

УДК 631.417:631.445.4

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ФРАКЦИЙ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА  
ЧЕРНОЗЕМА ТИПИЧНОГО МЕТОДОМ  
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОЙ ЭКСТРАКЦИИ  
ОРГАНИЧЕСКИМИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ И ВОДОЙ**

**М. Г. КОРОТКОВ, В. П. ФРОЛОВ**  
(Кафедра физической и коллоидной химии)

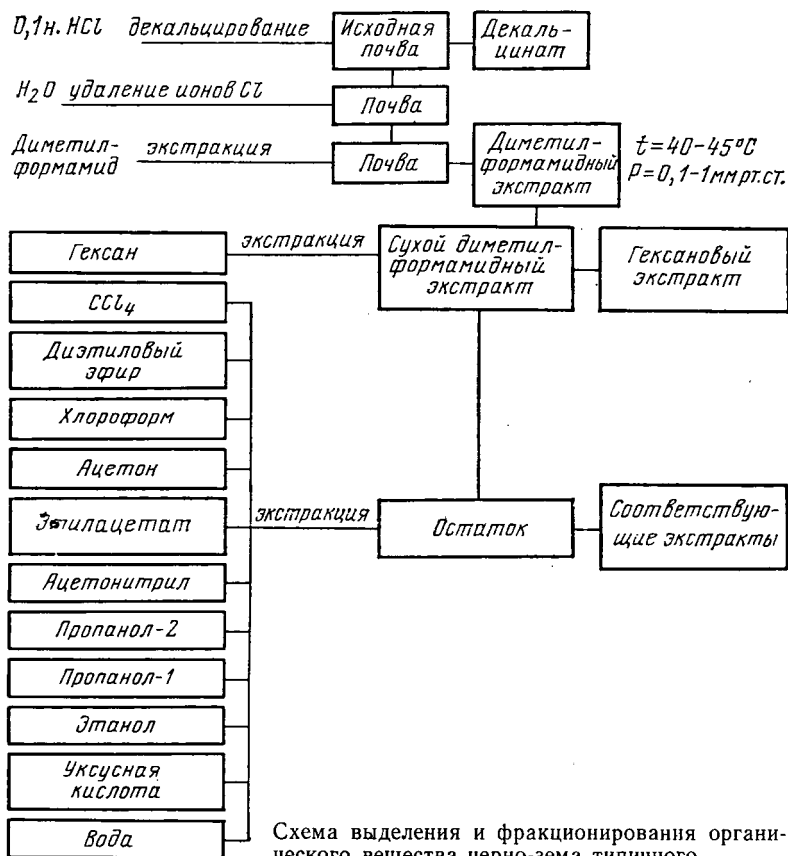
Изучению органического вещества почвы посвящено большое количество работ. Однако до сих пор окончательно не ясна структура фрагментов, слагающих эту высокомолекулярную систему. Кроме того, имеется сравнительно мало данных о содержании и составе микроэлементов в органическом веществе почв, которые, несомненно, играют важную роль в образовании связи между органическими фрагментами и минеральной матрицей. Для решения указанной задачи необходимо осуществить фракционирование исходного вещества с минимальным разрушением лабильных связей и получением фракций, различающихся по структуре наиболее характерных фрагментов.

В настоящем сообщении излагаются результаты фракционирования диметилформамидного экстракта органического вещества методом последовательной экстракции рядом органических растворителей и водой с последующим анализом фракций с помощью методов атомной абсорбции, ИК-спектроскопии и определением их элементного состава.

В качестве объекта исследования был взят образец чернозема ти-

ичного (горизонт  $A_1$ ) из Курского черноземного заповедника, содержание гумуса составляло 8,7 %.

Для выделения органического вещества использовали диметилформамид, который с успехом применялся ранее [4, 9, 11]. Навеску почвы (300 г) предварительно декальцировали 0,1 н. HCl до отрицательной реакции на ион кальция и затем отмывали водой до отрицательной реакции на хлор-ион. После этого почву заливали диметилформамидом и оставляли на сутки. Окрашенный экстракт сливали и заливали почву новой порцией диметилформамида. Экстракцию про-



водили до полного обесцвечивания раствора над почвой. Диметилформамидный экстракт центрифугировали при 6000 об/мин и затем отгоняли диметилформамид на роторном испарителе под вакуумом при температуре 40—45°. После отгонки диметилформамида препарат представлял собой аморфное вещество черного цвета, которое прилипло к пестику агатовой ступки, поэтому растереть его в порошок было невозможно.

