

ское хозяйство развито на высоком уровне с использованием передовых технологий и, как следствие, получают высокие урожаи. При этом это очень открытый для производителей регион – приходи и продавай.

Ред. – Насколько я могу понять у Вас в Краснодарском крае все хорошо?

Леонид Тугаринов – В Краснодарском крае мы активно работаем и действительно этот регион лидер по продажам Лигногумата в России. Надо отдать должное нашим партнерам в Краснодаре, они осуществляют мощную рекламную поддержку и квалифицированное научное сопровождение. Можно много говорить о Краснодарском крае, но я хочу отметить только один факт, наш Лигногумат применяет самое крупное сельскохозяйственное предприятие Краснодарского края ЗАО Фирма «Агрокомплекс» Выселковского района. Это не только самое крупное хозяйство, но и самое развитое в плане применения новых технологий и препаратов. Для того чтобы понять масштаб этого хозяйства достаточно взглянуть ТОП-100 Российских хозяйств.

Ред. – Вы упоминали, что Ваша компания активно работает на зарубежном рынке, расскажите, пожалуйста, о результатах. Тяжело ли выходить со своим препаратом в другие страны?

Леонид Тугаринов – На сегодняшний день мы продаем Лигногумат в 11 стран мира, со многими ведем переговоры или проводим регистрационные действия. Работать за границей не просто, в каждой стране есть свои особенности и свой менталитет. Стоит выделить страны СНГ, где мы также добиваемся больших успехов: Украина, Казахстан и Молдова потребляют значительные объемы Лигногумата. Недавно состоялись первые поставки в Армению. В данный момент мы проводим регистрационные действия в Белоруссии. Также нашим стратегическим направлением является работа со странами Европейского Союза. Благодаря тому, что Лигногумат зарегистрирован по стандартам ЕС, мы имеем возможность продавать его во многих странах ЕС. Например, активно идут продажи в Чехии, Германии, Великобритании, Венгрии, Австрии, Румынии, Польше, постепенно налаживаем поставки в США, ведем государственную регистрацию в Канаде.

Ред. – Неужели все так безоблачно, все получается и нет никаких проблем?

Леонид Тугаринов – Конечно, на первый взгляд может так показаться, но за всеми успехами стоит большая и кропотливая работа наших специалистов. В любой работе есть свои трудности, но мы имеем Лигногумат – очень качественный продукт мирового уровня, а также сплоченную команду специалистов, которые не боятся решать сложные задачи и это приносит успех.

Ред. – Спасибо за эту содержательную и откровенную беседу. Надеюсь, что Вас и всех наших читателей заинтересуют статьи, которые мы публикуем в этом номере и, возможно, в будущем состоится дискуссия по этой тематике.

ВЛИЯНИЕ СПОСОБОВ ОЧИСТКИ НА СТРУКТУРУ И ВЫХОД ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПРИ ИХ ИЗВЛЕЧЕНИИ ИЗ ТИПИЧНОГО ЧЕРНОЗЕМА

В.А. Холодов¹, И.А. Бутнева², Н.Ю. Гречищева², А.И. Константинов³, И.В. Перминова³

¹Почвенный институт им. В.В. Докучаева

²Российский государственный университет нефти и газа им. И.М. Губкина

³Московский государственный университет МГУ им. М.В. Ломоносова

Гуминовые вещества составляют от 60 до 90 % почвенного органического вещества (Кононова, 1963). Наиболее значимой компонентой гуминовых веществ являются гуминовые кислоты (ГК). Их строение и свойства во многом определяют качество почвенного органического вещества и, соответственно, влияют на почвенное плодородие.

Для изучения строения и свойств почвенных ГК необходимо их выделение в препаративной форме. Существует два наиболее распространенных метода их получения: принятый в Российской научной школе (Орлов, Гришина, 1981) и рекомендованный Международным гуминовым обществом – International Humic Substances Society – IHSS (Swift, 1996). В целом методы весьма схожи. Оба основаны на щелочной экстракции гуминовых веществ из почвы с последующей очисткой. При этом в российском методе для получения представительного образца принята многократная щелочная экстракция, а в рекомендациях IHSS считается достаточной однократная вытяжка. Как показали исследования препаративного выделения ГК из типичного чернозема (Холодов и др., 2008), большая часть ГК извлекается уже в пер-

вой экстракции. Препараты ГК, выделенные из первой щелочной вытяжки практически не отличаются от интегрального препараты, полученного из трех объединенных экстракций. В связи с этим, только различия двух рассматриваемых методов в способах очистки потенциально могут влиять на структуру получаемых препаратов.

