

УДК 631.417.2:543.42

ЭЛЕКТРОННЫЕ И КОЛЕБАТЕЛЬНЫЕ СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ ФРАКЦИЙ ФУЛЬВОКИСЛОТ

Э. М. КУЛЧАЕВ

(Кафедра почвоведения)

При исследовании природы гумусовых веществ широко применяется оптическая спектроскопия, позволяющая определять их структурные особенности. В результате использования оптических методов при исследовании гумусовых кислот, в частности фульвокислот, установлены экспоненциальный характер поглощения света в видимой области спектра, более высокая оптическая плотность в ультрафиолетовой области, чем в видимой, более низкая оптическая плотность и большее значение E_{465}/E_{650} у фульвокислот, чем у гуминовых кислот. Как у гуминовых, так и у фульвокислот в инфракрасных спектрах обнаружены нечеткие полосы поглощения, обусловленные колебаниями различных связей в функциональных группах, ароматических и алифатических группировках. Однако до сих пор не выяснено, в какой мере различаются отдельные фракции фульвокислот между собой и как отражаются на оптических характеристиках возможные изменения в их химической природе, возникающие под влиянием природных факторов почвообразования и деятельности человека. Проведившиеся ранее исследования не могли дать определенного ответа на этот вопрос, поскольку в абсолютном большинстве случаев оптические методы применялись для определения характеристик всей смеси веществ, остающейся в надосадочной жидкости после отделения гуминовых кислот их осаждением и сорбирующейся на активированном угле из кислой водной среды ($pH \sim 1$).

Чтобы ответить на этот вопрос, нами изучались оптические свойства фракций фульвокислот, полученных по методу В. В. Вильямса из целлюлозного и окультуренного вариантов чернозема и дерново-подзолистой почвы.

Объекты и методика исследований

Характеристика почв, из которых были получены исследуемые препараты, приведена в предыдущей работе [8]. Гумус из навесок почв извлекали по методу И. В. Тюрина [13] после их декальцирования. Фракционирование вещества в этих вытяжках проводили по методу В. В. Вильямса [5]. В настоящем сообщении рассматриваются результаты исследований фракций фульвеновой, фульвиновой и лигнофульвоновой кислот, полученных из 0,1 н. NaOH вытяжки, извлеченной из почвы после ее декальцирования. Препараты очищали в ходе фракционирования согласно В. В. Вильямсу и далее на карбоксиметил-целлюлозе, сшитой в

Н-форме. Зольность препаратов была < 3 %. Спектры поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях записаны на спектрофотометре фирмы Hitachi (Япония), а спектры светопропускания в инфракрасной области — на спектрометре UR-20 (ГДР) в таблетках КВг. На 1 мг исследуемого вещества было взято 300 мг КВг. Интерпретация спектров проведена согласно данным ряда авторов [2—4, 7, 9, 12, 14] ¹.

¹ Спектры поглощения света записаны в сервисной лаборатории кафедры органической химии Тимирязевской академии.

Обсуждение результатов

Спектры поглощения фракций фульвокислот в УФ-области в первом приближении могут быть рассмотрены как экспоненты (рис. 1). Имея эту общую черту, они тем не менее значительно различаются по крутизне падения. Фракции лигнофульвоновой кислоты характеризуются более пологими кривыми, чем фульвеновой и фульвиновой. Последние мало различаются между собой по форме и положению кривых в координатах $D-\lambda$. На всех кривых оптической плотности при 279—282 нм наблюдается заметный уступ, который, по-видимому, принадлежит хинонам кумаринового типа [4] с максимумом поглощения при 282 нм. Этот