Для фракционирования полученного препарата была применена последовательная экстракция органическими растворителями, которые были взяты в порядке возрастания полярности, и водой. Схема выделения и фракционирования органического вещества дана на рисунке. Все растворители предварительно очищали по методикам, принятым в органической химии [3, 7]. Этанол был взят 96 %-ной концентрации. Воду дважды перегоняли.

Навеску полученного препарата диметилформамидного экстракта (7,5 г) помещали в круглодонную колбу объемом 0,5 л со шлифом, за-

ливали растворителем и оставляли на сутки в темноте, периодически встряхивая. Окрашенный экстракт сливали и заливали новую порцию растворителя. Экстракцию проводили до обесцвечивания раствора. По окончании экстракции одним растворителем его остатки отгоняли из колбы и использовали следующий растворитель. Все полученные экстракты фильтровали через «нутча-фильтр» № 4. Затем растворитель из экстрактов отгоняли на роторном испарителе под вакуумом, а полученные препараты хранили в бюксах с притертыми крышками над  $P_2O_5$  в эксикаторе в холодильнике. Бензол после суточной экстракции оставался бесцветным, что свидетельствует об отсутствии бензольного экстракта. После экстракции гексаном и отгонки остатков из колбы с диметилформамидным экстрактом последний к пестику ступки уже не прилипал и его измельчили в порошок. Препараты, полученные экстракцией гексаном и эфиром, оказались маслянистыми жидкостями, а после отгонки пропанола-1 препарат расслоился на две фазы — жидкую (№ 19) и аморфную (№ 9). Ацетонитрильный экстракт представлял собой игольчатые кристаллы желто-зеленого цвета. Остальные препараты были аморфными с различными оттенками бурого цвета. Всего в результате экстракции получено 13 различных фракций органического вещества, а также остаток исходного диметилформамидного экстракта. Для этих препаратов были сняты ИК-спектры, определены элементный состав и содержание в них металлов и окиси кремния. Элементный состав устанавливали на автоматическом С, Н, N-анализаторе фирмы «Хьюлетт-Паккард» в 3-кратной повторности. Кислород рассчитывался по разности, степень окисленности — по Орлову [8]. Образцы для получения ИК-спектров готовили методом прессования препаратов с бромистым калием. Запись спектров проводили на автоматическом ИК-спектрофотометре UR-20. Содержание металлов и окиси кремния определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре «Перкин-Эльмер-503» в пламени. Зольность полученных препаратов рассчитывали на основании данных о содержании металлов и окиси кремния. Для образцов № 8 и 19 из-за их значительной летучести не смогли получить воспроизводимых результатов элементного анализа.

Выделенные фракции существенно различались как по выходу и содержанию золы, так и по элементному составу (табл. 1). Содержа-

Таблица 1

Элементный состав и степень окисленности фракций органического вещества чернозема типичного

Фракция	Растворитель, взятый для экстракции	Выход, мг на 100 г	Зольность, вес. %	С				Н/С	ω
				Н	N	О	ат. %		
				массовая доля, %				ат. %	
1	Гексан	223	—	73,6	10,2	—	16,2	1,66	-1,33
2	$CCl_4$	31	—	50,7	7,1	0,9	41,3	1,68	-0,46
3	Диэтиловый эфир	626	0,06	54,4	6,8	3,1	35,7	1,50	-0,51
4	Хлороформ	35	0,11	52,9	9,2	6,7	31,2	2,09	-1,21
5	Ацетон	35	8,80	32,0	7,1	8,6	52,3	2,66	-0,62
6	Этилацетат	19	Не определяли	49,1	6,5	—	44,4	1,59	-0,23
7	Ацетонитрил	52	9,00	24,2	7,6	12,8	55,4	3,04	+0,23
8	Пропанол-2	87	2,98	Не определяли					
9	Пропанол-1	84	Не определяли	30,6	6,9	4,2	58,3	2,71	+0,16
10	Этанол	40	9,40	32,0	5,3	3,2	59,5	2,00	+0,35
11	Уксусная кислота	64	0,21	34,6	4,7	1,2	59,5	1,63	+0,94
12	Вода	233	1,48	36,1	5,0	1,5	57,4	1,65	+0,64
13	Остаток	1054	3,50	45,4	3,5	2,0	49,1	0,92	+0,58
Исходная	Диметилформамид	2583	3,17	52,9	6,6	5,4	35,1	1,50	-0,51

