

УДК 631.417.2

UDC 631.417.2

25.00.00 Науки о Земле

The Earth Science

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ
ПОЧВЫ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ**

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL
CHARACTERISTICS OF HUMIC ACID SOILS
OF THE KRASNODAR REGION**

Лобанов Владимир Григорьевич
д.т.н., профессор
SPIN-код: 8017-9952

Lobanov Vladimir Grigorievich
Doctor of Technical Sciences, professor
SPIN-code: 8017-9952

Александрова Анна Владимировна
к.т.н.
SPIN-код: 6617-6500
alexanna@mail.ru

Alexandrova Anna Vladimirovna
Candidate of Technical Sciences
SPIN-code: 6617-6500,
alexanna@mail.ru

Шурай Ксения Николаевна
SPIN-код: 4027-6030
kseniya_shurai@mail.ru

Shuray Kseniya Nikolaevna
SPIN-code: 4027-6030
kseniya_shurai@mail.ru

Авдеев Александр Сергеевич
аспирант
SPIN-код: 1821-4312

Avdeev Alexander Sergeevich
postgraduate student
SPIN-code: 1821-4312

Рашид Имран Джавидович
магистрант
*Кубанский государственный технологический
университет, Краснодар, Россия
350072, г.Краснодар, ул. Московская, 2*

Rashid Imran Dzhavidovich
master student
*Kuban State Technological University, 2,
Moskovskaya st., Krasnodar, 350072 Russian
Federation*

Исследованы структурно-функциональные свойства гуминовых кислот различных видов слабоизученных почв Краснодарского края: чернозем обыкновенный (карбонатный), луговато-черноземная и серая лесная почва. Определен тип гумуса исследованных почвенных образцов как фульватно-гуматный. С использованием традиционных индикаторных показателей диагностики гумусового состояния почвы выявлены закономерности почвенно-экологических процессов с участием органического вещества почв в условиях природно-факториальных и антропогенно-факториальных изменений на мониторинговых площадках. Показана взаимосвязь оптических свойств гуминовых кислот с интенсивностью процессов трансформации гумусовых веществ по мере увеличения глубины расположения почвенного образца. Методами ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии и спектрофотометрии в видимой области спектра показаны сходства и различия в строении макромолекул гуминовых кислот в образцах почвы. В условиях загрязнения почвы нефтью в условиях натурального эксперимента на мониторинговой площадке установлена тенденция к перераспределению в соотношении функциональных групп макромолекул гуминовых кислот: доля алифатических фрагментов

The structural and functional properties of humic acids of different types of poorly studied soils of the Krasnodar Region: ordinary black soil or chernozem (carbonated), meadowish chernozem and gray forest soils are investigated. We define the type of humus of the soil samples studied as fulvate-humate. Using traditional indicators of humus soil conditions the regularities of soil and ecological processes involving organic matter in soils under natural and anthropogenically factorial changes in the monitoring sites are revealed. The relationship of the optical properties of humic acids with the intensity of the processes of transformation of humic substances by increasing the depth of the soil sample is shown. By NMR spectroscopy, IR spectroscopy, and spectrophotometry in the visible spectrum differences and similarities in the structure of macromolecules of humic acids in soil samples. In terms of soil contamination with oil in a field experiment, on the monitoring site we have set a trend towards redistribution in the ratio of functional groups of humic acid macromolecules: the proportion of aliphatic fragments increases. We have revealed an increase in the share of the mobile fraction of humic substances in terms of oil pollution. The article has the most suitable justification for these processes. The results can be used for prediction the environmental state of the soil under anthropogenic pollution

возрастает. Выявлено увеличение доли подвижной фракции гумусовых веществ в условиях нефтяного загрязнения. Приведено наиболее вероятное обоснование этим процессам. Результаты исследования могут быть использованы в целях прогнозирования экологического состояния почвы при антропогенном загрязнении

