

С. Н. Чуков, М. А. Надпорожская

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОВ ЭКСТРАКЦИИ ГУМИНОВ НА ПРИМЕРЕ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

В большинстве работ, посвященных органическому веществу почв, авторами выделяются три основных компонента гумусовых веществ: прогуминовые вещества, гумусовые кислоты (гуминовые, гиматомелановые и фульвокислоты) и негидролизуемый остаток, включающий наряду с неспецифическими веществами растительного и животного происхождения особую фракцию гумусовых веществ, устойчивых к щелочному гидролизу и получивших название гуминов. Берцелиус, вводя почти 150 лет назад термин «гумин», подразумевал лишь закрепленную разновидность гуминовых кислот. Начиная с работ И. В. Тюрина [1937, 1940], к этой группе относят комплекс потерявших растворимость гуминовых и фульвокислот, поскольку свойства гуминов по многим параметрам совпадают со свойствами гумусовых кислот [Зырин Н. Г., 1948; Александрова Л. Н., 1980; Jacquin F. e. a., 1980, и др.], а нерастворимость гуминов носит относительный характер, но подбором физических воздействий и растворителей можно перевести в раствор значительную их часть. Таким образом, в настоящее время установилось определение гуминов как «более или менее сильно измененных специфических гумусовых веществ, по тем или иным причинам утративших растворимость» [Орлов Д. С., 1975, с. 51].

Серьезные методические затруднения и отсутствие общепризнанной методики экстракции гуминов определили весьма слабую изученность этой фракции почвенного гумуса. Мягкие обработки переводят в раствор незначительное количество гуминов, а жесткие воздействия (кислотный гидролиз в сочетании с повышенными концентрациями реагентов) могут значительно изменить структуру выделяемых соединений. Так, например, Гох с соавторами [Goh K. M. e. a., 1975] установил, что предварительная обработка кислотами (гидролиз 0,1 М HCl с последующим обеззоливанием 0,1 М HCl+0,03 М HF) заметно повышает выход фракции гуминов и уменьшает ее зольность, однако значительно снижает долю высокомолекулярных структур. Джамби и др. [Jambi P. e. a., 1982] также отмечают, что при воздействии плавиковой кислоты гуминовые кислоты становятся более алифатичными, уменьшаются размеры их молекул.

В правильном подборе методов предварительной обработки и экстракции фракции гуминов большое значение имеет познание химической природы их устойчивости к действию щелочного гидролиза. Наиболее ранние исследователи гуминов видели причины этой устойчивости в большей полимеризации и «уплотнении» этой фракции по сравнению со щелочнорастворимыми фракциями гумусовых кислот [Тюрин И. В., Гуткина Е. Л., 1940; Найденова О. А., 1951]. С развитием исследований о роли органо-минеральных взаимодействий в подвижности гумусовых веществ возник другой взгляд на природу устойчивости гуминов, рассматривающий эту фракцию как генетически похожую и близкую по структуре гуминовым кислотам, но значительно прочнее связанную с минеральной частью [Александрова Л. Н., 1980]. Ряд авторов объясняют нерастворимость гуминов изменениями в составе функциональных групп и связанных с ними катионов. Так, Дюшафур и Джакин [Duchaufour Ph., Jacquin F., 1975] указывают на возможность образования нерастворимого гумина в ре-

© С. Н. Чуков, М. А. Надпорожская, 1991.

зультате взаимодействия продуктов гумификации лигнина с катионами железа. Джайкин [Jasquin F., 1985] и Джайби и др. [Jambu P. e. a., 1982] нерастворимость гуминов относят за счет потерь гумусовыми веществами функциональных групп и особенно за счет потерь карбоксильных групп. Использование современных физико-химических методов пока, к сожалению, не продвинуло познание природы гуминов.

Ибарра [Ibarra J. V., 1989] на основании фурье-анализа спектров ИКС фракции гуминов деминерализованных смесью HCl/HF указывает на присутствие в ней большого числа карбоксильных групп, а нерастворимость этой фракции он объясняет высоким молекулярным весом. В то же время Хемпфлинг и Шултен [Hempfling R., Schulten H.-R., 1989] с применением пиролизно-полевой ионизационной масс-спектрометрии показали, что фракции гуминовых кислот и гумина демонстрируют близкий набор продуктов пиролиза, среди которых выделялись парафиновые структуры, сохранившиеся в процессе гумусообразования и принадлежащие исходным субъединицам лигнина и растительных остатков.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния различных методов предварительной (перед щелочной экстракцией гуминов) обработки почвенных образцов на некоторые физико-химические свойства выделяемых препаратов. Анализ литературных данных показал, что подавляющее большинство используемых методов включают кислотный гидролиз, причем чаще всего используется либо азотная, либо смесь плавиковой и соляной кислот различной концентрации. В качестве наиболее типичных нами были выбраны соответственно метод Фукса [Fuchs W., 1931] и метод Ратера [Ratier J. B., 1918]. Первый из них заключается в обработке образца почвы 5 н. раствором азотной кислоты на водяной бане, а второй — смесью разбавленных плавиковой и соляной кислот (обе в концентрации 2,5%) при нагревании. И тот и другой методы завершались экстракцией фракции гуминов децинормальным раствором гидроксида натрия.

