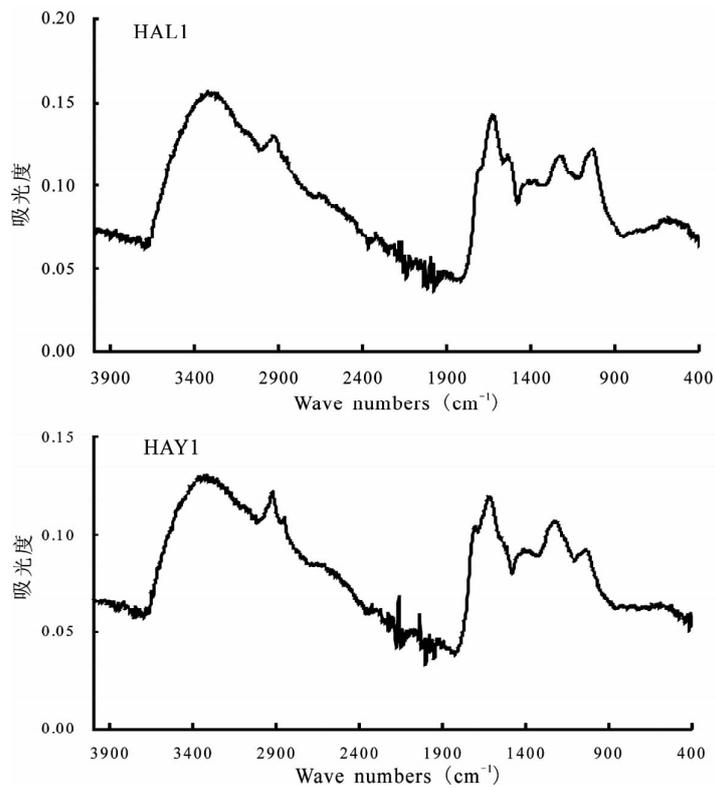


图 4 校正胡敏酸衰减全反射傅里叶变换红外光谱

Fig 4 The calibrated ATR-FTIR of HAL1 (up) and HAY1 (down)

引起胡敏酸样品水分的改变不一致,极大的限制了透射-傅里叶变换-红外光谱在胡敏酸结构分析的运用。而在衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱实验过程中,无需对样品就行预处理,其获取的衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱图中,水缔合-OH 伸缩振动吸收特征具有可重复性。更进一步地说明衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱可以替代透射-傅里叶变换-红外光谱对胡敏酸分子结构进行定性与半定量分析。

### 3 结论

通过对比黄壤胡敏酸和石灰土胡敏酸的红外光谱分析表明,黄壤胡敏酸脂肪碳含量较高,芳香结构较低,分子量较大,而石灰土胡敏酸分子内脂

肪碳含量较低,不饱和结构即芳香结构和含氧官能团含量较高,分子量较小。比较透射-傅里叶变换-红外光谱与衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱,衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱不但不需要对胡敏酸样品进行预处理,操作简单,而且能够完全再现胡敏酸的透射-傅里叶变换-红外光谱的特征,因此,衰减全反射-傅里叶变换-红外光谱可以用来进行胡敏酸分子结构和官能团分析,是胡敏酸红外光谱分析的发展方向。