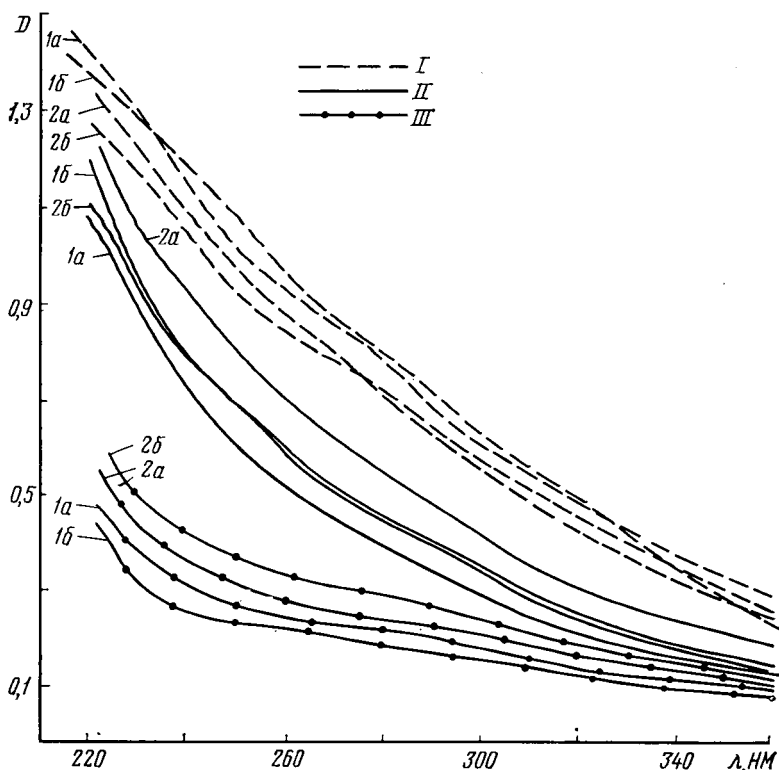


Рис. 1. Спектры поглощения фракций фульвиновой (I), фульвеновой (II) и лигнофульвоновой (III) кислот в УФ-области.

1 — дерново-подзолистая почва; 2 — чернозем; а — пашня; б — целина.

Характеристика фракций фульвокислот в УФ-области спектра

Фракция*	Брутто-формула	$E_{281}^{1\% \text{ ФК}}$	$E_{281}^{1\% \text{ С}}$	$E_{281}^{1\% \text{ ФК}} : E_{465}^{1\% \text{ ФК}}$	Экстинкция $E_{281}^{\text{ФК}}$
Чернозем, целина					
ФЕК	$C_{12}H_{16}O_{12}N$	141	350	25,00	5160
ФИК	$C_{14}H_{31}O_{14}N$	215	561	10,24	9395
ЛФК	$C_{11}H_{17}O_8N$	86	182	12,91	2 502
Чернозем, пашня					
ФЕК	$C_{12}H_{15}O_{12}N$	163	410	24,40	5 949
ФИК	$C_{17}H_{36}O_{15}N$	240	577	10,56	11 856
ЛФК	$C_{11}H_{16}O_8N$	74	169	14,15	2 146
Дерново-подзолистая почва, целина					
ФЕК	$C_{11}H_{16}O_{10}N$	145	356	28,10	4 701
ФИК	$C_{12}H_{17}O_{12}N$	235	597	10,38	8 625
ЛФК	$C_{10}H_{16}O_8N$	56	133	15,30	1 557
Дерново-подзолистая почва, пашня					
ФЕК	$C_{12}H_{16}O_{11}N$	121	290	29,02	4 235
ФИК	$C_{14}H_{16}O_{13}N$	228	553	11,03	9 257
ЛФК	$C_{11}H_{16}O_8N$	68	152	14,56	1 972

* Здесь и во всех таблицах: ФЕК — фракции фульвеновой кислоты; ФИК — фульвиновой; ЛФК — лигнофульвоновой кислоты.

максимум среди других обнаружен О. А. Найденовой, изучавшей фракции фульвокислот, полученных методом гельхроматографии [11]. По ее мнению, отсутствие данного и ряда других максимумов в спектрах нефракционированной смеси фульвокислот и появление их на спектрах отдельных фракций объясняются высвобождением в них заблокированных фенолгидроксильных групп при перераспределении их по фракциям вследствие разрыва внутримолекулярных водородных связей. На наш взгляд, эти фенолгидроксильные группы благодаря таутомерным превращениям могут перейти в хинонные и дать соответствующую полосу поглощения при 281 нм.