В качестве объекта исследования был использован гумусовый горизонт целинной дерново-подзолистой суглинистой почвы со слабо выраженными признаками оглеения, сформированной на покровном суглинке под пологом ольхи. Из исходного почвенного образца по общепринятым методикам были выделены препараты гуминовых кислот суммы I и II фракций, а затем III фракции. Остаток почвы, промытый 1%-ным раствором сернокислого натрия, очищенный диализом против дистиллированной воды, высушенный и растертый, далее был разделен на две части для сравнительной экстракции гуминов по двум методикам, указанным выше. Выделенные путем серий последовательных обработок и экстракций гумины осаждали серной кислотой при pH 1,0—1,2, диализовали и сушили. В образцах почвы до и после экстракций был определен качественный состав органического вещества с помощью метода ЭПР, а также общее содержание углерода по Тюрину и по CO₂ (табл. 1). В препаратах гуминов, полученных путем последовательных экстракций, определяли коэффициент экстинкции 0,01%-ных растворов при различных длинах волн по Д. С. Орлову [1989], а также измеряли парамагнитную активность препаратов по ранее описанному методу на радиоспектрометре РЭ-1306 (табл. 2 и рисунок).

Изменения в качественном составе органического вещества, происходящие при экстракции гумусовых кислот из образца дерново-подзолистой почвы, в целом аналогичны наблюдавшимся нами ранее в образце серой лесной почвы [Цыпленков В. П., Чуков С. Н., 1984]. Они вызваны резким — почти в два раза — снижением содержания актив-

ных фракций, представленных в основном гумусовыми веществами, и почти таким же сильным увеличением содержания пассивных фракций, что привело к их преобладанию над активными. Следует отметить, что удельная, рассчитанная на 1% углерода, концентрация пара-

Таблица 1. Количественный и качественный состав органического вещества в образце дерново-подзолистой почвы

Стадия обработки	С _{общ} , %		Концентрация ПМЦ, $\frac{\text{спин}}{\text{г}} \times 10^{15}$			
	по CO ₂	по Тюрину	на навеску почвы		на 1% CCO ₂	
			акт.	пас.	акт.	пас.
Исходный образец	5,95	4,11	2,79	0,91	0,47	0,15
После экстракции I—III фракций гумусовых кислот	2,04	1,83	1,45	1,67	0,71	0,82
После экстракций гуминов с обработкой HNO ₃	0,33	0,32	1,12	1,77	3,39	5,36
После экстракций гуминов с обработкой HCl+HF	1,78	1,86	3,73	1,69	2,10	0,95

магнитных центров (ПМЦ) активных фракций в негидролизованном остатке, содержащем и гумины, из-за жесткого воздействия щелочного гидролиза возрастает в полтора раза. Этим объясняется тот факт, что концентрация ПМЦ активных фракций снизилась на 20% меньше, чем

Таблица 2. Парамагнитная активность и оптические свойства последовательно экстрагированных препаратов гуминовых веществ

Препараты	Концентрация ПМЦ, $\frac{\text{спин}}{\text{г}} \times 10^{17}$	$E_{465}^{0.01\%}$
Гуминовые кислоты фракции I+II	0,28	—
фракция III	1,01	—
Гумины, обработка HNO ₃ , посл. экстракции		
1	2,59	0,840
2	4,34	0,925
3	3,40	0,870
4	2,55	0,698
5	1,97	0,381
Гумины, обработка HCl+HF		
1	1,22	0,450
2	1,43	0,544

убыль органического углерода в образце почвы после экстракции гумусовых кислот I—III фракций. Содержание ПМЦ пассивных фракций в то же время увеличилось более чем в 5 раз.