致谢:我们要感谢中国科学院地球化学研究所矿床地球化学国家重点实验室万泉研究员、博士生李姗姗在胡敏酸红外光谱分析过程中给予的大力帮助。

### 参 考 文 献

- [1] Hayes M H B, Maccarthy P, Malcolm R L, *et al.* Humic Substances II: In Search of Structure[M]. New York: John Wiley & Sons, 1989.
- [2] Stevenson F J. Humus Chemistry: Genesis, composition, reactions[M]. New York: John Wiley & Sons, 1994.
- [3] Fuchs. Die Chemie der Kohle[M]. Berlin: Springer, 1931.
- [4] Schnitze M, Khan S U. Humic substances in the environment[M]. New York: Dekker, 1972.
- [5] Stevenson I L, Schnitzer M. Transmission electron-microscopy of extracted Fulvic and Humic acids [J]. Soil Science, 1982, 133(3): 179-185.
- [6] Ghosh K, Schnitzer M. Macromolecular structures of Humic substances [J]. Soil Science, 1980, 129(5): 266-276.
- [7] Chiou C T, Kile D E, Brinton T I, *et al.* A comparison of water solubility enhancements of organic solutes by aquatic Humic materials and commercial Humic acids [J]. Environmental Science & Technology, 1987, 21(12): 1231-1234.
- [8] Kordel W, Dassenakis M, Lintelmann J, *et al.* The importance of natural organic material for environmental processes in waters and soils [J]. Pure and Applied Chemistry, 1997, 69(7): 1571-1600.
- [9] Post W M, Peng T H, Emanuel W R, *et al.* The globe carbon-cycle [J]. American Scientist, 1990, 78(4): 310-326.
- [10] Swift R S. Organic matter characterization[A]. Sparkes D L, Page A L, helmke P A and Sumner M E. Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods[M]. Madison, WI: Soil Sci. Soc. Am. 1996, 1018-1020.
- [11] Josanaide S R, Sonay S O, Garrigues S, *et al.* FTIR tentative characterization of humic acids extracted from organic materials [J]. Spectroscopy Letters, 2001, 34(2): 179-190.
- [12] Francioso O, Sanchezcortes S, Tugnoli V, *et al.* Infrared, Raman, and nuclear magnetic resonance (H-1, C-13, and P-31) spectroscopy in the study of fractions of peat humic acids [J]. Applied Spectroscopy, 1996, 50(9): 1165-1174.
- [13] Li L, Zhao Z Y, Huang W L, *et al.* Characterization of humic acids fractionated by ultrafiltration [J]. Organic Geochemistry, 2004, 35(9): 1025-1037.
- [14] Schnitzer M, Schuppli P. The extraction of organic-matter from selected soils and particle-size fractions with 0.5M NaOH and 0.1M Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> solutions [J]. Canadian Journal of Soil Science, 1989, 69(2): 253-262.
- [15] Sparks D L. Methods of soil Analysis: Chemical Methods[M]. Madison: Soil Science Society of America, 1996.
- [16] 李丽. 不同级分腐殖酸的分子结构特征及其对菲的吸附行为的影响[D]. 广州: 中国科学院广州地球化学研究所, 2003.
- [17] 翁诗甫. 傅里叶变换红外光谱分析[M]. 第二版. 北京: 化学工业出版社. 2009, 155-163.
- [18] Baes A U, Bloom P R. Diffuse reflectance and transmission Fourier transform infrared (DRIFT) spectroscopy of humic and fulvic acids [J]. Soil Science Society of America Journal, 1989, 53(3): 695-700.

- [19] Li L, Huang W L, Peng P, *et al.* Chemical and molecular heterogeneity of humic acids repetitively extracted from a peat [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2003, 67(3): 740-746.
- [20] Chen Y, Senesi N, Schnitzer M. Information provided on humic substances by E4-E6 ratios [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1977, 41(2): 352-358.

## Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared-Spectroscopic Study on Humic Acids in Soil

MA Lian-gang<sup>1,2</sup>, XIAO Bao-hua<sup>1</sup>, Tang Ting<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Science, Guiyang 550002, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Humic acids (HAs) are important constituents of soil organic matter, whose physicochemical properties and molecular structures are important to their environmental geochemical behaviors. Fourier-Transform Infrared Spectroscopy is one powerful tool for characterizing organic functional groups of humic acids, with a classic method of pressing pellets-transmission mode. This study employed and compared two different Fourier Transform Infrared Spectroscopy methods, Transmission-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (T-FTIR) and Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR), to characterize humic acids extracted from two natural soils, yellow earth and limestone soil. The results obtained from the two methods are identical, that is, humic acids extracted from yellow earth, have high contents of aliphatic carbons and low contents of aromatic compositions, whereas, humic acids extracted from the limestone soil contain low contents of aliphatic carbons and high contents of aromatic compositions. Since the operation procedures of Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy are much easier, for example, pellet pressing is not required, it is believed that Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy is a promising experimental method to characterize natural organic matter.

**Key words:** humic acids; ATR-FTIR; T-FTIR; natural soil