Ключевые слова: ПОЧВА, ГУМИНОВЫЕ КИСЛОТЫ, ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ГРУППЫ, ФУЛЬВОКИСЛОТЫ, ИК-СПЕКТРЫ, ЯМР-СПЕКТРЫ, СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ

Keywords: SOIL, HUMUS, HUMIC ACID, FULVIC ACID, FUNCTIONAL GROUP, OIL, IR SPECTRA, NMR SPECTRA SPECTROPHOTOMETER

Введение. Применение современных интенсивных агротехнологий в растениеводстве, а также промышленная деятельность оказывают воздействие на почвенные системы, что отражается на экологическом состоянии почв в целом, их плодородии и качестве пищевых продуктов.

Гумус – органическое вещество почвы, которое направляет геохимические потоки поллютантов в окружающей среде. Известно, что гумусовые кислоты (ГК), входящие в состав органического вещества почвы, являются весьма реакционноспособным классом природных соединений. Наличие в структуре гумусовых кислот широкого набора кислородсодержащих функциональных групп (карбокисильных, гидроксильных, карбонильных и др.) в сочетании с ароматическими фрагментами обуславливает их способность вступать в химические и физико-химические взаимодействия: образовывать водородные связи, участвовать в ионообменных, сорбционных процессах [1]. Строение ГК обуславливает выполнение своеобразных функций: накопление питательных веществ и микроэлементов, обеспечение их транспорта в растения, изменение катионо-обменной и буферной емкости почвы, участие в ее структурировании. ГК, выделенные из различных видов сырья, различаются по составу и свойствам. В зависимости от генезиса сырья в структуре ГК могут преобладать низко- или высокомолекулярные соединения с различным содержанием алифатических и ароматических фрагментов, функциональных групп, что влечет за собой специфику

биологической активности почвы [2]. В связи с указанными свойствами разработка моделей биогеохимических циклов химических загрязнителей в окружающей среде невозможна без учета взаимодействия их с гумусовыми кислотами. В настоящее время научный интерес и практическое значение заслуживает защитная функция ГК - взаимодействие с различными типами почвенных поллютантов, снижение их подвижности и токсичности для экобиосистем [3].

Исследования особенностей почв Краснодарского края выявили значительное разнообразие в почвенном покрове и установили наличие на территории края почти всех типов почвообразования, имеющих в мире. Природные условия Краснодарского края характеризуются заметной сменой биоклиматических факторов, что определяет своеобразие функционирования сообществ почвенных микроорганизмов, которые обеспечивают интенсивность образования и накопления гумуса, его структурно-функциональные особенности. Вовлечение почв в интенсивное сельскохозяйственное растениеводство, химическое загрязнение резко снижает природный биоэнергетический потенциал почв вследствие усиления минерализации органического вещества и снижения запасов гумуса [4, 5]. Наблюдаемый в последние годы рост урожайности происходит за счет истощения почвенного плодородия и обязан совершенствованию систем земледелия на адаптивно-ландшафтной основе, созданию новых адаптивных сортов и гибридов сельскохозяйственных культур. В связи с этим характеристика и оценка гумусного состояния почв имеют важное значение для определения их экологической устойчивости и достоверного прогнозирования уровня плодородия [6, 7].

Цель настоящего исследования - сравнительный анализ структуры макромолекул ГК почв Краснодарского края для выявления структурно-функциональных особенностей, обеспечивающих наибольшую

биологическую активность гумуса при антропогенном воздействии (на примере загрязнения нефтью).