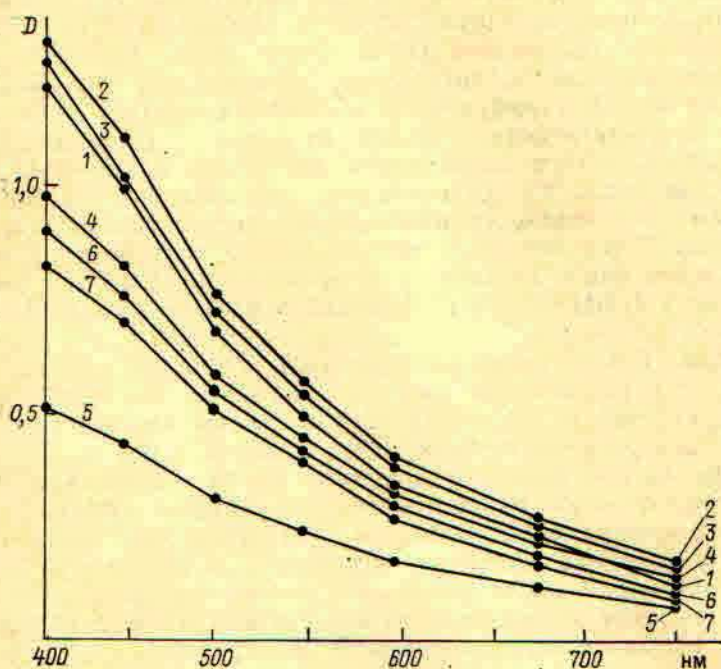
Сравнение двух методик переведа фракции гуминов в растворимое состояние показало существенные различия как в количественном, так и в качественном составе полученных с их помощью препаратов. Обработка смесью галогено-водородных кислот показала весьма низкую эффективность — последние вытяжки имели следовые количества гумусовых веществ. Анализ содержания органического

углерода, приведенный в табл. 1, показывает, что после трехкратных последовательных обработок его содержание уменьшилось на 0,26% от веса почвы, что составляет всего 13% от общего количества углерода негидролизованного остатка.

В варианте с использованием азотной кислоты удалось выделить значительно большее количество фракции гуминов — почти 84% от углерода негидролизованного остатка, что может свидетельствовать о более глубоком процессе деструкции, позволяющем сделать фракцию гуминов почти полностью доступной щелочной экстракции, за исключением прочносвязанных с минеральной частью органических веществ.

Наряду с различиями между методиками по количественному вы-

ходу фракций наблюдаются существенные изменения и в качественном составе как полученных препаратов, так и оставшегося в почвенном образце органического вещества. Динамика изменения парамагнитной активности препаратов, представленная в табл. 2, начиная с I+II фракций гуминовых кислот и до фракций гуминов характеризуется постепенным увеличением концентрации ПМЦ, что закономерно связано с усилением степени деструктивного воздействия на органическое вещество почвы. Более сложная зависимость наблюдается



Оптические свойства препаратов гуминов (последовательно экстрагированных фракций).

1, 2, 3, 4, 5 — обработка HNO_3 ; 6, 7 — обработка HF .

в последовательно экстрагированных препаратах гуминов при обработке азотной кислотой. По нашему мнению, заметный рост парамагнитной активности почти в два раза в препаратах № 2 и 3 по сравнению с № 1 и 4 может быть обусловлен совокупным действием двух факторов. С одной стороны, от образца к образцу возрастает степень деструктивного воздействия и азотной кислоты, и щелочи на гумины, что способствует инициированию новых ПМЦ типа семихинонов или дефектов сопряженных связей [Цыпленков В. П., Чуков С. Н., 1984]. С другой стороны, по мере уменьшения содержания в почве фракции гуминов, по-видимому, снижается доля ароматических структур в экстрагируемых препаратах, что уменьшает их возможности к стабилизации инициируемых гидролизом ПМЦ. Этот процесс, очевидно, и обуславливает последовательное снижение концентрации ПМЦ в образцах с № 3 по 5 по сравнению с двумя предыдущими.

Вывод об изменении содержания ароматических структур по мере усиления деструктивного воздействия последовательно экстрагированных функций гуминов подтверждается исследованиями их оптических

свойств. Данные, представленные в табл. 2 и на рисунке, показывают, что коэффициент экстинкции, определенный по методике Д. С. Орлова [1989], косвенно связанный со степенью ароматичности гумусовых препаратов, незначительно изменяется в первых трех образцах и заметно уменьшается в № 4 (в полтора раза) и в № 5 (более чем в два раза).

