



# **Physical-chemical properties of Humic Acids, modified by Mechanoactivation of Caustobioliths, and their interaction with Biocides**

Соискатель

Научный руководитель

Elizaveta Maltseva

dr. Yudina

## **Aim:**

Determination of correlation between structural-group composition, physicochemical properties of Humic Acids (HA) of different Nature, modified by mechanoactivation of caustobioliths, and their interactions with Biocides

## **Problems:**

- ▣ Influence of the conditions of the modification on the acid-base properties of HA and their behavior in the process of oxygen electroreduction subject to pH;
- ▣ Influence of the conditions of the modification on surface-active properties of HA;
- ▣ Adsorptive properties of HA (HFA Aldrich) relative Biocides;
- ▣ Interaction modified HA (high-moor peat) with some Biocides and toxicity of forming complex HA - Biocides.

## Научная новизна работы

- Впервые показано, что механоактивация каустобиолитов в присутствии щелочного реагента способствует увеличению количества кислородсодержащих функциональных групп в гуминовых кислотах, при этом диссоциация карбоксильных групп углеводородных цепей снижается для гуминовых кислот торфов и усиливается для гуминовых кислот бурого угля.
- Впервые установлено, что модифицированные гуминовые кислоты проявляют иницирующие свойства в процессе электровосстановления кислорода в щелочной среде и ингибирующие – в нейтральной и кислой средах.
- Впервые выявлено, что адсорбция смеси биоцидов стандартным образцом гуминовых кислот ГФК Aldrich выше адсорбции биоцидов в отдельности, при этом максимальная адсорбция гуминового препарата соответствует его критической концентрации мицеллообразования. Показано, что модификация гуминовых кислот приводит к снижению критической концентрации мицеллообразования.
- Впервые установлена взаимосвязь между функциональным составом, физико-химическими свойствами модифицированных гуминовых кислот и их взаимодействием с биоцидами. Показано, что механоактивация верхового торфа со щелочным реагентом позволяет получить модифицированные гуминовые кислоты с высокой связывающей и детоксицирующей способностью по отношению к биоцидам.



## Практическая значимость результатов

1. Модифицированные гуминовые кислоты в малых концентрациях обладают высокими ассоциирующими свойствами по отношению к биоцидам, что может помочь при очистке водных и почвенных сред от токсичных веществ.
2. Установленная зависимость между функциональным составом, физико-химическими свойствами модифицированных гуминовых кислот и их взаимодействием с биоцидами может служить основой в разработке препаратов нового поколения с биостимулирующими и защитными функциями в окружающей среде, в восстановлении почв.

## Основные положения, выносимые на защиту

1. Зависимость кислотно-основных, иницирующих и ингибирующих свойств модифицированных гуминовых кислот различных каустобиолитов от условий их модификации и pH среды.
2. Зависимость поверхностно-активных свойств модифицированных гуминовых кислот различных каустобиолитов от условий их модификации.
3. Результаты адсорбционных свойств стандартного образца гуминовых кислот ГФК Aldrich по отношению к индивидуальным биоцидам и их смеси.
4. Результаты исследований взаимодействия ципроконазола и тебуконазола с исходными и модифицированными гуминовыми кислотами верхового торфа.

## Objects

high-moor peat (B)  
valley peat (H)  
brown coal (Y)

Экстракция

ГК т.В  
ГК т.Н  
ГКУ

Стандартный образец ГФК  
Aldrich (Германия)



Механоактивация  
(МА)

МА+ 3 % NaOH



Экстракция

ГК т.В МА  
ГК т.Н МА  
ГКУ МА

ГК т.В МА+NaOH  
ГК т.Н МА+NaOH  
ГКУ МА+NaOH

МА каустобиолитов проводилась в мельнице-активаторе планетарного типа АГО-2С (разработка ИХТТМ СО РАН, г.Новосибирск).

Частота вращения барабанов 1820 об/мин;

Центростремительное ускорение 600 м/с<sup>2</sup>;

Мелющие тела – стальные шары, d = 8-10 мм;

Масса шаров при загрузке одного барабана – 0,2-0,5 кг;

Навеска каустобиолита – 15-20 г;

Время обработки – 2 мин.

Биоциды предоставлены Федеральным управлением по исследованиям и испытаниям новых материалов (г.Берлин, Германия):

Ципроконазол (ЦК)

Тебуконазол (ТК)

Пропиконазол (ПК)

Иргарол 1051 (Ирг.)