Характеристика объектов исследования. Результаты были получены на мониторинговых площадках, расположенных на территории Краснодарского края: станицы Елизаветинской, станицы Смоленской Северского района и поселка Транспортного Горячеключевского района Краснодарского края. В соответствии с общепринятой классификацией почв России (2004 г.) почвы ст. Елизаветинской, ст. Смоленской и пос. Транспортного были классифицированы как чернозем обыкновенный (карбонатный) малогумусный сверхмощный (ЧК), луговато-черноземная слабогумусная почва со сверхмощным гумусовым горизонтом (ЛЧ) и серая лесная почва с мощным гумусовым горизонтом (СЛ). Основные характеристики исследуемых почв приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика объектов исследования

Вид почв	Глубина отбора пробы, см	Валовое содержание гумуса, %	рН водной вытяжки	Содержание фракций, %	
				Песок	Глина
ЧК	0 – 20	3,54	7,9	33,8	66,2
	20 – 40	0,72	8,3	28,2	71,8
	40 – 60	0,56	8,4	27,7	72,3
ЛЧ	0 – 20	2,51	6,9	42,6	57,4
	20 – 40	0,67	7,0	39,4	60,6
	40 – 60	0,54	7,0	40,2	59,8
СЛ	0 – 20	1,78	5,5	47,6	52,4
	20 – 40	0,48	5,3	41,7	58,3
	40 – 60	0,39	5,3	39,9	60,1

Методы и результаты исследования. Для исследования структурно-функциональных свойств ГК выбраны общепринятые и стандартные методы исследования, обеспечивающие достоверные результаты [8]. Гранулометрический состав почв определяли пипеточным методом по ГОСТ 12536-79, водородный показатель водной вытяжки - электрометрическим методом по ГОСТ 26213-84. Валовое содержание

гумуса определяли методом И.В. Тюрина в модификациях (ГОСТ 26213-91), фракционно-групповой состав гумуса - по схеме И.В. Тюрина в модификации В.В. Пономаревой и Т.А. Плотниковой.

Полученные данные характеризуют тип гумуса всех исследованных почвенных образцов как фульватно-гуматный (соотношение Сгк:Сфк находится в пределах 1 – 2). При этом в ряду почв ЛЧ – ЧК – СЛ снижается относительное содержание гуминовых кислот и увеличивается содержание фульвокислот. Результаты определения группового состава гумуса исследуемых почв представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Фракционный состав гумуса почв Краснодарского края, % от $C_{общ}$

Вид почв	Глубина отбора проб, см	Собщ, %	Гуминовые кислоты, %				Фульвокислоты, %					Н.о.	Сгк:Сфк
			1	2	3	Σ	1а	1	2	3	Σ		
ЧК	0 – 20	3,54	2,0	19,8	8,6	30,4	0,4	1,4	9,5	7,4	18,7	50,9	1,62
	20 – 40	0,72	8,8	11,7	10,8	31,3	1,3	4,2	7,0	5,8	18,3	49,6	1,71
	40 – 60	0,56	9,1	11,9	9,5	30,5	1,1	4,4	7,1	5,6	18,2	48,7	1,68
ЛЧ	0 – 20	2,51	3,1	16,6	8,0	27,7	0,3	1,4	10,0	6,1	17,8	54,5	1,56
	20 – 40	0,67	5,3	13,3	10,9	29,5	0,6	2,8	7,4	5,7	16,5	54,0	1,79
	40 – 60	0,54	7,4	13,0	9,2	29,6	0,8	3,6	6,0	5,8	16,2	54,2	1,83
СЛ	0 – 20	1,78	3,8	14,4	5,4	23,6	0,5	1,7	9,8	6,5	18,5	57,9	1,28
	20 – 40	0,48	6,1	10,8	4,0	21,9	0,7	2,8	8,8	6,1	18,4	59,7	1,19
	40 – 60	0,39	6,7	9,9	6,1	22,7	0,9	3,0	8,8	6,0	18,7	58,6	1,21

Площадь мониторинговых площадок составляла 1 м², повторность анализа – четырехкратная. Антропогенное воздействие изучали на мониторинговых площадках ст. Елизаветинской и ст. Смоленской на примере загрязнения углеводородами нефти в количестве 2,5; 5 и 10 л/м². В качестве поллютанта использовали сырую нефть Западно-Сибирского месторождения, предоставленную ООО “Ильский НПЗ”. Длительность воздействия нефтяного загрязнения составляла 18 месяцев.

