

Элементный состав гуминовых кислот и их негидролизуемой части, выделенных из генетических горизонтов почв Центрально-Лесного государственного природного биосферного заповедника

Бахвалов А. В.

В работе приведены сведения по кислотному гидролизу гуминовых кислот почв гумидной зоны. Приведены данные по элементному составу гуминовых кислот до и после гидролиза. Рассчитаны некоторые показатели, характеризующие структурный состав изученных гуминовых кислот.

Ключевые слова: *гуминовые кислоты, кислотный гидролиз, элементный состав гуминовых кислот, негидролизуемый остаток, гумидная зона.*

Elemental composition of humic acids and their non-hydrolysable part, prepared from genetic horizons of Central-Forest State Natural Biospheric Reservation soils

A. V. Bahvalov

This article provide information about acid hydrolysis of humic acids of humid zone soils. Data on elemental composition of humic acids before and after hydrolysis are provided. Some characteristics of structural composition of humic acids are calculated.

Keywords: *humic acids, acid hydrolysis, elemental composition of humic acids, non-hydrolyzed rest, humid zone.*

Введение

Фундаментальная проблема установления строения, роли и функций гуминовых кислот (ГК) в биосфере является актуальной. Многообразие функций гуминовых веществ определяет практическую важность разработки теоретических основ гумусообразования.

В настоящее время большое внимание уделяется вопросам функционирования антропогенно преобразованных экосистем, при этом возрастает важность изучения ненарушенных экосистем, как «эталонных». Подходящим объектом для подзоны южной тайги может служить Центрально-лесной государственный природный биосферный заповедник (ЦЛГПБЗ), расположенный в Нелидовском районе Тверской области.

Территория заповедника в обозримом прошлом не использовалась для ведения сельского хозяйства; вблизи заповедника нет крупных городов и промышленных предприятий. Многочисленные исследовательские работы начались здесь еще в 1930-е годы. Ведущим фактором дифференциации почвенного покрова на данной территории является неравномерность распределения атмосферных осадков по элементам рельефа [1].

Прием гидролиза ГК различными реагентами — один из методов, позволяющих установить строение молекулы ГК. В настоящее время в литературе часто встречаются понятия «ядерная» и «периферическая» часть молекулы ГК. Использование этих понятий началось с работ по гидролизу ГК, исследователи подразумевали под «ядерной» частью те компоненты ГК, которые не подвергались гидролизу, а под периферической — те, что переходили в гидролизат.

В нашей стране распространена методика гидролиза ГК 6 М соляной кислотой при 130°C в течение 24 часов [5]. По сравнению с другими методиками гидролиза, в этой методике применяются самые жесткие условия, в негидролизуемом остатке представлены только наиболее устойчивые компоненты.

Цель данной работы — провести кислотный гидролиз гуминовых кислот, выделенных из генетических горизонтов почв ЦЛГПБЗ и охарактеризовать состав ГК до и после гидролиза.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования были выбраны препараты гуминовых кислот, выделенные из горизонтов T1+T2, H, E_{1h}, E, E_{sp} торфянисто-подзолисто-глеевой почвы, горизонтов L, F, H, AE, E палево-подзолистой почвы и горизонтов L+F, A1, A1B, B_g дерново-глеевой почвы. Таким образом, изучались ГК практически всех генетических горизонтов (из которых возможно препаративное выделение ГК) трех почв, расположенных по катене, характеризующихся существенными различиями водного режима и сформированных под разными типами леса.

Выделение и очистка препаратов ГК проводилась методом Орлова и Мотока [6].

Элементный состав препаратов ГК и их негидролизуемых остатков был определен на приборе «Vario EL III» (Elementar, ФРГ). На основе данных

элементного состава рассчитаны степень окисленности (ω) [3] и степень бензоидности (α) [4].