По принятому в России методу щелочной экстракт гуминовых веществ подвергают многократным центрифугированиям при разных значениях pH и с возрастающей ионной силой (до 2М NaCl), затем, устанавливая pH 1, осаждают ГК и подвергают диализу (Орлов, Гришина, 1981). Согласно рекомендациям IHSS, из щелочной вытяжки сначала подкислением до pH 1 отделяют ГК, затем их вновь растворяют, добавляют коагулянты (0,3М K⁺), центрифугируют, отделяя грубые неорганические примеси, затем растворяют тонкие минеральные взвеси многократной обработкой смесью HCl/HF и диализуют (Swift, 1996). Как видно, методы очистки довольно сильно различаются, весьма вероятно они могут оказывать влияние на структуру конечных ГК и (или) их препаративный выход.

В связи с изложенным, целью работы было установить на примере типичного чернозема, влияет ли метод очистки на структуру и препаративный выход ГК, выделяемых из одного источника.

В качестве источника ГК была выбрана почва – типичный чернозем ежегоднокосимой степи Центрально-Черноземного государственного биосферного заповедника им. Алехина, расположенного в Курской области. Образцы почвы отбирали из слоя 5-15 см с площадки 10×10 м по 200 г из точки пробоотбора, выбранной случайным образом. Из полученного образца (около 10 кг) методом квартования был создан средний образец (1,5 кг). Из среднего образца были отобраны крупные корни, он был перетерт и пропущен через сито с диаметром ячеек 1 мм. В приготовленной таким образом почве были определены: рН, содержание обменных оснований (Аринушкина, 1970), содержание физической глины и ила пирофосфатным методом (Вадюнина, Корчагина, 1986), содержание органического углерода и показатель $C_{ГК}/C_{ФК}$ (Орлов, Гришина, 1981). Полученные показатели (табл. 1) соответствовали приводимым в литературе диапазонам значений, характерным для типичных черноземов (Почвоведение, ч. 2, 1988). Кроме того, величины рН, $C_{ГК}/C_{ФК}$, содержания органического углерода, обменных кальция и магния, а также физической глины и илистых частиц были чрезвычайно близки к полученным ранее значениям для типичных черноземов Центрально-черноземного района (Черноземы СССР, 1974; Черноземы ЦЧО, 1964).

Подготовленный образец почвы (200 г) был предварительно декальцирован обработкой 1М HCl до установления рН суспензии в диапазоне 1-2, после чего добавили 0,1М HCl до конечного массового соотношения почва : раствор (1 : 10). Полученную суспензию встряхивали в течение 1 ч., отстаивали 24 ч., и отделяли супернатант от твердой фазы почвы декантацией. Далее декальцированную почву нейтрализовали внесением 1М NaOH до величины рН 7, а затем добавляли 0,1М NaOH до конечного соотношения почва : раствор (1 : 10). Суспензию периодически перемешивали в течение 6 ч., затем оставляли на ночь. Через 24 ч. после начала экстракции щелочную вытяжку (1600 мл) сливали и разделяли на две равные части: одна была очищена согласно принятому в России методу (Орлов, Гришина, 1981), полу-

чен препарат ГК-1; вторая – по рекомендациям IHSS (Swift, 1996), получен препарат ГК-2. Оба препарата были высушены на вакуумном ротационном испарителе и досушены над P₂O₅ в течение 21 дня. Препаративный выход ГК оценивали взвешиванием полученных препаратов.