По окончании указанного периода для участка с дозой поллютанта 2,5 л/м² установлено изменение фракционно-группового состава гумусовых веществ в пахотном слое (0 – 20 см), заключающееся в

увеличении доли подвижных (не связанных с кальцием) гумусовых веществ. Также можно отметить увеличение относительного содержания фульвокислот. При загрязнении почвы нефтью в больших концентрациях существенного изменения группового состава гумуса также не было выявлено, что может быть обусловлено временным значительным угнетением аборигенной микрофлоры.

Для характеристики степени изменения гумуса под влиянием антропогенного воздействия использовали коэффициент подвижности гумуса, определяемый как отношение содержания гумусовых веществ подвижных и связанных с кальцием (таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительная характеристика подвижности гумуса незагрязненных и нефтезагрязненных почв

Показатель	Контроль	Загрязненная нефтью почва (2,5 л/м ²)
Чернозем обыкновенный (карбонатный)		
Суммарное содержание подвижных гумусовых веществ, % от Собщ	3,4	3,9
Суммарное содержание связанных с Са гумусовых веществ, % от Собщ	29,3	27,2
Коэффициент подвижности гумуса	0,12	0,14
Относительное изменение коэффициента подвижности гумуса, %	16,7	
Луговато-черноземная почва		
Суммарное содержание подвижных гумусовых веществ, % от Собщ	4,5	5,6
Суммарное содержание связанных с Са гумусовых веществ, % от Собщ	26,6	25,3
Коэффициент подвижности гумуса	0,17	0,25
Относительное изменение коэффициента подвижности гумуса, %	22,1	

Таким образом, установлено увеличение коэффициента подвижности гумуса ЧК и ЛЧ почвы на 16,7 % и 22,1 % соответственно.

Были исследованы оптические свойства образцов гуминовых кислот, выделенных из исследуемых почв, в видимой и инфракрасной областях спектра, а также получены и проанализированы ЯМР-спектры на ядрах ¹H и ¹³C. Выделение препаратов гуминовых кислот проводили путем многократной обработки навесок почв 0,1н раствором гидроксида натрия

после декальцирования 0,05 н раствором серной кислоты с последующим осаждением гуминовых кислот при рН 1 -2 и отмывкой осадка дистиллированной водой. Почвы мониторинговой площадки ст. Елизаветинской, являющиеся карбонатными, предварительно обрабатывали 0,1н раствором HCl. Сушку препаратов гуминовых кислот осуществляли при температуре 70⁰С в вакуумном роторно-пленочном испарителе. Для получения ЯМР-спектров навеску гуминовых кислот 50 мг растворяли в 0,3 М гидроксиде натрия в тяжелой (дейтерированной) воде, выдерживали в ультразвуковой бане, центрифугировали в течение 5 минут при частоте 10 000 об/мин, отделяли жидкость от осадка. Для изучения оптических свойств гуминовых кислот в видимой области применяли показатели оптической плотности $E_{465}^{0,001\%C}$ и коэффициент цветности Шпрингера, равный отношению оптических плотностей на длинах волн 465 и 650 нм. Результаты измерения оптической плотности и коэффициента цветности гуминовых кислот приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Оптические свойства гуминовых кислот почв Краснодарского края

Вид почвы	Глубина отбора пробы, см	Оптическая плотность $E_{465, 1cm}^{0,001\%C}$	Коэффициент цветности, $D_{465}:D_{650}$
ЧК	0 – 20	0,14	2,83
	20 – 40	0,11	1,74
	40 – 60	0,10	1,71
ЛЧ	0 – 20	0,12	4,27
	20 – 40	0,09	3,11
	40 – 60	0,08	2,89
СЛ	0 – 20	0,11	1,73
	20 – 40	0,10	1,68
	40 - 60	0,09	1,67

