

УДК 631.472.56

DOI: 10.18101/2306-2363-2017-4-55-58

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ^{13}C -ЯМР ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПОЧВ ДЕЛЬТЫ р. СЕЛЕНГИ

© *Е. Ю. Мильхеев*

кандидат биологических наук, научный сотрудник,
Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН
670047, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6
E-mail: evg-milh@rambler.ru

Методом ^{13}C ЯМР-спектроскопии исследовано строение препаратов гуминовых кислот, выделенных из гумусового горизонта дерновой лесной и луговой почвы дельты р. Селенги. Показано, что в гуминовых кислотах дерновых лесных почв доминирует широкий сигнал углерода ароматического ряда, а в луговых почвах — развита алифатическая часть. Эти данные полностью совпадают с результатами элементного состава, величинами отношения Н/С. Выявленные различия в содержании атомов углерода, входящих в состав структурных фрагментов в составе макромолекул гуминовых кислот свидетельствуют о разных условиях почвообразования и гумификации. Возрастные доли алифатических структур и снижение доли ароматических фрагментов в составе препаратов гуминовых кислот позволяют говорить об упрощении строения молекулы гуминовой кислоты, что может быть обусловлено снижением микробиологической активности в луговой почве в условиях их постоянного переувлажнения.

Ключевые слова: дельта р. Селенги, гуминовые вещества, гуминовые кислоты, ароматическая часть, алифатическая часть, ^{13}C -ЯМР-спектроскопия, лесные и луговые почвы.

Введение

Гуминовые вещества (ГВ) представляют собой природные супрамолекулярные ансамбли, которые образуются при окислительном разложении и вторичном синтезе биомacroмолекул, входящих в состав растительных остатков и других живых организмов: лигнина, таннинов, белков и др. [1]. ГВ являются важным компонентом почвенных, угольных, торфяных и водных экосистем [2]. Общепринятая классификация ГВ [3] основана на различии в растворимости в кислотах и щелочах. Согласно этой классификации ГВ подразделяют на три составляющие: гумин — неизвлекаемый остаток, нерастворимый ни в щелочах, ни в кислотах; гуминовые кислоты (ГК) — фракция ГВ, растворимая в щелочах и нерастворимая в кислотах (при $\text{pH} < 2$); фульвокислоты (ФК) — фракция ГВ, растворимая и в щелочах, и в кислотах.

В настоящее время специалистов в области химии природного органического сырья привлекают уникальные возможности спектроскопии ЯМР ^{13}C для количественного анализа и изучения строения многокомпонентных систем, в том числе и гуминовых кислот [4].

Спектроскопия ЯМР ^{13}C для характеристики структурных особенностей ГК различного происхождения продемонстрирована неоднократно [3-5]. Исключительная информативность обусловлена тем, что метод позволяет выявить группы

уширенных сигналов спектра, по интегральным интенсивностям которых проводится количественная оценка содержания различных структурных фрагментов макромолекул ГК.

Интерпретация спектров ЯМР основана на анализе индивидуальных химических сдвигов различных атомов, позволяя получить информацию о всех типах углерода, присутствующих в образце ГВ.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования были использованы препараты гуминовых кислот, выделенных из поверхностных слоев (0–20 см) дерновой лесной и луговой почвы дельтовой части р. Селенги. Гуминовые кислоты были выделены по стандартной методике [6] экстракцией 0,1 н NaOH, препараты ГК очищали путем переосаждения 20%-ным раствором HCl до величины pH 1,5–2 и многократного центрифугирования. Осадок промывали 0,1 н HCl, затем дистиллированной водой, высушивали и растирали до состояния пудры. Спектры ядерно-магнитного резонанса ^{13}C -ЯМР были сняты на спектрометре «Bruker AM-400» с частотой 100,614 МГц.

Интегрирование спектра ЯМР ^{13}C в определенных интервалах м.д. позволяет различить и дать количественную оценку соотношениям следующих фрагментов макромолекулы ГК: алкильный (алифатический) углерод (0–65 м.д.), углерод в углеводах, спиртах, ацеталах, называемый для краткости полисахаридным (65–90 м.д.), ароматический углерод (90–160 м.д.), карбоксильный углерод (160–200 м.д.).