Структуру выделенных ГК определяли методом ¹³C-ЯМР спектроскопии в жидкой фазе, который служит одним из самых информативных методов структурного исследования гуминовых веществ в целом, и ГК в частности (Ковалевский и др., 2000). Образцы ГК для ЯМР-исследования готовили растворением навески (80 мг) в 0,6 мл 0,3М NaOD/D₂O. Смесь помещали в ультразвуковую баню на 30 мин., далее центрифугировали в течение 5 мин. при 18 g, раствор отделяли от осадка и переносили в 5-миллиметровую ампулу для ЯМР-спектроскопии. Спектры ЯМР ¹³C регистрировали на спектрометре Bruker Avance-400 с рабочей частотой 400 Гц для ядер водорода, используя импульсную последовательность CPMG с первым импульсом последовательности 90, временем регистрации сигнала спада свободной индукции 0,2 с и временем релаксационной задержки между импульсами 7,8 с. Продолжительность одного ЯМР эксперимента составляла порядка 12 ч.

Распределение атомов углерода по различным структурным фрагментам определяли интегрированием соответствующих спектральных областей. В спектре делали следующие отнесения согласно Д.В. Ковалевскому и др. (2000) в миллионных долях (м.д.): 220-187 – углерод кетонных и хинонных групп (C_{C=O}); 187-165 – углерод карбоксильных и сложноэфирных групп (C_{COO-H,R}); 165-145 – углерод O, N-замещенных ароматических фрагментов (C_{Ar-O,N}), 145-108 – углерод незамещенных и S-замещенных ароматических фрагментов (C_{Ar-H,R}); 108-48 – углерод O, N-замещенных алифатических фрагментов (C_{Alk-O,N}); 48-5 – углерод алифатических фрагментов, не связанных с гетероатомами (C_{Alk-H,R}). Полученные данные по структуре ГК использовали для сравнения выделенных препаратов.

Выход препаратов ГК существенно различался: после очистки методом, принятым в России, из 800 мл щелочного экстракта было получено 0,4 г препарата (ГК-1), в то же время, количество препарата, полученного из того же объема, того же экстракта после очистки по рекомендациям IHSS, составило 2,7 г (ГК-2). Столь высокая разница в препаративном выходе вероятно объясняется большими потерями ГК-1 при центрифугировании для отделения неорганических взвесей. В Российском методе для коагуляции минеральных коллоидов используют 2М NaCl, вероятно столь высокая концентрация электролита способствует осаждению части ГК (эффект «высаливания»). В случае же метода IHSS концентрация солей-коагулянтов не превышает 0,3 М [K⁺], поэтому осаждения ГК практически нет или оно незначительно.

Следовательно, с точки зрения количественного выхода ГК предпочтительнее использовать метод, рекомендованный IHSS. Однако, предусмотренная в нем вместо многократных центрифугирований, довольно жесткая обработка смесью 0,1/0,3М HCl/HF теоретически может отразиться на структуре полученных ГК.

Как уже говорилось, ¹³C-ЯМР спектроскопия – один из наиболее информативных методов структурного анализа ГК (рисунк).

1. Физико-химические характеристики чернозема типичного мощного

Показатель	$\bar{x} \pm t_{\alpha} s_x^*$
pH _{H2O}	6,8 ± 0,1
C _{орг.}	5,52 ± 0,1
C _{ГК} /C _{ФК}	1,7 ± 0,1
Обменные основания, ммоль-экв/100 г	
Ca ²⁺	30,8 ± 0,2
Mg ²⁺	6,9 ± 0,2
K ⁺	0,5 ± 0,05
Na ⁺	1,1 ± 0,05
Содержание частиц, %	
<0,01 мм	40,0 ± 0,2
<0,001 мм	21,2 ± 0,2
*α = 0,05	

2. Распределение углерода по структурным фрагментам в полученных препаратах

Препарат	Спектральные области, м.д.					
	5-48	48-108	108-145	145-165	165-187	187-220
	СНп	СalkO	С _{Ar}	С _{Ar} -O,N	С _{COO-H,R}	С _{C=O}
ГК-1	17	24	27	9	17	6
ГК-2	13	24	27	10	16	10