Кислотный гидролиз препаратов ГК 6М HCl проводился в запаянных стеклянных ампулах при температуре 130°C в течение 24 ч [5]. Навеску препарата ГК (около 0,5г) помещали в ампулу, затем добавляли 5 мл 6 М HCl, откачивали воздух водоструйным насосом и запаивали ампулы. Ампулы выдерживали в сушильном шкафу при температуре 130°C в течение 24 часов. Затем содержимое ампулы фильтровали через предварительно высушенные при 60°C и взвешенные фильтры «синяя лента». Осадок на фильтре многократно промывался водой, затем фильтр с осадком сушился при 60°C. По приросту массы фильтра рассчитывался выход негидролизуемого остатка (НГО) ГК:

$$A = \frac{m_{\text{НГО}}}{m_{\text{ГК}}} * 100\%;$$

где:

A — выход негидролизуемого остатка (НГО) ГК, %;

$m_{\text{НГО}}$ — масса негидролизуемого остатка препарата ГК;

$m_{\text{ГК}}$ — масса исходного препарата ГК.

Гидролизуемость ГК по массе рассчитывалась как:

$$\text{Гидр}M = 100\% - A;$$

где:

$\text{Гидр}M$ — гидролизуемость ГК по массе;

A — выход НГО ГК, %.

Гидролизуемость ГК по углероду рассчитывалась по формуле:

$$\text{Гидр}(C) = 100\% - \frac{A * C_{\text{НГО}}}{C_{\text{ГК}}};$$

где:

$\text{Гидр}(C)$ — гидролизуемость ГК по углероду;

A — выход негидролизуемого остатка (НГО) ГК, %;

$C_{НГО}$ — содержание углерода в НГО ГК (масс. %);

$C_{зк}$ — содержание углерода в препарате ГК (масс. %).

Аналогичным образом рассчитывалась гидролизуемость ГК по азоту. Таким образом, показатели гидролизуемости ГК показывают, какая часть препарата ГК или конкретного элемента переходит в гидролизат.

Результаты и обсуждение

Гидролиз гуминовых кислот 6 М соляной кислотой при нагревании — достаточно жесткий способ деструкции ГК, при котором от 40 до 60% исходного препарата переходит в негидролизуемый остаток (НГО), а остальное — в гидролизат. В таблице 1 представлены результаты по выходу негидролизуемого остатка для изучаемых препаратов ГК и элементный состав в массовых процентах этого остатка.

Таблица 1 — Выход и элементный состав негидролизуемого остатка ГК

Почва	Горизонт	НГО, %	N	C	S	H	O
Торфянисто-подзолисто-глееватая почва	T1+T2	58,6	1,71	60,17	0,55	5,03	32,54
	H	56,6	2,03	59,82	0,39	4,58	33,18
	E _{ih}	53,4	2,13	56,85	0,44	4,63	35,95
	E	46,3	2,11	59,68	0,59	4,95	32,67
	E _{cn}	41,8	2,07	59,14	0,54	4,86	33,39
Палевоподзолистая почва	L	60,3	2,24	59,28	0,59	4,57	33,32
	F	59,3	2,31	56,61	0,55	4,88	35,65
	H	50,8	2,59	58,72	0,51	4,64	33,53
	AE	48,3	2,62	58,54	0,47	4,44	33,93
	E	46,2	2,43	55,54	0,56	4,40	37,07
Дерново-глеевая почва	L+F	55,1	2,69	61,50	0,58	4,96	30,28
	A1	45,0	3,12	63,98	0,53	4,51	27,86
	A1B	42,6	2,95	58,11	0,63	4,97	33,34
	B _g	38,5	3,30	59,18	0,53	5,17	31,82

Выход негидролизуемого остатка ГК постепенно снижается вниз по профилю, эта тенденция прослеживается для всех рассматриваемых почв. По сравнению с исходными препаратами ГК, их негидролизуемые остатки характеризуются более высоким содержанием углерода, а также пониженным содержанием азота и кислорода. Тенденций изменения состава НГО при движении вниз по профилю не наблюдается, негидролизуемые остатки всех препаратов ГК имеют сходный состав лишь с некоторыми отклонениями.

При сравнении между собой рассматриваемых почв обращает на себя внимание увеличение содержания азота в составе НГО гуминовых кислот от торфянисто-подзолисто-глееватой почвы к дерново-глеевой почве. Подобная закономерность также отмечается для препаратов ГК (табл. 2). Таким образом, увеличение содержания азота в составе ГК для рассматриваемых почв происходит не только за счет роста его содержания в наиболее лабильной, гидролизуемой части ГК, но также и в негидролизуемой.