Более детальные различия между фракциями можно установить при рассмотрении количественных оптических характеристик (табл. 1). Значение удельного поглощения, вычисленное для раствора, содержащего 1 % беззольного вещества при длине волны 281 нм ($E_{281}^{1\% \text{ ФК}}$), возрастает от фульвеновой к фульвиновой кислоте и резко снижается у лигнофульвоновой кислоты. При сравнении между собой одноименных фракций из обоих типов почв трудно выявить влияние типа почвы и характера земледельческого использования на рассматриваемый показатель. Имеющиеся различия между одноименными фракциями различного происхождения, по-видимому, не выходят за рамки возможного пространственного варьирования удельного поглощения, а также возможных изменений в ходе извлечения, фракционирования, очистки и приготовления растворов для съемки оптических спектров.

Удельное поглощение, вычисленное для 1 %-ного раствора углерода ($E_{281}^{1\% \text{ С}}$), изменяется в ряду фракций аналогично таковому для 1 %-ного раствора вещества.

Для установления крутизны кривых оптической плотности фракций фульвокислот при переходе от характерного уступа в УФ-области (282 нм) к характерной точке в видимой области спектра при 465 нм бы-

ло рассчитано соотношение удельного поглощения при указанных длинах волн ($E_{281}^{1\% \text{ ФК}}/E_{465}^{1\% \text{ ФК}}$). Этот показатель у фракции фульвеновой кислоты независимо от происхождения в 2 раза выше, чем у фульвиновой и лигнофульвоновой кислот, у фракции лигнофульвоновой кислоты он несколько выше, чем у фульвиновой.

Экстинкция, вычисленная на одну элементарную ячейку [12] при длине волны 281 нм, имеет свои наивысшие значения для препаратов фракции фульвиновой кислоты, причем эти значения у одноименных фракций близки и, по-видимому, мало зависят от типа и земледельческого использования почв. Наблюдаемое уменьшение значений экстинкции для препаратов, полученных из дерново-подзолистой почвы, не может быть доказано из-за ограниченности числа определений, а также возможных методических погрешностей. Значение экстинкции фульвеновой кислоты почти в 2 раза выше, чем лигнофульвоновой, и в 2 раза ниже, чем фульвиновой.

В видимой области (от 400 до 700 нм) спектры поглощения фракций фульвокислот, как и фракций гуминовых кислот [8], имеют форму экспоненты, однако у первых оптическая плотность снижается более значительно, чем у собственно гуминовых и даже ульминовой кислот (рис. 2). Определенной закономерности в изменении соотношения значений удельного поглощения (табл. 2), а также коэффициента С. Н. Алешина (А) [1, 15] в ряду фракций или почв установить не удалось. Фракции, полученные из пахотной дерново-подзолистой почвы, имели более