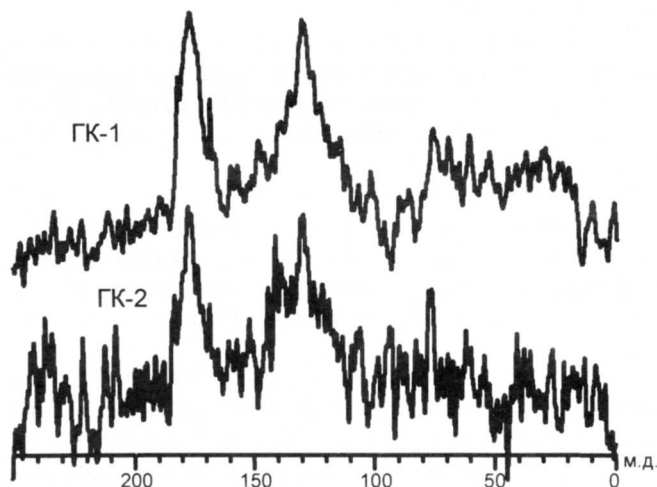


Рис. 1. ^{13}C -ЯМР спектры препаратов ГК типичного чернозема, очищенных разными методами

В целом спектры весьма схожи. Для обоих характерно наличие интенсивных сигналов в области карбоксильных групп (187-165 м.д.), ароматического углерода (165-108 м.д.), причем хорошо различаются сигналы для замещенного и незамещенного бензольного кольца. В обоих спектрах достаточно слабо выражены сигналы гетероатомов (O, N) – замещенного углерода, в частности, углеводных и аминных фрагментов в области 108-48 м.д. В качестве отличия в спектрах, можно выделить относительно большую интенсивность сигнала в спектре ГК-1 в области незамещенного алифатического углерода (48-5 м.д.) и несколько меньшую интенсивность сигнала углерода кетонных и хинноных групп в области 187-220

м.д. в сравнении с ГК-2. Отмеченные особенности спектров хорошо видны при их интегрировании для количественной оценки содержания структурных фрагментов в углеродном скелете рассматриваемых ГК (таблица 2).

Установленные численные значения структурных показателей типичны для ГК, выделенных из черноземов (Перминова, 2000). Структура обоих препаратов чрезвычайно схожа. Содержания замещенных и незамещенных ароматических структур, карбоксильных групп и замещенных алкильных групп в обоих препаратах практически одинаковы. Разница в 4 % между содержанием карбонильных групп также вероятно незначима, так как для их спектральной области характерна наиболее высокая погрешность метода. Единственным отличием в структуре ГК, выделенных согласно методике принятой в России, от ГК, полученных по рекомендациям IHSS, было несколько больше (на 4 %) содержание алифатических групп в ГК-1. Поэтому, учитывая стохастический характер строения гуминовых веществ, можно заключить, что структуры обоих препаратов практически одинаковы, и методика очистки не влияет на структуру получаемых препаратов ГК. Таким образом, на примере типичного чернозема показано, что при использовании метода очистки ГК, рекомендованного IHSS, выход препаратов существенно (почти в 7 раз) выше, в сравнении с Российским методом, при этом структура получаемых препаратов практически одинакова. При препаративном выделении ГК с точки зрения производительности труда при очистке препаратов лучше придерживаться рекомендаций IHSS. Однако препараты, полученные по обеим методикам, вполне сопоставимы друг с другом при сравнительных исследованиях.

ВАРЬИРОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ГУМИНОВОГО ПРЕПАРАТА

Р.Н. Гартвик, А.В. Гартвик

Санкт-Петербургский государственный университет

Положительное действие гуминовых веществ (ГВ) на различных этапах развития растений убедительно показано во множестве работ, но препараты, полученные на гуминовой основе, широкое сельскохозяйственное применение так и не получили. Причину этого исследователи видят в сложности строения молекул ГВ. Большое количество функциональных групп обуславливает чрезвычайную ширину и сложность спектра их одновременного действия, и как следствие – его непредсказуемость.

В последние годы химиками-гумусниками предпринимаются попытки сужения спектра действия гумино-

вой молекулы за счет отсеечения ее части, но расчленение осуществляется лишь на уровне «каркас-периферия» посредством гидролиза (Перминова, Грешева, 2000; Перминова, Салеев, 2004).

В настоящей работе мы оценили применимость другого, пусть несколько менее научного, но значительно более практичного подхода к проблеме целенаправленного использования ГВ. Не пытаясь поначалу разобраться в механизмах их действия на растение, мы лишь проследили, как результат этого действия изменяется при варьировании параметров получения и применения пре-