Таблица 2 — Элементный состав препаратов ГК, массовые % на беззольную навеску.

Почва	Горизонт	N	C	S	H	O
Торфянисто-подзолисто-глееватая почва	T1+T2	2,64	55,88	1,06	5,27	35,15
	H	3,09	54,33	0,54	4,92	37,11
	Eih	3,21	52,02	0,51	4,53	39,73
	E	3,42	47,87	0,72	4,62	43,36
	Ecn	3,51	44,92	0,76	4,53	46,28
Палевоподзолистая почва	L	3,44	55,04	0,64	5,36	35,52
	F	3,68	53,58	0,37	5,14	37,22
	H	3,75	52,53	0,22	4,85	38,65
	AE	3,63	50,70	0,53	4,51	40,63
	E	3,41	47,08	0,59	4,28	44,63
	L+F	3,98	53,71	0,66	5,11	36,54

Дерново-глеевая почва	A1	3,94	51,35	0,67	4,47	39,57
	A1B	4,14	45,40	0,47	4,16	45,83
	Bg	4,26	45,70	0,85	4,64	44,56

На основе данных элементного состава исходных гуминовых кис-лот (табл. 2) и их негидролизуемых остатков с учетом выхода НГО (табл. 1) рассчитываются значения гидролизуемости ГК по массе (общая гидролизуемость), по углероду и по азоту (табл. 3); последние два показателя отражают массовую долю элемента, переходящую в гидролизат [3].

Для всех рассматриваемых препаратов ГК в гидролизат переходит 40–60% исходного вещества, что характерно для гуминовых кислот почв гумидной зоны [2, 5, 11].

Гидролизуемость ГК по массе увеличивается при движении вниз по профилю для всех рассматриваемых почв, что свидетельствует о постепенном наращивании периферической части молекулы ГК. При переходе от горизонтов подстилки к минеральным горизонтам отмечается достаточно сильный рост гидролизуемости ГК, что отмечается некоторыми исследователями. Показано [7, 8], что гуминовые кислоты растительных остатков подвергаются гидролизу в меньшей степени, чем почвенные ГК. В целом для рассматриваемых почв наблюдается следующее изменение гидролизуемости ГК: от торфянисто-подзолисто-глееватой почвы к палевоподзолистой почве наблюдается снижение гидролизуемости ГК, а при переходе к дерново-глеевой почве наблюдается рост этого показателя.

Таблица 3 — Гидролизуемость препаратов ГК по массе, по углероду и по азоту.

Почва	Горизонт	По массе	С	Н
Торфянисто-подзолисто-глееватая почва	T1+T2	41,4	36,9	62,0
	H	43,4	37,7	62,8
	E _{ih}	46,6	41,6	94,6
	E	53,7	42,3	71,4
	E _{cp}	58,2	45,0	75,4
	L	39,7	35,1	60,8

Палевопод-золистая почва	F	40,7	37,3	62,8
	H	49,2	43,2	64,9
	AE	51,7	44,2	65,2
	E	53,8	45,5	67,1
Дерново-глеевая почва	L+F	44,9	36,9	62,8
	A1	55,0	43,9	64,4
	A1B	57,4	45,5	69,6
	Bg	61,5	50,1	70,2

Гидролизуемость ГК по углероду и по азоту коррелирует с гидролизуемостью ГК по массе. Значения этих показателей для всех изученных препаратов ГК попадают в диапазон, характерный для гуминовых кислот дерново-подзолистых почв [2, 3]. Также в литературе отмечается, что гидролизуемость ГК по азоту выше, чем по углероду, что также отмечается для изученных нами препаратов ГК.

В профиле палевоподзолистой почвы с глубиной наблюдается синхронный рост гидролизуемости ГК по углероду и по азоту. Для торфянисто-подзолисто-глееватой почвы отмечается быстрое увеличение гидролизуемости ГК по азоту с глубиной. Для исходных ГК горизонтов этой почвы наблюдаются самое низкое содержание азота (табл. 2), несколько возрастающее с глубиной. Можно предположить, что увеличение содержания азота с глубиной происходит преимущественно за счет включения азотсодержащих компонентов в гидролизуемую часть молекулы.

В меньшей степени гидролизуемость ГК по азоту выражена в профиле дерново-глеевой почвы, однако для этой почвы характерно резкое увеличение гидролизуемости ГК по углероду с глубиной.