Результаты и обсуждение

Как видно, в исследуемых препаратах ГК основная доля углерода приходится на алифатическую часть спектра в области от 0 до 65 м.д. ($\text{C}_{\text{ал}}$) и ароматическую – в области 90–160 м.д., соответствующую ароматическим атомам углерода в конденсированных системах ($\text{C}_{\text{ар}}$) (рис. 1, 2).

Количественный анализ структурных компонентов молекул ГК дерновых лесных почв выявил значительную долю атомов углерода относящихся к ароматическим фрагментам (52%). Присутствие $\text{C}_{\text{ар}}$ в спектрах ГК доказывали широкие и наиболее сильные сигналы в диапазоне 90–160 м.д. с пиком при 126,6 м.д. В диапазоне 45–65 м.д. обнаружен сильный сигнал, который можно отнести за счет углерода аминогрупп и $=\text{O}-\text{CH}_3$ -структур, количественное содержание которого составило 8,2%.

Характерной для сигналов ЯМР ГК луговых почв является меньшая степень ароматизации, которая фиксирована двумя пиками сигналов углерода при 129 и 118 м.д. Сильные сигналы с высокими пиками отмечены в области атомов $\text{C}_{\text{ал}}$ групп при 29 и 41 м.д.

Характерной для сигналов ЯМР ГК луговых почв является меньшая степень ароматизации, которая фиксирована двумя пиками сигналов углерода при 129 и 118 м.д. Сильные сигналы с высокими пиками отмечены в области атомов $\text{C}_{\text{ал}}$ групп при 29 и 41 м.д.

