



УДК 621.359.7

## Спектроскопическое исследование состава фульвокислот чернозема выщелоченного

Ненахов Д.В., Гасанова Е.С., Котов В.В., Стекольников К.Е.

*Воронежский государственный аграрный университет имени К.Д. Глинки, Воронеж*

Селеменев В.Ф., Карпов С.И.

*ГОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж*

Поступила в редакцию 2.09.2009 г.

### Аннотация

Методами УФ и ИК-спектроскопии исследован состав фракций фульвокислот (ФК) чернозема выщелоченного, образованных их десорбцией с активированного угля различными растворителями. Показано, что водная фракция содержит вещества алифатической природы, а водно-ацетоновая и аммонийная - как алифатической, так и ароматической. Выявлено наличие в составе всех фракций координационных соединений.

**Ключевые слова:** фульвокислота, фракция, УФ-, ИК-спектроскопия

The content of fractions of fulvic acids of lached chernozem, that was received by desorption from activated charcoal by different solvents, was researched by UV- and IR-spectroscopy methods. It was shown that water fraction content substances of aliphatic kind and water-acetone and ammonium ones – as aliphatic or aromatic. Revealed the existence of all the factions of coordination compounds.

**Key words:** fulvic acid, fraction, UV-, IR-spectroscopy methods.

### Введение

Одними из важнейших компонентов гумуса являются фульвокислоты (ФК). Имеются различные точки зрения на происхождения ФК. Одни из авторов считают их самостоятельными химическими соединениями, а другие – продуктами реакции отщепления от гуминовых кислот (ГК) под действием природных и техногенных факторов или при препаративном выделении из почв [1,2]. ФК не имеют постоянного химического состава, однако известно, что их молекулярная масса колеблется от нескольких сот до нескольких тысяч Да, а в состав молекул входят ароматические фрагменты, фенольные и спиртовые гидроксилы, кетонные группы и атомы азота аминогрупп и пептидных связей [1, 3]. Вследствие неопределенности состава ФК различными авторами выдвигаются гипотетические модели их строения, основанные на изучении продуктов гидролиза и окисления [3].

Фракционирование ФК проводится различными методами, из которых наиболее применим метод Форсита [4], заключающийся в их сорбции на

активированном угле из кислого раствора, образующегося при осаждении ГК из щелочных почвенных экстрактов, с дальнейшей десорбцией последовательно водой, смесью воды и ацетона и гидроксидом аммония. Выделенные таким образом ФК образуют три фракции – водную (А), водно-ацетоновую (В) и аммонийную (Д). Последняя фракция считается собственно ФК [5]. Однако, в природных условиях, вещества фракций А и В участвуют в протекании в почве химических и биохимических процессов и поэтому сведения о их составе и свойствах являются необходимыми.

При исследования состава и свойств гумусовых кислот одними из основных методов являются спектроскопические [1]. При взаимодействии с электромагнитными колебаниями молекулы ГК и ФК образует сложные спектры поглощения в широком диапазоне длин волн. Комбинация электронных спектров поглощения в УФ-области с ИК-спектрами позволяет установить присутствие в молекулах ГК и ФК важнейших группировок и связей и служит средством идентификации этих веществ. Следует сказать, что основная масса спектроскопических исследований проводится на нефракционированных или собственно ФК, в то время как сведений об оптических свойствах отдельных фракций недостаточно.

Целью работы было сравнительное спектроскопическое исследование состава различных фракций ФК.

