

СРАВНЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ УГЛЕРОДА ПО ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ ГРУППАМ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ, ПОЛУЧЕННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫМИ ЩЕЛОЧНЫМИ ЭКСТРАКЦИЯМИ*

В.А. Холодов¹, Н.А. Куликова², А.И. Константинов², И.В. Перминова²

¹Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва,

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, vk123@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Для изучения гуминовых веществ *in vitro* обычно необходимо выделять их в препаративной форме. Особое внимание уделяется изучению гуминовых кислот (ГК). В настоящее время существуют два основных метода выделения препаратов ГК из почвы: принятый в Российской школе почвоведения (Орлов и Гришина, 1981) и международный (Swift, 1996), рекомендованный Международным гуминовым обществом (IHSS). В целом оба метода схожи, основным отличием является то, что в международном методе после декальцирования проводится только одна щелочная экстракция гуминовых веществ, в то время как в российском методе рекомендуют проводить не менее трёх экстракций, считая, что «гумусовые вещества в первых порциях экстракта могут несколько отличаться по своим свойствам и составу от веществ, экстрагируемых позднее» (Орлов и Гришина, 1981). В связи с этим, для ответа на вопрос, возможно ли сопоставлять данные о строении и структуре ГК, выделенных различными способами, возникает необходимость сравнения ГК, получаемых обоими методами.

Целью работы было сравнение элементного состава и распределения углерода по функциональным группам в ГК индивидуальных последовательных щелочных вытяжках из декальцированного типичного чернозема.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выделения препаратов ГК был использован средний образец из слоя 5-15 см гумусоаккумулятивного горизонта чернозёма типичного мощного ежегоднокосимой степи Центрально-Чернозёмного государственного биосферного заповедника им. Алёхина Курской области. Образец был охарактеризован принятыми в почвоведении методами, полученные показатели были характерными для типичных черноземов (Чернозёмы СССР т I, 1974; Чернозёмы ЦЧО и их плодородие, 1964).

500 г почвы было декальцировано соляной кислотой, затем в соотношении 1/10 в течение суток была проведена экстракция 0,1 М

NaOH. Полученные экстракты не объединялись. Всего было получено три щелочных вытяжки, все они были подвергнуты процедурам отделения фульвокислот, очистке и сушке в соответствии с (Swift, 1996). В итоге было получено три препарата ГК чернозема, которые по номеру экстракции были названы соответственно ГК-1, ГК-2 и ГК-3.

В полученных препаратах был определен элементный состав, а также - методом ^{13}C -ЯМР спектроскопии в жидкой фазе - распределение углерода по структурным фрагментам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все три полученных препарата были взвешены для оценки количества выхода ГК в препаративной форме в ходе каждой экстракции. После первой щелочной экстракции было получено 6,4 г препарата (ГК-1), после второй - 1,6 г (ГК-2), третьей - 0,5 г (ГК-3). Таким образом, количество получаемого препарата после каждой экстракции уменьшалось в 3-4 раза в сравнении с предыдущей. Элементный состав всех трёх препаратов представлен в таблице 1.

В целом элементные составы всех трёх ГК были близки между собой, все полученные значения укладываются в характерные для ГК чернозёмов диапазоны, приводимые в литературе (Орлов, 1985; Безуглова, 2001). При этом ГК-2 и ГК-3 практически не отличаются друг от друга - все различия в значениях показателей элементного состава меньше ошибки определения.

Таблица 1. Элементный состав ГК, трех последовательных экстракций

Препарат ГК	Атомные соотношения			Зольность, %
	H/C	O/C	C/N	
ГК-1	0,70	0,49	16,88	2,1
ГК-2	0,83	0,51	14,04	2,7
ГК-3	0,81	0,51	13,51	2,0

Элементный состав ГК-1, несколько отличался от двух других препаратов. В ГК, полученных в ходе первой экстракции, было несколько уже отношение H/C и шире C/N в сравнении с ГК-2 и ГК-3. Однако в целом, данные элементного анализа указывают на то, что по своему составу все три препарата весьма близки между собой.