Из представленных данных видно, что все препараты гуминовых кислот обладают высокой оптической плотностью, что позволяет предположить преобладание в составе гумуса черных гуминовых кислот, что является характерным для почв Краснодарского края. В ряду СЛ – ЧК – ЛЧ по данным коэффициента цветности уменьшается соотношение ароматической и алифатической составляющей молекул гуминовых кислот

в пахотном слое почвы. Также установлено снижение коэффициента цветности с увеличением глубины расположения почвенного образца, что косвенно подтверждает гипотезу о взаимосвязи оптических свойств гуминовых кислот с интенсивностью процессов трансформации гумусовых веществ. В результате нефтяного загрязнения почв ЧК и ЛЧ в количестве 2,5 л/м² через 18 месяцев после начала эксперимента обнаружено незначительное снижение оптической плотности гумусовых кислот пахотного слоя почв с одновременным увеличением коэффициента цветности, что также может свидетельствовать об увеличении алифатической части молекул гуминовых кислот за счет включения продуктов микробиологической трансформации нефтяных углеводородов. Оптическая плотность $E_{465}^{0,001\%C}$ гуминовых кислот пахотного слоя нефтезагрязненных почв ЧК и ЛЧ составила 0,12 и 0,10, коэффициент цветности – 2,96 и 4,54 соответственно. Таким образом, относительное снижение оптической плотности гуминовых кислот ЧК и ЛЧ составило 14,3 % и 16,7 % соответственно, а увеличение коэффициента цветности – 4,6 % и 6,3 % соответственно.

Методами ИК-спектроскопии установлено наличие практически идентичных полос поглощения для всех образцов почв, незначительно различающихся интенсивностью аналитического сигнала. Наибольшее значение имеют выраженные максимумы на следующих длинах волн: 2925 и 2865 см⁻¹ (волновые колебания СН-групп в СН₂), 1710 см⁻¹ и 1245 см⁻¹ (С=О и С-О связи карбоксильных групп), 1610 см⁻¹ (С=С связи бензоидных структур), 1050 см⁻¹ (С-О связи спиртовых групп). Соотношение интенсивностей полос поглощения, характеризующее соотношение ароматической и алифатической составляющей молекул гуминовых кислот, согласуется со сведениями, полученными методом спектрофотометрии в видимой области спектра.

Нами получены ЯМР - спектры гуминовых кислот на ядрах ^1H и ^{13}C . В качестве параметра, характеризующего структурно-функциональные свойства гуминовых кислот, использовали соотношение интенсивностей суммы аналитических сигналов протонов, относящихся к ароматической и алифатической частям молекул. В ряду СЛ – ЧК – ЛЧ это соотношение уменьшалось и составило 0,88; 0,58 и 0,31 соответственно. Таким образом, можно сделать вывод, что молекулы гуминовых кислот почвы СЛ обладают более развитой ароматической структурой, а ЛЧ – наиболее развитой алифатической частью, что также свидетельствует о повышенной интенсивности гумусообразования лугово-черноземной почвы.

Выводы. Таким образом, установлено, что в ряду СЛ-ЧК-ЛЧ снижается соотношение ароматических и алифатических молекулярных фрагментов ГК, что говорит об убывании интенсивности гумусообразования. Для дозы нефти $2,5 \text{ л/м}^2$ во всех образцах установлена тенденция к перераспределению в соотношении функциональных групп макромолекул ГК, что может свидетельствовать о включении продуктов микробиологической трансформации нефтяных углеводородов. Для нефтезагрязненной почвы ЧК и ЛЧ с дозой нефти $2,5 \text{ л/м}^2$ выявлено увеличение доли подвижной фракции гумусовых веществ (ГК1+ФК1).