## Эксперимент

Гумусовые кислоты были выделены из образцов верхнего слоя целинного чернозема выщелоченного. Образцы почвы обрабатывались по стандартной методике [4], действием раствора смеси пиррофосфата и гидроксида натрия при рН 13. Затем взвесь центрифугировалась, жидкая фаза (щелочной экстракт) подкислялась соляной кислотой до рН 1,5-2,0, после чего выпавшие ГК центрифугированием отделялись от раствора, содержащего ФК. Далее кислый раствор пропускали через колонку диаметром 43,3 мм содержащую 33 г активированного угля марки БАУ-А (ГОСТ 6217-74) со скоростью 0,05 мл/с. В результате чего на угле проходила сорбция органических соединений, а раствор, содержащий неорганические кислоты и соли, отбрасывали. Десорбция фракций ФК проводилась последовательной промывкой колонки водой, смесью воды и ацетона (1:1) и 3 % раствором гидроксида аммония [4]. Полученные растворы высушивались при температуре 40<sup>0</sup>С, образовавшиеся твердые фазы фракций ФК собирались и взвешивались. Водная, водно-ацетоновая и аммонийная фракции условно получили название А, В и Д соответственно. Перед снятием УФ спектров образцы препаратов фракций ФК А, В и Д массой 15 мг растворялись соответственно в 10, 120 и 320 мл дистиллированной воды. Спектры растворов снимались на приборе СФ-26 в диапазоне длин волн 200-350 нм с шагом 5 нм. Вследствие полидисперсности исследуемых систем и неопределенности химического состава полученные электронные спектры выражались не в виде зависимости оптической плотности от длины волны, а таким образом, что в качестве функции длины волны выступала величина Е, представляющая собой коэффициент поглощения, рассчитанный на концентрацию ФК г/см<sup>3</sup> [1]

ИК-спектроскопическое исследование проводилось на приборе Specord. Спектрограмму записывали в интервале частот 4000-400 см<sup>-1</sup>. Для сопоставления интенсивности колебаний, относимых к близким характеристическим частотам,

использован метод базовой линии. Расшифровка ИК спектров проводилась в соответствии с методиками, приведенными в работах [6-8].

## Результаты и их обсуждение

На рис. 1 приведены зависимости коэффициентов поглощения различных фракций ФК от длины волны электромагнитного излучения в УФ-области. Интенсивность светопоглощения во всем исследованном интервале длин волн для фракций ФК значительно различается. Относительно низкие величины  $E$  характерны для фракции А (кривая 1). Отсутствие максимумов на этой кривой указывает на то, что данная фракция не содержит ароматических соединений. Постепенное возрастание коэффициента поглощения с уменьшением длины волны говорит о смещении максимума поглощения раствора в дальнюю ультрафиолетовую область (гипсохромный эффект) [8], что характерно для так называемых изолированных хромофоров – веществ с одной кратной связью алифатического строения, простых эфиров и аминов, а также полисахаридов, пептидов и насыщенных углеводородов [1]. Аналогичным образом изменяется коэффициент поглощения раствора фракции В (кривая 2), однако, гораздо более высокие значения  $E$  в исследуемой области длин волн указывают на присутствие в составе этой фракции более сложных молекул, содержащих цепочки сопряженных связей как алифатического, так и ароматического характера [1] и ауксохромных группировок. Однако, как и в случае ФК фракции А, максимум поглощения сдвинут в коротковолновую область, что указывает на достаточное содержание в этой фракции алифатических соединений.

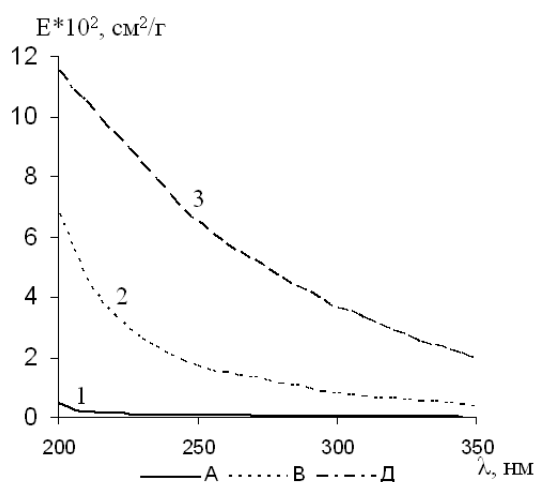


Рис. 1. Зависимость коэффициента поглощения ( $E$ ) ФК фракций А (1), В (2) и Д (3) от длины волны  $\lambda$ .