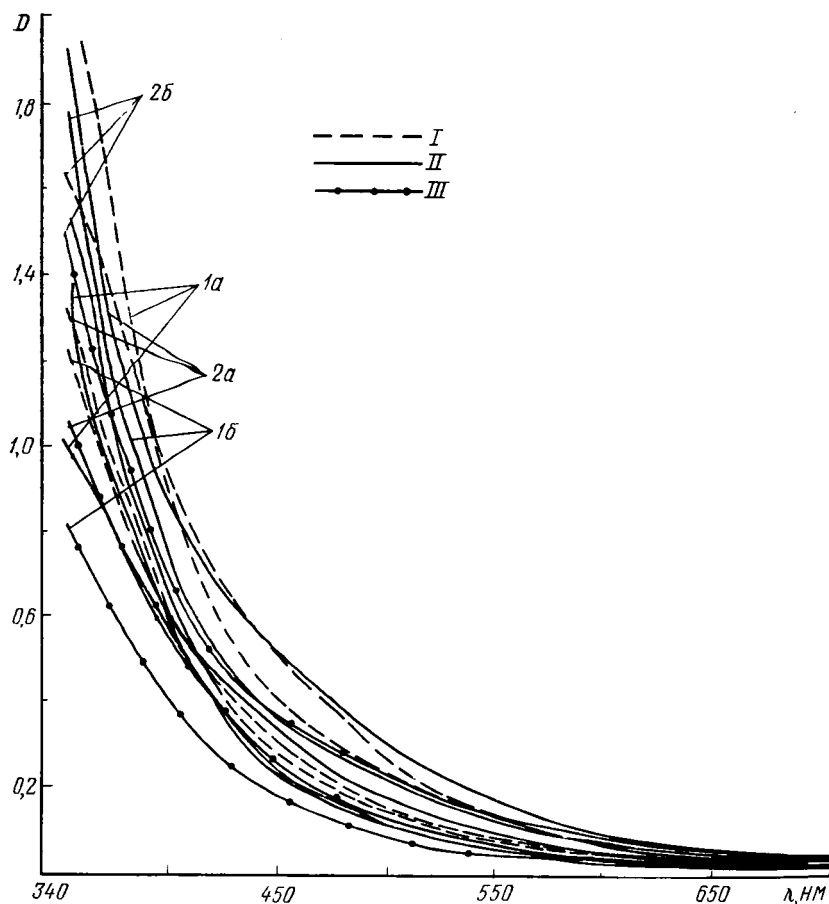


Рис. 2. Спектры поглощения фракций фульвокислот в видимой области. Обозначения те же, что на рис. 1.

Т а б л и ц а 2

Характеристика фракций фульвокислот в видимой области спектра

Фракция	$E_{465}^{1\% \text{ ФК}}$	$E_{465}^{1\% \text{ С}}$	$E_{465}^{1\% \text{ ФК}} : E_{650}^{1\% \text{ ФК}}$	$\epsilon_{465}^{\text{ФК}}$	Кoeffициент А	Угол наклона, соответствующий коэффициенту А
Чернозем, целина						
ФЕК	5,64	14,00	7,66	206	4,79	78°13
ФИК	21,00	54,83	7,33	918	4,65	77°52
ЛФК	6,66	14,12	5,60	194	4,01	75°59
Чернозем, пашня						
ФЕК	6,68	16,81	6,75	244	4,42	77°15
ФИК	22,72	54,58	6,20	1122	4,25	76°45
ЛФК	5,23	11,93	7,33	152	4,20	76°36
Дерново-подзолистая почва, целина						
ФЕК	5,20	12,69	7,00	167	4,60	77°46
ФИК	22,71	57,66	7,50	833	4,82	78°17
ЛФК	3,66	8,70	5,00	102	3,80	75°14
Дерново-подзолистая почва, пашня						
ФЕК	4,17	10,00	8,5	146	5,00	78°41
ФИК	20,66	50,11	10,75	839	5,61	79°52
ЛФК	4,67	11,44	6,33	139	4,39	77°10

высокое значение последнего показателя, чем аналогичные им фракции из целинного варианта, для чернозема характерна обратная картина.

Различные фракции с одинаковой формой спектров поглощения резко различаются между собой по другим оптическим характеристикам в этой же области спектра. Так, у фракции фульвиновой кислоты значение удельного поглощения, вычисленного на 1 %-ный раствор исследуемого

Т а б л и ц а 3

Характеристические частоты максимумов полос поглощения фракций фульвокислот в ИК-области

Фракция	Условный порядковый номер					
	I	II	III	IV	V	VI
Чернозем, целина						
ФЕК	1740	1600	1450	1250	1050	790
ФИК	1730	1600	1415	1250	1050	890
ЛФК	1675	1560	1430	1250	1050	790
Чернозем, пашня						
ФЕК	1740	1600	1415	1250	1090	790
ФИК	1735	1640	1415	1250	1050	790
ЛФК	1680	1560	1410	1250	1050	790
Дерново-подзолистая почва, целина						
ФЕК	1730	1600	1415	1250	1120	785
ФИК	1730	1620	1415	1250	1130	785
ЛФК	1685	1560	1400	1250	1050	785
Дерново-подзолистая почва, пашня						
ФЕК	1730	1600	1410	1250	1050	785
ФИК	1730	1610	1410	1250	1050	785
ЛФК	1660	1560	1410	1250	1050	785

