

УДК 631.417:621.384.8

ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКОЛОВЫХ КИСЛОТ В ПОЧВЕННЫХ ЭКСТРАКТАХ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕРИИ

И. М. ЛУКАШЕНКО, Г. Г. ГУТИЕВ, Е. С. БРОДСКИЙ, Р. А. ХМЕЛЬНИЦКИЙ

(Кафедра физической и коллоидной химии)

Органическое вещество почвы наряду со специфическими гумусовыми соединениями содержит неспецифические компоненты, представленные липидами, свободными аминокислотами, углеводородами, фенолами и др. [1, 9]. Неспецифические компоненты могут быть как материалом для образования гумусовых кислот, так и продуктом их распада [3]. Особый интерес представляет связь этих соединений с деятельностью почвенных микроорганизмов [4].

Целью настоящей работы было изучение неспецифических компонентов органического вещества различных типов почв, экстрагируемых органическими растворителями. Исследовались образцы четырех типов почв из разных почвенно-климатических зон: чернозема типичного из Курского черноземного заповедника, темно-каштановой из заповедника Аскания-Нова, дерново-подзолистой глеевой и перегнойной грунтово-глеевой из стационара кафедры почвоведения Белый Раств Московской области. Характеристика образцов представлена в табл. 1. Образцы отобраны в августе 1977 г.

Образцы почв экстрагировали гексаном в аппарате Сокслета в течение 24 ч, растворитель отгоняли в вакууме на роторном испарителе. Экстрагированные из почв продукты после упаривания представляли собой светло-желтые аморфные вещества с резким специфическим запахом. Выход и характеристики полученных экстрактов приведены в табл. 2. Элементный состав экстрактов определяли на CHN-анализаторе «Хьюлетт-Паккард». Наибольшим был выход экстрактов из дерново-подзолистой глеевой и перегнойной грунтово-глеевой почв. В таких почвах, как отмечается в литературе [7], относительное содержание липидов более высокое благодаря пониженной активности микроорганизмов при кислой реакции среды. Дерново-подзолистая глеевая и перегнойная грунтово-глеевые почвы характеризуются сравнительно большим относительным содержанием углерода в экстрагируемой части. Экстракты из перегнойной грунтово-глеевой почвы содержат наибольшее количество кислорода.

Масс-спектры получали на масс-спектрометре MX 1309 при прямом вводе пробы в ионный источник при энергии ионизирующих электронов 70 эВ, температуре источника ионов 200° и испарения образца 200°. На рис. 1 в качестве примера приведен масс-спектр экстракта из темно-каштановой почвы. Масс-спектры экстрактов остальных почв аналогичны. В масс-спектре (рис. 1) выделяются три характерные группы пиков в области высоких (620—900), средних (200—550) и низких (до 150) масс ионов. Наличие четко выделенных групп ионов с сильно различающимися массами свидетельствует о присутствии в молекулах длинных радикалов, отщепляющихся при фрагментации. Наиболее интенсивные пики соответствуют кислородсодержащим ионам с одним, двумя и тремя атомами кислорода. Ионы в области низких масс характерны для алифатических сложных эфиров (m/e 74, 88 и т. д., 73, 87, 60, 61 и др.). Интенсивность пиков ионов в области высоких массовых чисел значительно больше, чем молекулярных ионов подобных сложных эфиров [5].

Исследуемые масс-спектры наиболее близки масс-спектрам эфиров так называемых миколовых кислот [8].

Миколовые кислоты представляют собой высокомолекулярные β -оксикислоты с длин-

Таблица 1
Характеристики исследуемых почв

Почва	Горизонт и глубина, см	pH _{водн}	Гумус, %
Темно-каштановая	A ₁ , 6—20	7,3	3,4
Чернозем типичный	A ₁ , 7—20	6,3	8,7
Дерново-подзолистая глеевая	A ₁ , 7—23	4,9	6,8
Перегнойная грунтово-глеевая	A ₀ , 10—30	5,1	24,2