Зависимость  $E$  от длины волны у ФК фракции Д (кривая 3) характерна для спектральных характеристик гумусовых кислот и не имеет четко выраженных полос поглощения. Зависимость с постепенным понижением коэффициента поглощения при увеличении длины волны указывает на более сложный состав ФК этой фракции по сравнению с другими. Ауксохромные группировки (карбонильные, амино- и оксигруппы), связанные с сопряженной системой углерод-углеродных связей, увеличивает вероятность электронных переходов, что смещает максимумы в длинноволновую область спектра (батохромный эффект) [8]. Данные УФ-

спектроскопии показывают постепенное усложнение состава ФК в ряду фракций  $A < B < D$ .

Более полные данные позволяет получить метод ИК спектроскопии. На рис. 2 приведены ИК спектры ФК фракций А (кривая 1), В (кривая 2) и Д (кривая 3). Все спектры содержат по две четко выраженные области  $700-1800 \text{ см}^{-1}$ , включающую полосы колебания фрагментов молекул ФК и связей и  $2600-3700 \text{ см}^{-1}$ , максимумы в которой указывают на валентные колебания ОН-связей. На спектрах имеются слабые максимумы, соответственно,  $739, 721$  и  $746 \text{ см}^{-1}$ , характеризующие колебания метиленовых групп,  $920, 916$  и  $937 \text{ см}^{-1}$ , относящиеся к пульсационным колебаниям пиранозных циклов,  $1153, 1155$  и  $1117 \text{ см}^{-1}$ , указывающие на содержание в молекулах ФК спиртовых гидроксидов и связей С-О. Для ФК фракций А и В характерно проявление полос  $966$  и  $984 \text{ см}^{-1}$ , указывающих на колебания групп Р=О. Во всех спектрах содержатся максимумы  $1402$  и  $1404 \text{ см}^{-1}$  указывающие на симметричные колебания карбоксилат-ионов,  $1634$  и  $1636 \text{ см}^{-1}$  – на их асимметричные колебания, а также  $1730, 1728$  и  $1740 \text{ см}^{-1}$ , характеризующие валентные колебания связи С=О в недиссоциированных карбоксильных группах и сложных эфирах. Однако, полосы  $1634$  и  $1636 \text{ см}^{-1}$  могут характеризовать также наличие в молекулах ароматических фрагментов и пептидных связей (амид-I). Спектры, соответственно, содержат также полосы  $3260, 3175$  и  $3227 \text{ см}^{-1}$ , относящиеся к валентным колебаниям ОН-связей в гидратных оболочках функциональных групп, а так же  $3437, 3430$  и  $3445 \text{ см}^{-1}$ , указывающие на наличие «свободной» воды с нормальной сетью водородных связей.

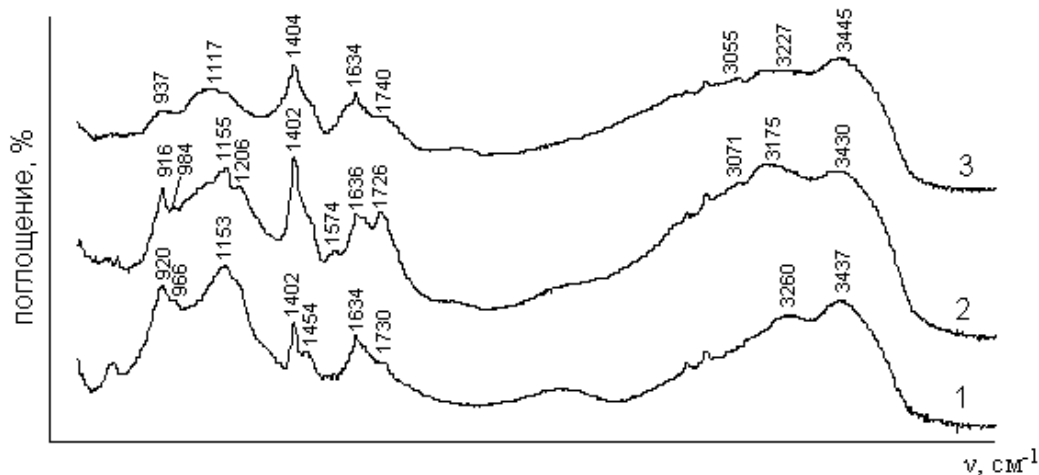


Рис. 2. ИК-спектры ФК. Фракции: А (1), В (2) и Д (3)