Содержание азота в составе НГО ГК в полтора-два раза ниже, чем в исходных препаратах ГК. На этом основании, а также с учетом высокой гидролизуемости ГК по азоту можно сделать вывод, что большая часть азота в молекуле ГК содержится в гидролизуемой части молекулы. Такое распределение азота характерно для ГК. Соотношение азота в гидролизуемой и негидролизуемой частях молекулы ГК является одним из диагностических признаков ГК [3, 10, 12].

Для изученных препаратов ГК наблюдается описанная в литературе [3, 7, 9] зависимость гидролизуемости ГК от отношения (Н: С)испр и степени бензоидности (табл. 4). Для всех рассмотренных почв отмечается увеличение отношения (Н: С)испр ГК при движении вниз по профилю (табл. 4), что совпадает с тенденцией увеличения гидролизуемости ГК по профилю (табл. 3). В наибольшей степени подвергаются гидролизу ГК горизонты E, Esp торфянисто-подзолисто-глееватой почвы, горизонта E палевоподзолистой почвы и горизонтов A1B, Bg дерново-глеевой почвы. В этих же горизонтах отмечаются самые высокие значения (Н: С)испр, больше двух единиц, что более характерно для фульвокислот, чем для ГК. Эта закономерность несколько нарушается для ГК горизонтов L, F палевоподзолистой почвы. Для этих ГК наблюдаются почти такие же отношения (Н: С)испр, что и для ГК горизонтов L+F, A1 дерново-глеевой почвы, однако наблюдаемые значения гидролизуемости ГК горизонтов L, F палевоподзолистой почвы существенно меньше, чем для ГК горизонтов L+F, A1 дерново-глеевой почвы.

Таблица 4 — Атомные отношения, степень окисленности и бензоидности ГК

Почва	Горизонт	C:N	O:C	H:C	(H:C)испр.	ω	α
Торфянисто-подзолисто-глееватая почва	T1+T2	24,75	0,47	1,12	1,75	-0,18	14,98
	H	20,57	0,51	1,08	1,76	-0,05	14,17
	Eih	18,86	0,57	1,03	1,79	0,11	12,35
	E	16,30	0,68	1,15	2,06	0,21	
	Esp	14,92	0,77	1,20	2,23	0,35	
Палевоподзолистая почва	L	18,62	0,48	1,16	1,80	-0,19	11,78
	F	17,00	0,52	1,14	1,84	-0,10	9,77
	H	16,31	0,55	1,10	1,84	0,01	9,76
	AE	16,31	0,60	1,06	1,86	0,15	8,14
	E	16,12	0,71	1,08	2,03	0,34	
Дерново-глеевая почва	L+F	15,77	0,51	1,13	1,81	-0,11	11,17
	A1	15,20	0,58	1,04	1,82	0,12	10,95
	A1B	12,78	0,76	1,09	2,11	0,43	

	Bg	12,52	0,73	1,21	2,19	0,26	
--	----	-------	------	------	------	------	--

Отношения Н: С и (Н: С)_{испр} для НГО ГК меньше, чем для исходных препаратов ГК, причем отношение (Н: С)_{испр} снижается сильнее, чем Н: С. Рассчитанные на основе отношений Н: С и (Н: С)_{испр} значения α (степень бензоидности) показывают, что доля ароматических структур в составе негидролизуемых остатков составляет 20–40%, что в 2,5–3 раза превосходит долю ароматических структур в составе исходных ГК (табл. 5).

Снижение атомной доли кислорода в составе НГО на фоне увеличения содержания водорода приводит к снижению степени окисленности НГО по сравнению с исходными препаратами. Так, все НГО ГК представлены восстановленными и слабоокисленными соединениями (табл. 5), роста степени окисленности при движении вниз по профилю рассматриваемых почв не наблюдается.