Таблица 2

Выходы и элементный состав гексановых экстрактов

Почва	$\frac{C_{\text{экстр}}}{C_{\text{орг}}}$	Содержание, мас %			
		C	H	N	O
Темно-каштановая	0,85	76,6	10,5	—	12,9
Чернозем типичный	0,65	77,4	10,8	—	11,8
Дерново-подзолистая глеевая	2,42	78,7	12,3	—	9,0
Перегнойная грунтово-глеевая	3,14	73,4	11,1	—	15,5

ной алифатической цепью в α -положении, они содержат различное число двойных связей, метильных групп и циклопропановых колец [6, 8]. Эти кислоты имеют бактериальное происхождение и характерны только для родов микобактерий и близких к ним

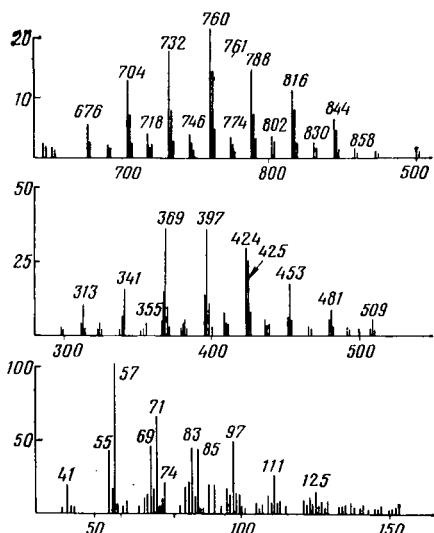
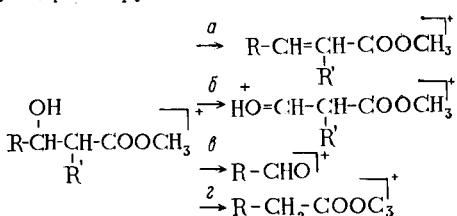


Рис. 1. Масс-спектр гексанового экстракта из темно-каштановой почвы.

форм. Большая часть миколовых кислот в клетках бактерий, по-видимому, присутствует в виде эфиров [2]. В масс-спектрах эфиров миколовых кислот отсутствуют пики молекулярных ионов [6, 7]. Основными процессами фрагментации этих соединений под действием электронного удара являются отщепление H_2O и расщепление C—C-связей у гидроксигруппы:



Указанные ионы позволяют определить молекулярные массы, а также вид и размеры радикалов R и R'.

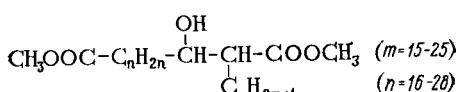
В изучаемых масс-спектрах ионы в области высоких массовых чисел, по-видимому, представляют собой дегидратированные молекулярные ионы эфиров миколовых кислот (a) с массами 620, 648, 676, 704, 732, 760, 816, 844, 872. Судя по массам этих ионов эфиры миколовых кислот, вероятно, содержат еще одну сложную эфирную группу на конце радикала. Аномально высокая интенсивность пика иона с массой 74 позволяет предположить, что эти эфиры — метиловые.

Группа пиков в масс-спектрах экстрактов, соответствующих ионам (б) с массами 313, 341, 369, 397, 425, 453, позволяет оценить длину радикалов R'. У миколовых кислот из темно-каштановой почвы эти радикалы имеют от 15 до 25 атомов С, максимальные пики среди них соответствуют радикалам R', содержащим 19 и 21 атом С. Длина радикалов R' у миколовых кислот, выделенных из чернозема, составляет 15—27 атомов С, из дерново-подзолистой и перегнойной грунтово-глеевой — 15—21 атом С.

Характерная для изучаемых масс-спектров группа пиков, отнесенных к ионам (в) с массами 229, 257, 285, 312, 340, 368, 396, 424, 452, 480, 508, позволяет оценить величину радикала R. Длина его в миколовых кислотах, выделенных из всех изученных почв, примерно одинаковая, число атомов С — от 16 до 28.

Кроме основных, наиболее интенсивных пиков ионов в области высоких и средних массовых чисел, соответствующих ионам (a), (б) и (в), в масс-спектрах экстрактов имеются аналогичные серии пиков, соответствующие таким же кислотам, содержащим одну, две и три двойные связи. Интенсивность пиков этих ионов значительно ниже, чем пиков основных серий ионов.