В результате исследования дополнена научно-техническая информация в области характеристик и закономерностей почвенно-экологических процессов с участием органического вещества почв в условиях природно-факториальных и антропогенно-факториальных изменений для малоизученных видов почв Краснодарского края, что может быть использовано в целях прогнозирования возможностей восстановления почвы при антропогенном загрязнении.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и министерства образования и науки Краснодарского края (проект №13-04-96602 р_юг_а).

Список литературы

1. Александрова Л.Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации / Л.Н. Александрова. - Л.: Наука, 1980. - 288 с.
2. Бирюкова О.Н. Содержание и состав гумуса в основных типах почв России / О.Н. Бирюкова, Д.С. Орлов // Почвоведение. - 2004. - № 2. - С. 171-188.
3. Иванов А.А. Исследование биостимулирующих и детоксицирующих свойств гуминовых кислот различного происхождения в условиях нефтезагрязненной почвы / А.А. Иванов, Н.В. Юдина, Е.В. Мальцева, Е.Я. Матис // Химия растительного сырья. - 2007. - № 1. - С. 99-103.
4. Кириченко К.С. Почвы Краснодарского края / К.С. Кириченко – Краснодар: Красгосиздат, 1953. – 236 с.
5. Агроклиматические ресурсы Краснодарского края / под ред. З.М. Русеева-Л.: Гидрометеиздат, 1975. -276 с.
6. Александрова А.В., Левчук А.А., Лобанов В.Г., Шурай К.Н. Исследование фитотоксичности и биологических показателей почвы в условиях изменения дозы поллютанта // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. - 2013.- № 5-6. С. 103-104.
7. Александрова А.В., Шурай К.Н., Шабанова Д.Н., Данилов Д.А. В сборнике: Химия: образование, наука, технология. Сборник трудов всероссийской научно-практической конференции с элементами научной школы. Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова. Киров. - 2014. С. 21-23.
8. Орлов Д.С., Гришина В.А. Практикум по химии гумуса: Учеб. пособие. - М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1981. 272 с.

References

1. Aleksandrova L.N. Organicheskoe veshhestvo pochvy i processy ego transformacii / L.N. Aleksandrova. - L.: Nauka, 1980. - 288 s.
2. Birjukova O.N. Soderzhanie i sostav gumusa v osnovnyh tipah pochv Rossii / O.N. Birjukova, D.S. Orlov // Pochvovedenie. - 2004. - № 2. - S. 171-188.
3. Ivanov A.A. Issledovanie biostimulirujushhih i detoksicirujushhih svojstv guminovyh kislot razlichnogo proishozhdenija v uslovijah neftezagrjaznennoj pochvy / A.A. Ivanov, N.V. Judina, E.V. Mal'ceva, E.Ja. Matis // Himija rastitel'nogo syr'ja. - 2007. - № 1. - S. 99-103.
4. Kirichenko K.S. Pochvy Krasnodarskogo kraja / K.S. Kirichenko – Krasnodar: Krasgosizdat, 1953. – 236 s.
5. Agroklimaticheskie resursy Krasnodarskogo kraja / pod red. Z.M. Ruseeva-L.: Gidrometeoizdat, 1975. -276 s.
6. Aleksandrova A.V., Levchuk A.A., Lobanov V.G., Shuraj K.N. Issledovanie fitotoksichnosti i biologicheskikh pokazatelej pochvy v uslovijah izmenenija dozy polljutanta // Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Pishhevaja tehnologija. - 2013.- № 5-6. S. 103-104.
7. Aleksandrova A.V., Shuraj K.N., Shabanova D.N., Danilov D.A. V sbornike: Himija: obrazovanie, nauka, tehnologija. Sbornik trudov vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii s jelementami nauchnoj shkoly. Severo-Vostochnyj federal'nyj universitet imeni M.K. Ammosova. Kirov. - 2014. S. 21-23.
8. Orlov D.S., Grishina V.A. Praktikum po himii gumusa: Ucheb. posobie. - M.: Izd-vo Mosk. Un-ta, 1981. 272 s.