Полученные ИК-спектры содержат ряд отличий. Так в спектре ФК фракции А (кривая 1) проявляется полоса  $1454 \text{ см}^{-1}$ , характеризующая деформационные колебания связи С-Н в метиленовых и метильных группах, что подчеркивает алифатический характер этой фракции. Спектр ФК фракции В (кривая 2) содержит полосу  $1206 \text{ см}^{-1}$ , подтверждающую наличие связей С-О и О-Н в карбоксильных группах и  $1574 \text{ см}^{-1}$ , характеризующую асимметричные деформационные колебания диссоциированных карбоксильных групп и частично, пептидных связей (амид-II). Кроме того, спектры ФК фракций В и Д, в отличие от фракции А, содержат максимумы  $3071$  и  $3055 \text{ см}^{-1}$ , характеризующие валентные колебания связей С-Н в ароматических ядрах, что указывает на наличие в них ароматических фрагментов.

Сравнительные данные, полученные обработкой спектров методом базовой линии [5], показаны на рис. 3. В качестве стандартных были выбраны максимумы  $2930, 2934$  и  $2932 \text{ см}^{-1}$ , характеризующие валентные колебания С-Н в метильных и метиленовых группах алифатических фрагментов молекул ФК, всегда

присутствующих в их строении. Данные показывают, что отклонение высоты пиков в основном изменяется по фракциям А>В>Д. Наиболее значительные величины  $h/h_{ст}$  у фракции А связаны, по-видимому, с низкой молекулярной массой веществ, образующих эту фракцию. В то же время интенсивность колебаний, характерная для ФК фракции Д минимальна, что может быть связано с олигомерным характером их молекул. Обращает на себя внимание отсутствие полос поглощения при  $980\text{ см}^{-1}$  у ФК фракции Д, в то время как у фракции А значение  $h/h_{ст}$  максимально. Это может быть связано с тем, что при сорбции ФК активированным углем с ними из раствора, содержащего пирофосфаты, соосаждаются эти фосфорсодержащие соединения. При десорбции водной фракции основная часть этих соединений, как хорошо растворимых, попадает в ее состав. Остальная же, меньшая, часть пирофосфатов при десорбции попадает во фракцию В.

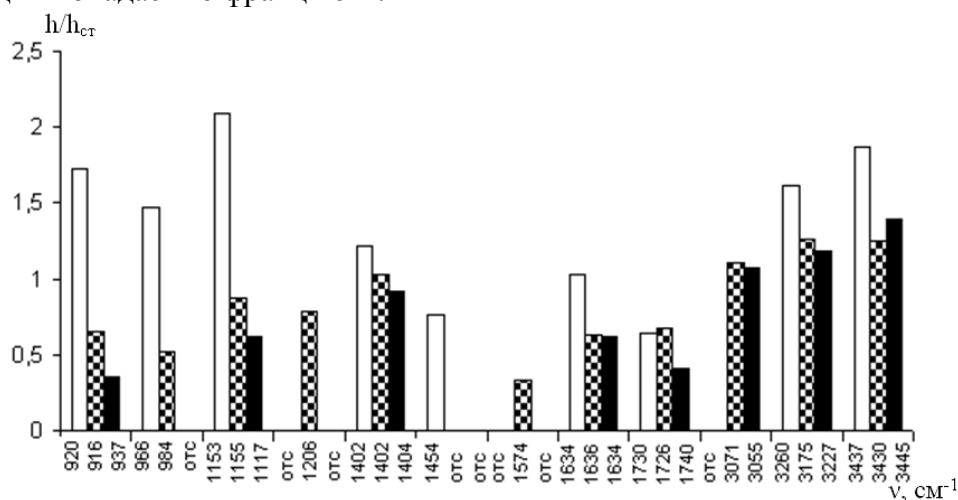


Рис. 3. Относительные высоты ( $h/h_{ст}$ ) пиков ИК-спектров ФК фракций А (□), В (▣) и Д (■).