Таким образом, основные компоненты гексановых экстрактов почв, по-видимому, представляют собой диэфиры миколовых кислот вида



Относительные интенсивности пиков ионов ($M-\text{H}_2\text{O}$)⁺ позволяют установить распределение диэфиров миколовых кислот по молекулярным массам. Общее количество ато-

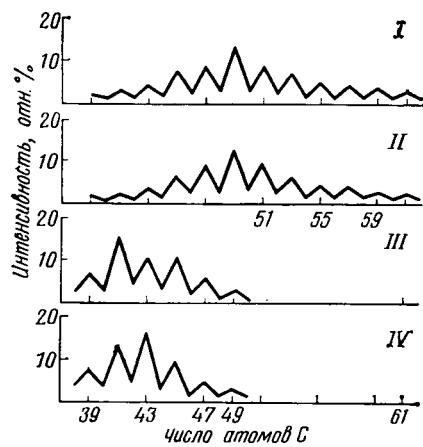


Рис. 2. Молекулярно-массовое распределение миколовых кислот из четырех типов почв.

I — темно-каштановая; II — чернозем типичный; III — дерново-подзолистая глеевая;
IV — перегнойная грунтово-глеевая.

мов С в молекулах этих соединений в экстракте из темно-каштановой почвы и чернозема находится в пределах 39—61 с максимумом, приходящимся на 49 атомов С в молекуле, для других почв — в пределах 37—49 атомов С с максимумом, приходящимся на 41—45 атомов С (рис. 2). Таксономическое отнесение миколовых кислот к различным родам бактерий проводится по их гомологическим рядам [6]. Известны три категории таких кислот: кориномиколовые (C_{28} — C_{40}), характерные главным образом для представителей рода *Corinobacterium*; нокардомиколовые (C_{40} — C_{60}) — для рода *Nocardia*; микобактериальные (C_{60} — C_{90}) — для рода *Mycobacteria* [2]. Эфиры миколовых кислот в исследованных почвенных экстрактах, содержащие 40—60 атомов С в молекуле, скорее всего являются эфирами нокардомиколовых кислот.

Таким образом, методом масс-спектрометрии в гексановых экстрактах различных почв удалось идентифицировать диэфиры миколовых кислот с характерным для каждой почвы молекулярно-массовым распределением.

ЛИТЕРАТУРА

- Кононова М. М. Органическое вещество почвы. М., Изд-во АН СССР, 1963.—2. Лебедева Ж. Д., Волкова И. М., Рубан Е. Л. Липиды и липазы микробактерий и близких к ним микроорганизмов. — Изв. АН СССР, сер. биология, 1976, № 2, с. 221—228.—3. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв. МГУ, 1974.—4. Теппер Е. З. Микроорганизмы рода *Nocardia* и разложение гумуса. М., «Наука», 1976.—5. Хмельницкий Р. А., Полякова А. А. Масс-спектр-

- рометрия в органической химии. Л., «Химия», 1972.—6. Das B. C., Ledeg E. — Topics in Organic Mass Spectrometry. New York, Wiley-Intercience, 1970, p. 255—325.—7. Fustoc-Matton E., Jamly P., Joby G., Iacguenn R. — Soil Organic Matter Studing. Vienna, 1977, vol. 2, p. 225.—8. Minnikin D. E., Goodfellow M. — The Biology of The Nocardiae. Academic Press, London, 1976, p. 160—219.—9. Stevenson E. J. — J. Amer. Oil Chem. Soc., 1966, vol. 43, N 4, p. 203—210.

Статья поступила 23 апреля 1979 г.

SUMMARY

Hexane extracts isolated from different types of soils were studied. Physico-chemical characteristics of the extracts have been obtained, and their amounts have been determined.

It has been found that most of the extracts are methyl diethers of mycolic acids. The distribution of diethers of mycolic acids by their molecular masses has been determined for the soils investigated. Mycolic acids are referred to nocardomycolic ones which are typical for *Nocardia* genus.