ние углерода в исследуемых фракциях колебалось от 24,2 до 73,6 %. Наибольшим оно было в гексановой фракции, наименьшим — в ацетонитрильной. Водорода больше всего содержалось в гексановой фракции и меньше всего — во фракции, выделенной уксусной кислотой.

В гексановой и этилацетатной фракциях азот отсутствовал, а в остальных фракциях его содержание варьировало в довольно широких пределах (0,9—12,8 %) и наибольшим оказалось в ацетонитрильной фракции, наименьшим — во фракции, выделенной четыреххлористым углеродом. Содержание кислорода в исследуемых фракциях колебалось от 16,2 до 59,5 %. Максимум его отмечен в этанольной фракции и фракции, выделенной уксусной кислотой, минимум — в гексановой фракции.

По значению атомного отношения Н/С можно приблизительно судить о степени ароматичности исследуемых соединений [8]. Чем меньше это отношение, тем больше степень ароматичности. В остатке после фракционирования отношение Н/С минимальное — 0,92. У остальных фракций оно заметно выше, а у ацетонитрильной фракции максимальное — 3,04.

У 6 фракций степень окисленности меньше нуля, следовательно, в их составе имеются восстановленные соединения. Наиболее восстановленной является гексановая фракция. У остальных фракций, начиная с ацетонитрильной, степень окисленности больше нуля. Наибольшей окисленностью характеризуется фракция, выделенная уксусной кислотой.

В гексановой и четыреххлористуюглеродной фракциях зольные компоненты отсутствуют. Содержание золы в остальных фракциях колеблется в довольно широких пределах — от 0,06 (эфирная фракция) до 10,4 % (этанольная фракция).

Известно, что в органическом веществе почвы содержится довольно много микроэлементов [10]. Поскольку ряд микроэлементов образует хелатные соединения, которые могут играть важную роль в молекулярной и надмолекулярной структуре органического вещества почвы, нами было определено содержание этих микроэлементов в полученных фракциях (табл. 2).

В зольной части фракций органического вещества содержание микроэлементов весьма различно. Зольная часть хлороформной фракции более чем на половину представлена микроэлементами, тогда как в зольной части эфирной фракции они составляют всего 1,2 %. Их содержание довольно высокое в зольных частях ацетоновой, ацетонитрильной и уксуснокислотной фракций — соответственно 25,5; 41,7 и

Таблица 2

Содержание микроэлементов во фракциях органического вещества  
(% к сумме макро- и микроэлементов)

Фракция	Микроэлементы—Si, Fe, Al, Ca, Mg	Zn	Co	Ni	Cu	Mn	Cr
3	98,9	0,6	—	—	—	—	0,5
4	48,4	4,5	18,1	18,1	9,1	—	1,8
5	74,5	1,1	0,7	—	3,4	22,3	—
7	58,3	1,9	0,8	0,1	2,5	36,3	—
8	90,2	0,3	0,5	0,8	0,2	7,9	0,1
10	96,0	0,5	0,2	0,2	0,4	2,6	0,1
11	81,7	1,2	4,3	8,6	2,9	1,3	—
12	96,2	0,2	1,3	1,0	0,6	0,7	—
13	95,0	0,3	1,0	1,7	1,2	0,6	0,2
Исходная	91,6	0,7	1,3	1,9	0,9	3,0	0,6

18,3%. В остальных фракциях на микроэлементы приходится менее 10% зольной части. В эфирной фракции присутствуют только два микроэлемента — цинк и хром, в остальных фракциях — от 4 до 6 микроэлементов. В хлороформной и уксуснокислотной фракциях микроэлементы представлены в основном кобальтом, никелем и медью, во фракциях, выделенных пропанолом-2, этанолом, ацетоном и ацетонитрилом, — марганцем, причем в двух последних его содержание превышает 20% зольной части.