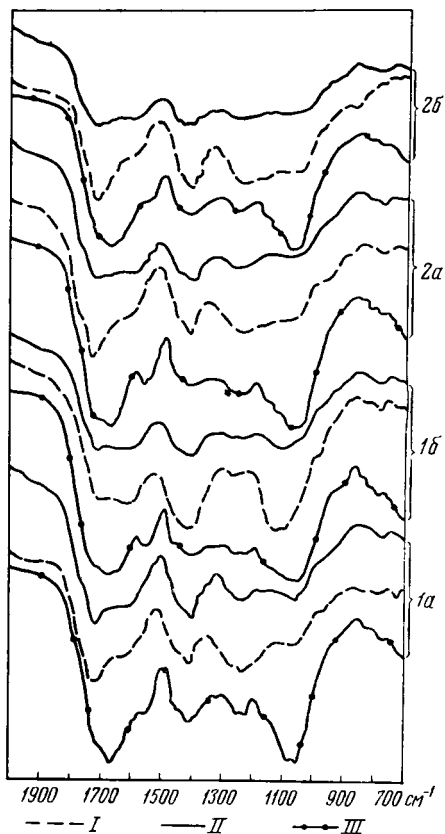


Рис. 3. ИК-спектры светопропускания фракций фульвокислот в области от 1740 до 700 см^{-1} .

Обозначения те же, что на рис. 1.

Характеристическая частота карбонильной группы при 1740—1730 см^{-1} проявляется в спектрах поглощения различных фракций в виде полосы различной интенсивности. Наиболее интенсивная полоса здесь у фракции лигнофульвоновой кислоты, что, возможно, обусловлено большим содержанием карбонильных групп в ее препаратах. По данным Б. Г. Мурзакова [10], водо-ацетоновые фракции фульвокислот из разных почв содержат значительно больше карбоксильных групп, чем фракции фульвиновой и фульвиновой кислот. Возможно, поэтому полоса поглощения у фракций фульвиновой кислоты здесь менее интенсивная. Такое предположение в определенной степени подтверждается сорбционными свойствами данной фракции: она сорбируется на активированном угле, окиси алюминия и на некоторых других сорбентах в несколько раз слабее, чем остальные две фракции фульвокислот. Кроме того, малая интенсивность полосы при 1740—1750 см^{-1} не может быть вызвана ионизацией карбоксильных групп, так как полоса ее карбоксилат-иона менее интенсивна, чем аналогичных полос других фракций. Рассмотренная выше полоса всеми исследователями относится за счет карбонила, однако нет однозначного мнения насчет того, какой именно функциональной группе он принадлежит — или карбоксильным, или сложнэфирным и амидным группам [12, 14]. Максимум полосы поглощения в этой области у всех препаратов фракции лигнофульвоновой кислоты смещен до 1685—1660 см^{-1} . Как отмечается в литературе [9], данная полоса отражает валентные колебания карбонила ароматических, а полоса 1720—1700 см^{-1} — карбонила насыщенных алифатических кислот. Поэтому

вещества при длине волны 465 нм, в 3—6 раз выше, чем у фракций фульвиновой и лигнофульвоновой кислот. Примерно такое же отличие данной фракции от двух остальных может быть отмечено и при вычислении значения удельного поглощения на 1 %-ный раствор по углероду ($E_{465}^{1\% \text{C}}$). По удельному поглощению существенно различаются фракции фульвиновой и лигнофульвоновой кислот всех почв, кроме целинного чернозема.

Спектры светопропускания фракций фульвокислот в ИК-области (рис. 3) в самых общих чертах напоминают спектры гуминовых кислот, у них характерные, свойственные всем гумусовым веществам нечеткие максимумы поглощения. Так как большая часть каждого из полученных нами спектров была нечеткой, что затрудняло возможность их интерпретации, мы рассматриваем только область спектра от 700 до 1740 см^{-1} .

Спектры одноименных фракций имеют много общего независимо от происхождения последних: лигнофульвоновая кислота характеризуется довольно острыми пиками, фульвиновая — менее четкими.

сдвиг максимума полосы поглощения у препаратов лигнофульвоновой кислоты, на наш взгляд, может быть вызван большим содержанием в них карбоксильных групп, связанных с ароматическим ядром, чем в других фракциях. Указывается также [12], что полоса поглощения в пределах $1690\text{--}1630\text{ см}^{-1}$ отражает колебания карбониллов амидных групп. Этот сдвиг может быть вызван многими заместителями [7]. Сложность данной полосы поглощения, по-видимому, доказывается наличием хорошо заметных максимумов при 1560 см^{-1} , свидетельствующих о колебаниях как $\text{O}=\text{C}-\text{N}-$, так и NH -групп, которые, по данным Д. С. Орлова и соавт. [14], принадлежат полипептидам.