Если строение всех рассматриваемых ГК было весьма близким, то по своей структуре они заметно отличались (табл. 2).

Таблица 2. Распределение углерода по структурным фрагментам в препаратах ГК трёх последовательных экстракций

Препарат	Распределение углерода, % от общего С					
	$C_{\text{Алк-Н,Р}}$	$C_{\text{Алк-О}}$	$C_{\text{Аг-Н,Р}}$	$C_{\text{Аг-О}}$	$C_{\text{СОО-Н,Р}}$	$C_{\text{С-О}}$
ГК-1	9,3	10,1	44,3	12,7	19,2	4,4
ГК-2	15,0	26,2	24,9	9,1	16,6	8,3
ГК-3	18,0	25,6	20,4	8,0	16,6	11,4
Средневесовое значение по всем препаратам	10,9	14,0	39,2	11,7	18,5	5,5

Как можно видеть, с каждой экстракцией в ГК снижается количество функциональных групп (незамещенной ароматики ($C_{\text{Аг-Н,Р}}$), замещенной ароматики ($C_{\text{Аг-О}}$) и карбоксилов ($C_{\text{СОО-Н,Р}}$). Одновременно, в препаратах возрастает количество незамещенных ($C_{\text{Алк-Н,Р}}$) и замещенных ($C_{\text{Алк-О}}$) алифатических фрагментов. Таким образом, можно говорить о том, что от экстракции к экстракции ГК теряют свойства, присущие гуминовым веществам.

С каждой экстракцией в ГК регистрировали возрастание содержания кетонных и хинонных групп, скорее всего это связано с возрастающей погрешности прибора. Так-так регистрация пиков углерода этих групп методом ^{13}C -ЯМР имеет большую погрешность (Ковалевский и др., 2000) и при слабом характеристическом сигнале отражает не истинное содержание углерода в группах, а уровень «шума». Именно такую зависимость отмечали при регистрации ^{13}C -ЯМР спектров: с каждой экстракцией «шум» прибора возрастал.

На рисунке 1 приведены ^{13}C -ЯМР спектры ГК первой и последней экстракций. Как можно видеть, в препарате, полученном из первой экстракции, регистрируются хорошо оформленные, существенно преобладающие над «шумом», характеристические сигналы, в то время как в препарате ГК-3 «шум» сопоставим с характеристическими сигналами. Это указывает на проблематичность отнесения ГК-3 к гуминовым кислотам, скорее корректнее было бы говорить о гуминоподобных веществах.

В последней строчке табл. 2 приведены средневесовые значения распределения углерода по структурным фрагментам. Эти значения рассчитаны для ГК, которые были бы получены при объединении всех трёх вытяжек в одну с учётом вклада по массе каждого полученного препарата ГК. Как можно видеть, несмотря на довольно серьезные отличия препаратов разных вытяжек, рассчитанные средневесовые значения весьма близки к данным, полученным для ГК первой вытяжки. Это

означает, что в случае получения ГК из последовательной трёхкратной объединенной щелочной вытяжки, их структура практически повторяла бы структуру ГК, извлекаемых первой экстракцией. Таким образом, основной вклад в структуру ГК по данным ^{13}C -ЯМР спектроскопии вносит только первая вытяжка.