Таким образом, в полученных фракциях органического вещества содержатся значительные количества микроэлементов. Какие же возможные формы связи могут быть между органическим веществом почвы и микроэлементами? По мнению ряда авторов [1], комплексные соединения с органическим веществом почв подобно железу и алюминию могут образовывать и другие металлы, в том числе медь и цинк (повидимому, и марганец). Катионы металла вытесняют водород части функциональных групп гумусовых кислот, образуют комплексогетерополярные соли, в которых металл входит в состав анионной части [1]. Комплексные соединения такого типа возникают за счет координационной (донорно-акцепторной) связи. Типичными представителями комплексов, образующихся подобным образом, являются хелаты. Следует отметить, что все микроэлементы, за исключением цинка, представляют собой переходные металлы, которые способны образовывать с органическими соединениями комплексные соединения различного типа, в том числе и хелаты. Три фракции — хлороформная, ацетонитрильная и ацетоновая, которые характеризуются высоким содержанием микроэлементов, отличаются также повышенным содержанием азота. Значительная доля этого азота, что подтверждается ИК-спектрами, представлена аминогруппами в солевой форме. Аминокислоты и пептиды могут образовывать с микроэлементами комплексные соединения различного типа [6]. Следовательно, можно допустить, что основная форма соединений микроэлементов с органическим веществом полученных фракций — комплексно-гетерополярные соли и хелаты.

Для интерпретации ИК-спектров использовали монографии [2, 5] и таблицу характеристических частот собственно гумусовых веществ, составленную по обобщенным литературным данным [8].

Среди ИК-спектров выделяется спектр гексановой фракции, который имеет наиболее четко выраженные полосы поглощения с определенными максимумами. Полосы поглощения при 1585, 1610  $\text{см}^{-1}$  и 3080  $\text{см}^{-1}$  обусловлены присутствием ароматических соединений. В спектрах других фракций этих полос нет. Узкая и интенсивная полоса поглощения с максимумом при 1735  $\text{см}^{-1}$  обусловлена колебаниями карбонильной группы в сложных эфирах, а интенсивные полосы поглощения с максимумами при 1130 и 1290  $\text{см}^{-1}$  — колебаниями связи С—О в сложных эфирах карбоновых кислот. Полосы поглощения с максимумами при 2880, 2950 и 2970  $\text{см}^{-1}$  определены симметричными колебаниями групп  $\text{CH}_2$  и  $\text{CH}_3$ , входящих в состав насыщенных и ненасыщенных углеводородных цепочек. Эти полосы поглощения наиболее выражены в спектре гексановой фракции, которая отличается высоким содержанием углерода. В спектрах других фракций они выражены гораздо слабее или отсутствуют. Кроме того, в спектре имеется полоса поглощения средней интенсивности с максимумом при 720  $\text{см}^{-1}$ , которая соответствует колебаниям групп  $(\text{CH}_2)_n$  при  $n \geq 4$ . Широкая полоса поглощения в области 3200—3400  $\text{см}^{-1}$  обусловлена колебаниями ОН-группы. Судя по ИК-спектру гексановой фракции, она в основном представлена сложными эфирами алифатических и ароматических карбоновых кислот.

ИК-спектры остальных фракций не так однозначны, как спектр гексановой фракции. Если в спектре последней присутствует лишь одна