Таблица 5 — Атомные отношения, степень окисленности и бензоидности НГО ГК

Почва	С:N	О:С	Н:С	Н:С _{испр.}	ω	α
Торфянисто-подзолисто-глееватая почва	41,19	0,41	1,00	1,55	-0,18	26,95
	34,48	0,42	0,92	1,49	-0,08	30,54
	31,05	0,48	0,97	1,62	-0,02	22,75
	32,92	0,42	0,99	1,56	-0,16	26,35
	33,13	0,43	0,98	1,56	-0,13	26,35
Палевоподзолистая почва	30,75	0,43	0,92	1,50	-0,07	29,94
	28,58	0,48	1,03	1,68	-0,08	19,16
	26,44	0,43	0,94	1,52	-0,08	28,74
	26,13	0,44	0,91	1,50	-0,03	29,94
	26,65	0,51	0,95	1,64	0,06	21,56
Дерново-глеевая почва	26,56	0,37	0,96	1,46	-0,22	32,34
	23,96	0,33	0,84	1,29	-0,18	42,51
	23,03	0,44	1,02	1,61	-0,16	23,35

	20,90	0,41	1,04	1,59	-0,23	24,55
--	-------	------	------	------	-------	-------

Динамика отношения C:N для НГО ГК (табл. 5) аналогична динамике изменения атомной доли азота в составе НГО. Абсолютные значения C:N для НГО ГК примерно вдвое превышают значение этого показателя для исходных ГК (табл. 4), что также подтверждает снижение роли азота в формировании негидролизуемой части молекулы.

Заключение

Проведенное сравнение исходных гуминовых кислот, выделенных из горизонтов T1+T2, H, E_{1h}, E, E_{sp} торфянисто-подзолисто-глеевой почвы, горизонтов L, F, H, A_E, E палевоподзолистой почвы и горизонтов L+F, A1, A1B, B_g дерново-глеевой почвы и их негидролизуемых остатков показало, что негидролизуемая часть изученных препаратов, составляющая 40—60% от массы исходной ГК характеризуется пониженным содержанием азота и кислорода по сравнению с исходными препаратами. Все НГО представлены восстановленными или слабоокисленными веществами, содержащими существенно большее количество ароматических структур в своем составе, чем исходные препараты ГК.

Список литературы

1. Карпачевский Л.О., Строганова М.Н., Трофимов С.Я., Гончарук Н. Ю. Организация почвенного покрова Центрально-лесного государственного заповедника//Почвенные исследования в заповедниках. Проблемы заповедного дела. Вып. 7. М., 1995.
2. Кленов Б. М. Устойчивость гумуса автоморфных почв Западной Сибири. Новосибирск.: СО РАН-Гео, 2000.
3. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: МГУ.1990. 325 с.
4. Орлов Д.С., Барановская В.А., Околелова А. А. Степень бензоидности гуминовых кислот и методы ее определения//ДАН СССР. 1987. Т. 293. № 6. С. 1479–1484.

5. Орлов Д.С., Гришина Л.А., Ерошичева Н. Л. Практикум по биохимии гумуса. М.: МГУ, 1969.
6. Орлов Д.С., Гришина Л. А. Практикум по химии гумуса. М., МГУ. 1981. 272 с.
7. Перминова И. В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот. Автореф. дис. д-ра хим. наук. М.:МГУ. 2000. 50с.
8. Чухарева Н.В., Шишмина Л.В., Новиков А. А. Физико-химические характеристики торфяных гуминовых кислот и остатков их кислотного гидролиза//Химия растительного сырья. 2003. № 3. С. 11–15.
9. Abea T., Maieb N., Watanabea A. Investigation of humic acid N with X-ray photoelectron spectroscopy: Effect of acid hydrolysis and comparison with ¹⁵N cross polarization/magic angle spinning nuclear magnetic resonance spectroscopy//Organic Geochemistry. 2005. Vol. 36. № 11. P. 1490–1497.
10. Chen B., Johnson E.J., Chefetz B., Zhu L., Xing B. Sorption of Polar and Nonpolar Aromatic Organic Contaminants by Plant Cuticular Materials: Role of Polarity and Accessibility//Environ. Sci. Technol. 2005. № 39 (16). P. 6138–6146.
11. Marcos D., Lobartinib C.B., Lobartinib J. C. Particulate organ-ic matter, carbohydrate, humic acid contents in soil macro- and mi-croaggregates as affected by cultivation//Geoderma. 2006. Vol. 136. № 3–4. P. 660–665.
12. Stevenson F. J. Humus Chemistry. N.Y. 1982. 325p.