Полоса поглощения при $1620\text{--}1600\text{ см}^{-1}$, указывающая на колебания $\text{C}=\text{C}$ -связи в ароматических циклах, четко проявляется в спектрах всех фракций.

У всех препаратов при $1450\text{--}1415\text{ см}^{-1}$ наблюдается весьма значительный максимум поглощения, вызванный ножничными колебаниями углеродводородной связи в метиленовых группировках. Интенсивность данной полосы прямо пропорциональна их числу в алифатической цепи [6]. Однако длина цепей, вероятно, незначительна, так как маятниковые колебания этих же групп в спектрах изученных препаратов проявляются в виде полосы поглощения в пределах $790\text{--}785\text{ см}^{-1}$, которая соответствует этильной группе CH_3-CH_2- , имеющей полосу поглощения при $790\text{--}780\text{ см}^{-1}$. Характеристические частоты более длинных цепей смещаются в сторону более низких значений; например, группа $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ имеет полосу поглощения при $743\text{--}734\text{ см}^{-1}$, а $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ — уже при $725\text{--}720\text{ см}^{-1}$ [6]. Поэтому повышенная интенсивность полосы при $790\text{--}785\text{ см}^{-1}$ у препаратов фульвиновой кислоты, по-видимому, обусловлена более высоким содержанием в них алкильных групп, что в определенной мере подтверждается также высоким содержанием водорода в их брутто-формулах (табл. 1). Однако высокое содержание водорода может не обязательно коррелировать с числом этих групп в молекуле.

После максимума при 1250 см^{-1} (карбонильные группы карбоксиллов), местоположение которого у всех препаратов строго одинаковое, идет интенсивная полоса поглощения с максимумом при $1090\text{--}1050\text{ см}^{-1}$. Как видно из рис. 3, фракция лигнофульвоновой кислоты независимо от своего происхождения имеет наиболее интенсивную полосу поглощения. Однако отнести ее целиком за счет колебаний $\text{Si}-\text{O}$ -связи нельзя, так как зольность у препаратов была невысокой ($<3\%$) и к тому же препараты фракции лигнофульвоновой кислоты в этом отношении ничем не выделяются среди препаратов остальных фракций. Д. С. Орлов [12] ориентировочно относит данную полосу за счет гидроксильных групп первичных спиртов. По-видимому, фракция лигнофульвоновой кислоты содержит больше таких групп. Это предположение в определенной мере подтверждается данными Б. Г. Мурзакова [10], который установил более высокое содержание OH -групп в препаратах водо-ацетоновых фракций, соответствующих лигнофульвоновой кислоте В. В. Вильямса.

Чем объяснить близость одноименных фракций фульвокислот из столь различающихся по генезису и сельскохозяйственному использованию почв по оптическим свойствам в УФ-, видимой и ИК-областях спектра?

Согласно общей теории почвообразования каждый тип почв характеризуется определенными значениями интенсивности и направлением факторов почвообразования, благодаря которым создается большое разнообразие условий гумусообразования. Очевидно, при изменении интенсивности факторов почвообразования должно в той или иной степени сместиться направление почвообразовательного процесса и органически связанного с ним процесса гумусообразования. Однако данные смещения, по всей вероятности, не могут вызвать ощутимых изменений опти-

ческой природы фульвокислот, по крайней мере в такой степени, в которой их можно было бы надежно зафиксировать.

По этой причине при сравнительном изучении одноименных фракций фульвокислот из разных типов почв, даже столь разных, как типичный чернозем и дерново-подзолистая почва, установить существенных различий между ними не удается. Очевидно, требуется применение более совершенных методов записи оптических спектров и других более тонких методов физико-химического анализа.

Выводы

1. Одноименные фракции фульвокислот из типичного чернозема и дерново-подзолистой почвы, полученные фракционированием по методу В. В. Вильямса, существенно не различаются по оптическим характеристикам во всех трех областях спектра; во-видимому, в разных по генезису почвах образуется набор из одних и тех же фракций. В то же время разноименные фракции, полученные даже из одной и той же почвы, различаются весьма значительно. Наибольшие различия характерны для фракции фульвиновой кислоты, которая по удельному поглощению превосходит остальные две изученные фракции в несколько раз.