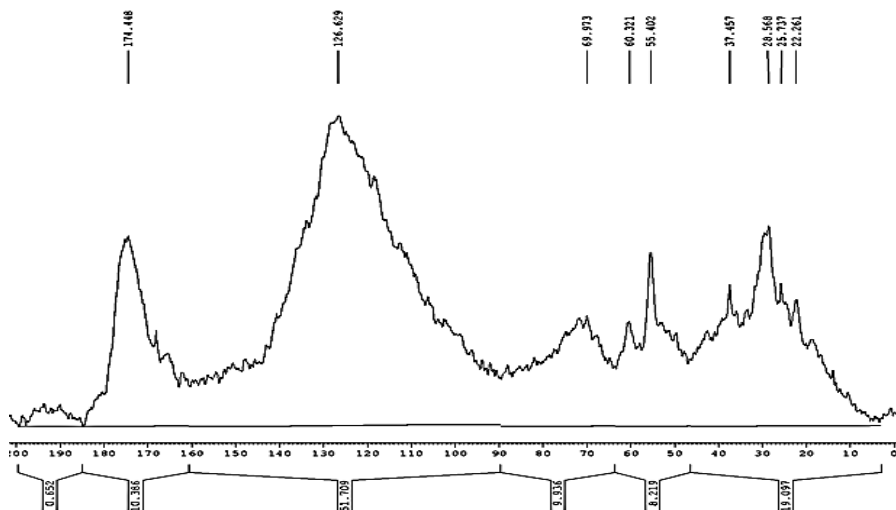


Рис. 1. Спектры ^{13}C -ЯМР гуминовых кислот дерновых лесных почв

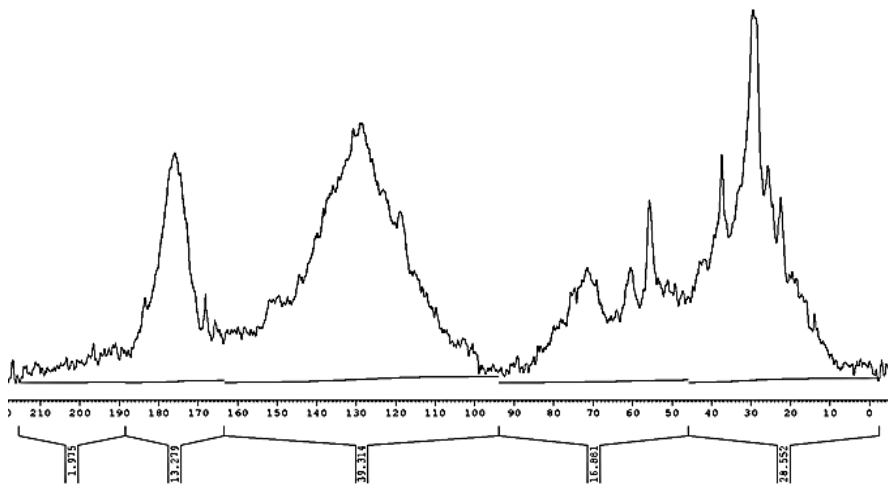


Рис. 2. Спектры ^{13}C -ЯМР гуминовых кислот луговых почв

В целом диапазон $S_{\text{ал}}$ в ГК дерновых лесных почв характеризовался меньшей интенсивностью и отсутствием сильных сигналов по сравнению с ГК луговых почв. Количественная оценка сигналов в диапазоне 160-185 м.д. показала, что содержание карбоксильного углерода в препаратах ГК луговых почв было выше, что согласуется с результатами определения функциональных групп химическими методами.

Таким образом, в спектрах ^{13}C -ЯМР ГК дерновых лесных почв доминирует широкий сигнал углерода ароматического ряда, а в луговых почвах – алифатического углерода. Эти данные полностью совпадают с результатами элементного

состава, величинами отношения Н/С. Выявленные различия в содержании атомов углерода, входящих в состав структурных фрагментов в составе макромолекул ГК, свидетельствуют о разных условиях почвообразования и гумификации. Возрастание доли алифатических структур и снижение доли ароматических фрагментов в составе препаратов ГК позволяют говорить об упрощении строения молекулы гуминовой кислоты, что может быть обусловлено снижением микробиологической активности в луговой почве в условиях их постоянного переувлажнения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-01297 А

Литература

1. MacCarthy P. The principles of humic substances // *Soil Sci.* 2001. V. 166, № 11. P. 738–751.
2. Stevenson F. J. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions // *J. Chem. Educ.* 1995. V. 72, № 4. P. 195–220.
3. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: Изд-во МГУ. 1990. 324 с.
4. Калабин Г. А., Каницкая Л. В., Кушнарев Д. Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. М.: Наука, 2000. 407 с.
5. Ковалевский Д. В. Исследование структуры гуминовых кислот методами спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C : дис. ... канд. химич. наук. М., 1998. 140 с.
6. Орлов Д. С., Гришина Л. А. Практикум по химии гумуса. М.: Изд-во МГУ, 1981. 271 с.

QUANTITATIVE SPECTROSCOPY ^{13}C -NMR OF HUMINIC ACIDS OF SOILS FROM THE SELENGA RIVER THE DELTA

E. Yu. Milkheev

Candidate of Biological Sciences, researcher,
Institute of General and Experimental Biology SB RAS
670047, Ulan-Ude, Sakhyanovoy, Str. 6
E-mail: evg-milh@rambler.ru

The structure of the preparations of humic acids extracted from sod humus horizon of forest and meadow soils of the Selenga Delta was investigated by the method of ^{13}C NMR spectroscopy. It is shown that in humic acids of sod forest soils by the broad signal of aromatic carbon number is dominated, and in meadow soils aliphatic part is developed. These data coincide with the results of the elemental composition, the ratio N/S. The differences in the content of carbon atoms included in the structural fragments in the composition of macromolecules of humic acids indicate different conditions of soil formation and humification. The increase in the share of aliphatic structures and the decline in the proportion of aromatic fragments in the composition of humic acids allow to speak about the simplification of the structure of the molecules humic acids, which may be due to lower microbial activity in meadow soil in the conditions of permanent waterlogging.

Keywords: delta of the Selenga river, humic substances, humic acids, aromatic part, aliphatic part, ^{13}C NMR spectroscopy, forest and grassland soils