полоса поглощения при  $1735\text{ см}^{-1}$ , обусловленная колебаниями карбонильной группы, то в спектрах остальных фракций появляется еще одна полоса поглощения в области  $1650\text{—}1680\text{ см}^{-1}$ , частично связанная с колебаниями карбонильной группы в карбоксильных группировках. Доказательством этого служат уменьшение интенсивности данной полосы и появление полосы поглощения при  $1610\text{ см}^{-1}$ , обусловленной колебаниями карбоксильных групп в солевой форме, в спектрах образцов фракций, предварительно выдержанных в парах аммиака. Поглощение в области  $1650\text{—}1680\text{ см}^{-1}$  может быть связано также с карбонильными группировками хинонов, поглощающими обычно в области  $1635\text{—}1690\text{ см}^{-1}$ , карбонильными группировками кетонов с водородной связью, а также карбонильными группировками в соединениях с пептидной связью (полоса «Амид-1»). Соотношение интенсивностей полос поглощения в областях  $1720\text{—}1745\text{ см}^{-1}$  и  $1650\text{—}1680\text{ см}^{-1}$  меняется в сторону увеличения интенсивности последней от фракции, выделенной четыреххлористым углеродом, к водной. Исключение представляет этилацетатная фракция, в спектре которой более интенсивна полоса поглощения в области  $1720\text{—}1745\text{ см}^{-1}$ .

В спектрах фракций, начиная с хлороформенной и кончая этанольной, присутствуют полосы поглощения в областях  $2400\text{—}2490$  и  $2790\text{—}2800\text{ см}^{-1}$ , обусловленные колебаниями аминогрупп  $\text{NH}_2^+$  и  $\text{NH}^+$  в солевой форме. Интенсивность этих полос наибольшая в спектре ацетонитрильной фракции, содержащей максимум азота. Кроме того, в спектре ацетонитрильной фракции имеется полоса поглощения с максимумом при  $2520\text{ см}^{-1}$ , которая также лежит в области колебаний аминогрупп в солевой форме.

## Заключение

Методом последовательной экстракции рядом органических растворителей и водой получено 14 фракций органического вещества чернозема типичного, различающихся по элементному составу, содержанию микроэлементов и ИК-спектрам. Гексановая фракция состоит в основном из сложных эфиров алифатических и ароматических карбоновых кислот. Анализ микроэлементного состава в образцах, содержащих небольшое количество зольных элементов, позволяет сделать вывод о наличии хелатных соединений, входящих в состав органического вещества. Сопоставляя результаты ИК-спектроскопии и анализа элементного состава, можно заключить, что во фракциях с повышенным содержанием азота значительная доля его представлена аминной формой.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова Л. Н., Дорфман Э. М., Юрлова О. В. Органо-минеральные производные гумусовых веществ в почве. — Зап. Ленингр. с.-х. ин-та, 1970, т. 142, с. 157—198. — 2. Беллами А. Инфракрасные спектры сложных молекул. М.: Мир, 1963. — 3. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. М.: Мир, 1976. — 4. Гутиев Г. Г. Выделение фракций органического вещества почв различными растворителями. — Докл. ТСХА, 1979, вып. 253, с. 139—142. — 5. Казицына Л. А., Куллетская Н. Б. Применение УФ, ИК, ЯМР и масс-спектроскопии в органической химии. М.: Изд-во МГУ, 1979. — 6. Неорганическая биохимия. (Под ред. Г. Эйхгорн.) Т. 1. М.: Мир, 1978. — 7. Органикум. Практикум по органической химии. Т. 2. М.: Мир, 1979. — 8. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв. М.: Изд-во МГУ, 1974. — 9. Симаков В. Н., Шурухина С. И. Экстракция органических веществ чернозема диметилформамидом. — Вестник ЛГУ, 1972, № 3, с. 128—134. — 10. Степанова М. Д. Микроэлементы в органическом веществе почв. Новосибирск: Наука, Сибирск. отд., 1976. — 11. Whitehead R. S., Tinsley B. — Soil Sci., 1964, vol. 97, N 1, p. 34—38.

*Статья поступила 27 октября 1981 г.*

## SUMMARY

14 fractions of organic matter of typical chernozem differing in element composition, microelement content and IR-spectrum were received by the method of extraction with organic solvents and water. Hexan fraction consists mainly of complex ethers of aliphatic and aromatic carboxylic acids. The analysis of microelement composition of samples containing small quantities of ash elements allowed to conclude that there were chelating compounds in the composition of organic matter. Comparing the results of IR spectroscopy and the analysis of element composition one may conclude that the main proportion of nitrogen was in amino forms in the fractions with increased nitrogen content.