2. Фракции фульвокислот, извлеченных из одной и той же почвы, не различаются по соотношению $E_{465}^{1\% \text{ ФК}}/E_{650}^{1\% \text{ ФК}}$ но по соотношению $E_{281}^{1\% \text{ ФК}}/E_{465}^{1\% \text{ ФК}}$ различия между ними существенные: наибольшее соотношение характерно для фракции фульвеновой кислоты, наименьшее — для фульвиновой. Это указывает на то, что соотношение хромофоров, поглощающих в УФ- и видимой областях, в разных фракциях не одинаковое.

3. Не обнаружено значительных различий по рассмотренным характеристикам во всех трех областях оптического спектра между одноименными фракциями фульвокислот, извлеченных из одинаковых по генезису целинных и пахотных почв с применением традиционных методов записи спектров поглощения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алешин С. Н., Болдырев А. И. Гуминовые соединения почвы и их определение. — Изв. ТСХА, 1964, вып. 2, с. 224—236. — 2. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. М.: ИЛ, 1963. — 3. Бельчикова Н. П., Кононова М. М. Электронные спектры поглощения гумусовых веществ почвы. — В кн.: Органич. вещ-во целин. и освоен. почв. М.: Наука, 1972, с. 243—245. — 4. Бренд Дж. К. Д., Скотт А. И. Применение ультрафиолетовой спектроскопии. — В кн.: Установление структуры органич. соед. физич. и химич. методами. Кн. 1. М.: Химия, 1967, с. 81—157. — 5. Вильямс В. В. Разделение и количественное определение перегнойных кислот почвы. — Изв. ТСХА, 1965, вып. 2, с. 126—141. — 6. Казицына Л. А., Куплетская Н. Б. Применение УФ, ИК и ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: Высшая школа, 1971. — 7. Коул А. Р. Г. Применение инфракрасной спектроскопии. — В кн.: Установление структуры органич. соед. физич. и химич. методами. Кн. 1. М.: Химия, 1967, с. 158—203. — 8. Кулчаев Э. М. Электронные и колебательные спектры поглощения фракций гуминовых кислот. — Изв. ТСХА, 1978, вып. 2, с. 115—123. — 9. Ларина Н. К., Касаточкин В. И. Спектральные методы исследования гумусовых веществ. — В кн.: Органич. вещ-во целинных и освоенных почв. М.: Наука, 1972, с. 243—245. — 10. Мурзаков Б. Г. Химическое исследование растворимых в воде органических веществ почв и торфа. — Автореф. канд. дис. М., 1970. — 11. Найденова О. А. О путях использования УФ-спектроскопии для определения природы фенол-гидроксильных групп в фульвокислотах. — Зап. Лен. с.-х. ин-та, 1974, т. 23, с. 51—54. — 12. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв. МГУ, 1974. — 13. Орлов Д. С., Гришина Л. А., Ерошичева Н. Л. Практикум по биохимии гумуса. МГУ, 1969. — 14. Орлов Д. С., Шульман Ю. А., Юхнин А. А. Инфракрасные спектры гумусовых кислот почв и таблица волновых чисел. — В кн.: Органич. вещ-во целин. и освоен. почв. М.: Наука, 1972, с. 245—259. — 15. Черников В. А., Конциц В. А. Сравнение показателей цветности ($Q_{4/6}$ и A) растворов гумусовых веществ дерново-подзолистых почв и краснозема. — Докл. ТСХА, 1972, вып. 176, с. 45—49.

Статья поступила 29 сентября 1979 г.

SUMMARY

Optic properties of fractions of fulvic acids obtained by Williams's method from virgin and cultivated versions of common chernozem and soddy-podzolic soil were studied. Irrespective of their origin, fractions of the same name did not differ greatly in optic properties in all the three ranges of the spectrum (UV, visible, and IR). Fractions of different name obtained from the same soil differed greatly. In the fraction of fulvic acid specific absorption at 281 and 465 nm was several times higher than in the other fractions. Probably, a definite set of fulvic acids consisting of the same fractions is typical for soils differing in their genesis and economic use. Agricultural employment of soils on a common scale does not significantly affect the optic properties of fulvic acid fractions.