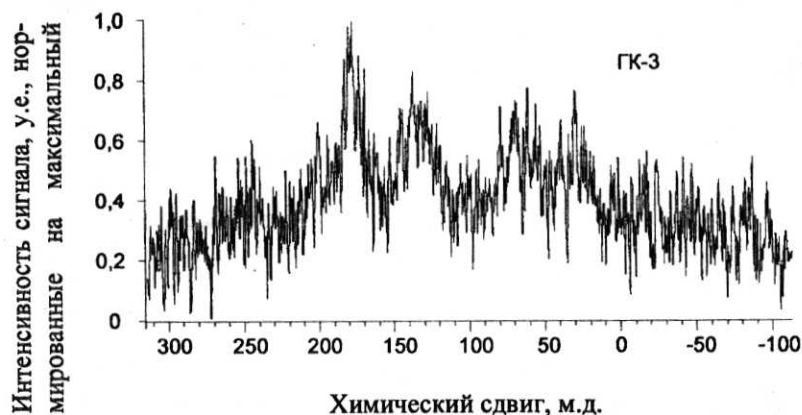
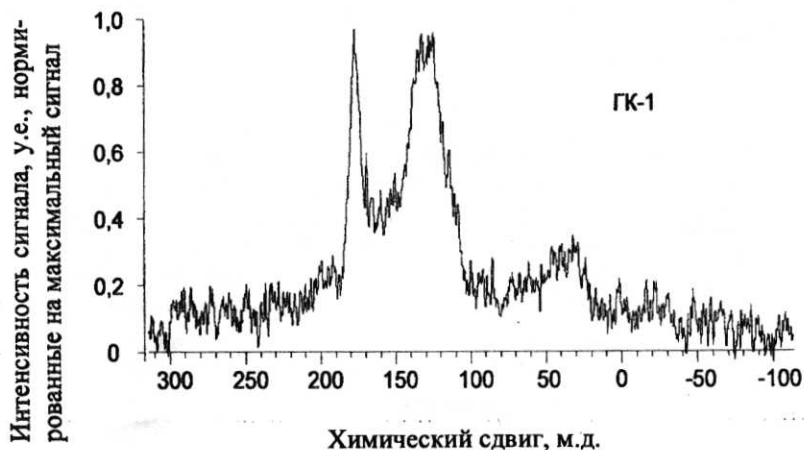


Рис. 1. ^{13}C -ЯМР спектры ГК первой и последней экстракций

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования демонстрируют, что в случае типичного чернозема, элементный состав последовательно извлекаемых ГК

меняется незначительно. В то же время в их структуре, по данным ^{13}C -ЯМР спектроскопии, происходят серьезные изменения – уменьшается количество функциональных групп и нарастает доля алифатических структур, причем ГК, полученные в результате третьей экстракции уже затруднительно классифицировать как гуминовые кислоты. Однако в связи с тем, что препаративный выход ГК от экстракции к экстракции очень резко снижается (в 3-4 раза), основной вклад в состав и свойства среднего образца ГК, получаемого в результате объединения всех вытяжек, будет вносить только первая экстракция. Это факт делает возможным сопоставление данных о ГК выделенных методом, принятым в России с препаратами, полученными в соответствии с рекомендациями IHSS.

Следует отметить, что многократные экстракции делают выделение гуминовых препаратов весьма трудоемким процессом. Учитывая это, в случае типичного чернозема можно рекомендовать при выделении препаратов ГК ограничиваться одной экстракцией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Безуглова О.С. Гумусное состояние почв юга России. Ростов-на-Дону: Изд-во СКНЦ ВШ, 2001, 228 с.
2. Ковалевский Д. В., Пермин А. Б., Перминова И. В., Петросян В. С. Выбор условий регистрации количественных ^{13}C ЯМР-спектров гумусовых кислот. Вестн. Моск. Ун-та. сер. 2. Химия, т. 41, № 1, 2000. сс. 39-42
3. Орлов Д.С., Гришина Л.А. Практикум по химии гумуса. М.: Изд-во МГУ, 1981. 272 с.
4. Орлов Д.С. Химия почв. М.: Изд-во МГУ, 1985. 376 с.
5. Чернозёмы СССР, т. I, М.: «Колос», 1974. 560 с.
6. Чернозёмы ЦЧО и их плодородие. М.: «Наука», 1964. 92 с.
7. Swift R.S. Organic matter characterization. In.: Methods of Soil Analysis, 1996. pp. 1011-1069.