Анализ спектров показывает также на присутствие в составе ФК ионов поливалентных металлов. По данным работ [9] следует, что разница между частотой асимметричных  $\nu_{ас}$  и симметричных  $\nu_{с}$  колебаний диссоциированных карбоксильных групп  $\Delta\nu$  более  $225\text{ см}^{-1}$  указывает на наличие ковалентной связи металл-кислород. В ФК фракций А, В и Д эта разница составляет соответственно 232, 234, 230  $\text{см}^{-1}$ , что указывает на содержание в них координационных соединений. При этом максимально их содержание во фракции А, так как величина  $h/h_{ст}$  при  $1634\text{ см}^{-1}$  для этой фракции максимальна и полностью отвечает колебаниям групп  $-\text{COO}^-$ , так как спектр этой фракции не содержит полос, относящихся к ароматическим фрагментам или амидным группам.

## Заключение

v  
-1

1. Методами УФ и ИК спектроскопии выявлено, что молекулы ФК водной фракции содержат алифатические, а водно-ацетоновой и аммонийной фракций – вещества как алифатической, так и ароматические природы.
2. Водная фракция ФК предположительно содержит вещества углеводной, а водно-ацетоновая – белковой и ароматической природы.
3. Выявлено, что ФК всех фракций включают координационные соединения, максимальное содержание которых имеется в водной фракции.

## Список литературы

1. Орлов Д.С. Химия почв, М.: Изд-во МГУ, 1992,- 400 с
2. Славинская Г.В., Селеменев В.Ф. Фульвокислоты природных вод. Воронеж: Воронеж. Ун-т., 2001. – 165 с.
3. Орлов Д.С. Почвенные фульвокислоты: история их изучения, значение и реальность // Почвоведение. - 1999. - №9. – С. 1165-1171.
4. Зырин Н.Г., Орлов Д.С. Физико-химические методы исследования почв. М.: МГУ, 1980.- 382 с.
5. Практикум по почвоведению / под ред. И.С. Кауричева. - М.: Агропромиздат, 1986. - 336 с.
6. Углянская В.А., Чикин Г.А., Селеменев В.Ф., Завьялова Г.А. Инфракрасная спектроскопия ионообменных материалов. Воронеж, изд-во ВГУ, 1989. – 208 с.
7. Цундель Г. Гидратация и межмолекулярное взаимодействие. М.: 1972 – 406 с.
8. Казицина Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: 1971 – 264 с.
9. Эллиот А. Инфракрасные спектры и структура полимеров. М.: 1972 – 160 с.

**Ненахов Дмитрий Владимирович** – аспирант кафедры химии Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537678

**Гасанова Елена Сергеевна** – к.с.-х.н., доцент кафедры почвоведения Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537678

**Котов Владимир Васильевич** – д.х.н., профессор кафедры химии Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537678

**Стекольников Константин Егорович** – к.с.-х.н., зав. кафедрой почвоведения Воронежского государственного аграрного университета имени К.Д. Глинки, Воронеж, тел.: 8(4732)537172

**Селеменев Владимир Федорович** – д.х.н., проф., зав. кафедрой аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

**Карпов Сергей Иванович** – к.х.н., доцент кафедры аналитической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

**Nenahov Dmitriy V.** – postgraduate student of chemistry department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, e-mail: [dmitry-nen@mail.ru](mailto:dmitry-nen@mail.ru)

**Gasanova Elena S.** - candidate of agricultural sciences, associate professor of soil science of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, e-mail: [dmitry-nen@mail.ru](mailto:dmitry-nen@mail.ru)

**Kotov Vladimir V.** – doctor of chemical sciences, professor of chemistry department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, tel.: 8(4732)537678

**Stekolnikov Konstanyin E.** – candidate of agricultural sciences, manager of soil science department of Voronezh State Agricultural University, Voronezh, e-mail: [soil@agrochem.vsau.ru](mailto:soil@agrochem.vsau.ru)

**Selemenev Vladimir F.** - doctor of chemical sciences, professor of analytical chemistry department of Voronezh state university, Voronezh

**Karpov Sergey I.** - candidate of chemical sciences, associate professor of analytical chemistry department of Voronezh state university, Voronezh