Два препарата гуминов, полученные после обработки галогеноводородными кислотами, обладают значительно более низкой концентрацией ПМЦ, что может быть связано со спецификой воздействия плавиковой кислоты на органо-минеральный комплекс почвы, вследствие чего отщепляются в первую очередь нерегулярные алифатические структуры, которые не могут сохранять стабильность большого числа иницированных гидролизом ПМЦ. Этот вывод подтверждается и оптическими свойствами, препаратов, дающих, как это видно на рисунке и в табл. 2, коэффициенты экстинкции, почти в два раза меньшие, чем соответствующие образцы из серии с обработкой азотной кислотой. Остающееся после такой обработки в почвенном образце органическое вещество относительно обогащается ароматическими структурами и иницированными в них деструктивными воздействиями новыми ПМЦ, подвергается дальнейшей конденсации, что и приводит, как это видно из табл. 1, к неожиданно большому увеличению концентрации ПМЦ активных фракций в остатке почвы (более чем в 2,5 раза).

Выводы. 1. Сравнение двух методов обработки гуминов с целью перевода их в растворимое состояние показало, что наиболее пригодным следует считать обработку образца почвы азотной кислотой, что позволяет экстрагировать более 80% фракции гуминов.

2. Применение галогеноводородных кислот переводит в растворимое состояние очень малое количество гуминов, вызывает заметное изменение молекулярной структуры экстрагируемых препаратов.

3. Изучение парамагнитной активности и оптических свойств гуминов, выделенных после обработки азотной кислотой, показало, что по мере усиления деструктивного воздействия происходит постепенное снижение ароматичности выделяемых препаратов.

Summary

A comparative study of humin extraction methods demonstrates that the preliminary treatment of the soil sample with nitric acid is particularly efficient. It allows to get about 90% extraction of the humin fraction. Hydrogalogenous acids dissolve only a small part of fractions and considerably change their molecular structure. As it follows from ESR and visible spectroscopy studies of the humins collected after treatment with nitric acid, the increase in destruction leads to gradual decrease of the aromatic properties of the substance.

Литература

- Александрова Л. Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации. Л., 1980. — Зырин Н. Г. Гумин органического вещества почвы // Вестн. Моск. ун-та. 1948, № 1. — Найденова О. А. К вопросу о природе гуминов почвенного гумуса // Учен. зап. Лeningr. ун-та. Сер. биол. наук. 1951. Вып. 27. № 140. — Орлов Д. С. Вопросы идентификации и номенклатуры гумусовых веществ // Почвоведение. 1975. № 2. — Орлов Д. С. Химия почв. М., 1985. — Тюрин И. В. Органическое вещество почв. М.; Л., 1937. — Тюрин И. В., Гуткина Е. Л. Материалы по изучению природы «гуминов» чернозема // Труды Почв. ин-та им. В. В. Докучаева. 1940. Т. XXIII. — Цыпленков В. П., Чуков С. Н. Парамагнитная активность органического вещества некоторых почв // Почвоведение. 1984. № 11. — Duchaufour Ph., Jacquin F. Comparaison des processus d'humification dans les principaux types d'humus forestiers // Bull. Assoc. Fr. l'étude sol. 1975. N 1. — Fuchs W. Die Chemie der Kohle. Berlin, 1931. — Goh K. M., Reid M. R. Molecular weight distribution of soil organic matter as affected by acid pre-treatment and fractionation into humic and fulvic acids // Soil Sci. 1975. Vol. 26, N 3. — Hempling R.,

Schulten H.-R. Selective preservation of biomolecules during humification of forest litter studied by pirolis-field ionization mass spectrometry // *Sci. total Environ.* 1989. Vol. 81/82.—Ibarra J. V. Fourier transform studies of coal humic acids // *Sci. total Environ.* 1989. Vol. 81/82.—Jacquin F. Dynamique de la matiere organique en sols cultives sous climats temperes // *C. R. Acad. agr. Fr.* 1985. Vol. 71, N 6.—Jacquin F., Haidouti C., Muller J.-C. Dynamique de la matiere organique en sols carbonates cultives // *Science du sol. Bull. de L'association Francaise pour l'etude du sol.* 1980, N 1.—Jambu P., Moucavvi J., Dupuis T., Dupuis J. Recherche sur la polycondensation des acides humiques et des humines dans des sols limoneux sous climat aridique // *Bull. assoc. Fr. l'etude sol.* 1982. N 4.—Rather G. B. An Accurate loss-on-ignition method for the determination of organic matter in soils // *Industrial and engineering chemist.* 1918. Vol. 10.

Статья поступила в редакцию 29 апреля 1990 г.