ДЦОИТ



## Methods

### Структурный состав и физико-химические свойства модифицированных ГК:

Элементный анализ: анализатор «Carlo Erba Strumentazione» 1106 (Италия)

<sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопия: радиоспектрометр ЯМР фирмы Bruker (Германия)

Гель-проникающая хроматография: Сефадекс G 75

Потенциометрический анализ: рН-метр Мультигест ИПЛ 103

Метод отрыва кольца

Вольтамперометрический анализ: анализатор АОА (г.Томск)

### Взаимодействие с биоцидами:

Хромато-масс-спектрометрический анализ: газовый хроматограф (6890 N Network GS System) с квадрупольным масс-спектрометром фирмы Agilent Technologies (США)

Твердофазная экстракция с использованием одноразовой колонки Strata серии 8B-S100-UBJ (Германия)

Флуориметрический анализ: спектрофлуориметр CM 2203

Электропроводность: октанометр SX-300 с (г.Томск)

Микробиологический анализ

# The Structural-group composition of modified HA (<sup>13</sup>C NMR - spectroscopy)

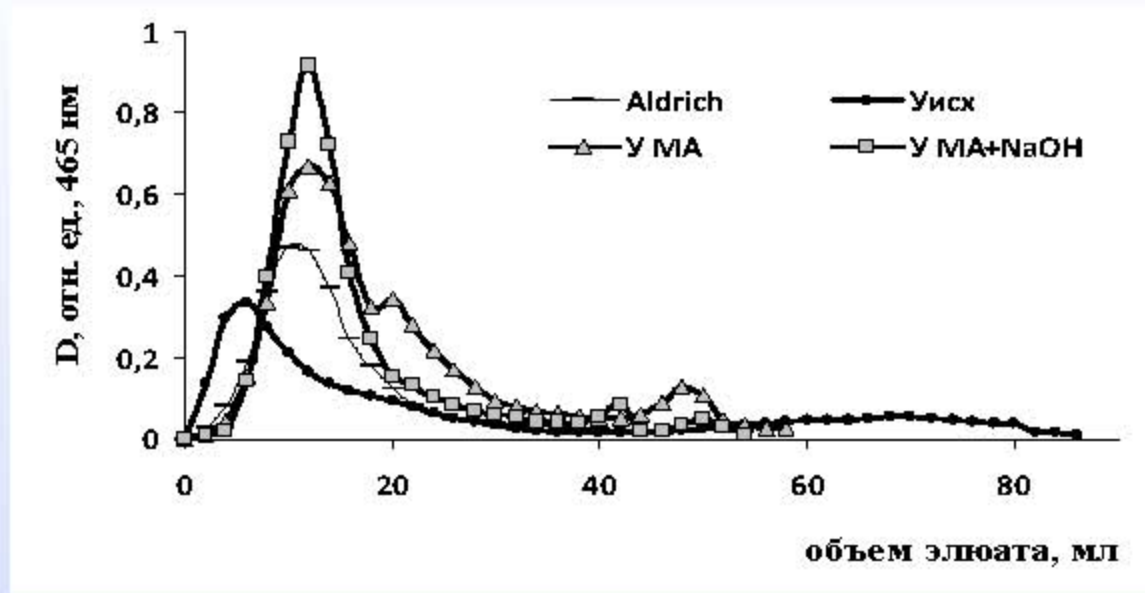
Образец ГК	Содержание атома углерода в структурных фрагментах, % отн.						
	C <sub>COOH</sub> , C=O	C <sub>Ar-O</sub>	C <sub>Ar</sub>	O-C <sub>alk-O,N</sub>	C <sub>alk-o</sub>	C <sub>alk</sub>	f <sub>Ar&gt;</sub>
<b>Верховой торф</b>							
т.В	12,1	2,3	18,5	6,5	25,4	35,1	21
т.В МА	13,0	4,7	16,1	6,1	32,7	27,5	21
т.В МА+NaOH	9,0	2,2	19,0	6,4	30,1	33,4	21
<b>Низинный торф</b>							
т.Н	15,2	16,0	12,4	15,4	17,4	23,6	28
т.Н МА	15,0	14,2	17,4	9,1	21,0	23,3	32
т.Н МА+NaOH	13,1	11,8	21,4	5,9	25,0	22,8	33
<b>Бурый уголь</b>							
У	15,8	11,2	28,4	0,2	12,0	32,4	40
У МА	13,6	12,3	32,0	2,7	7,5	32,0	44
У МА+NaOH	14,5	11,3	29,7	1,9	6,6	36,0	41
ГФК Aldrich	18,7	9,3	30,5	5,0	11,9	24,6	40

В ряду ГК т.В > т.В МА > т.В МА+NaOH увеличивается C<sub>alk-o</sub> и снижается C<sub>alk</sub>,

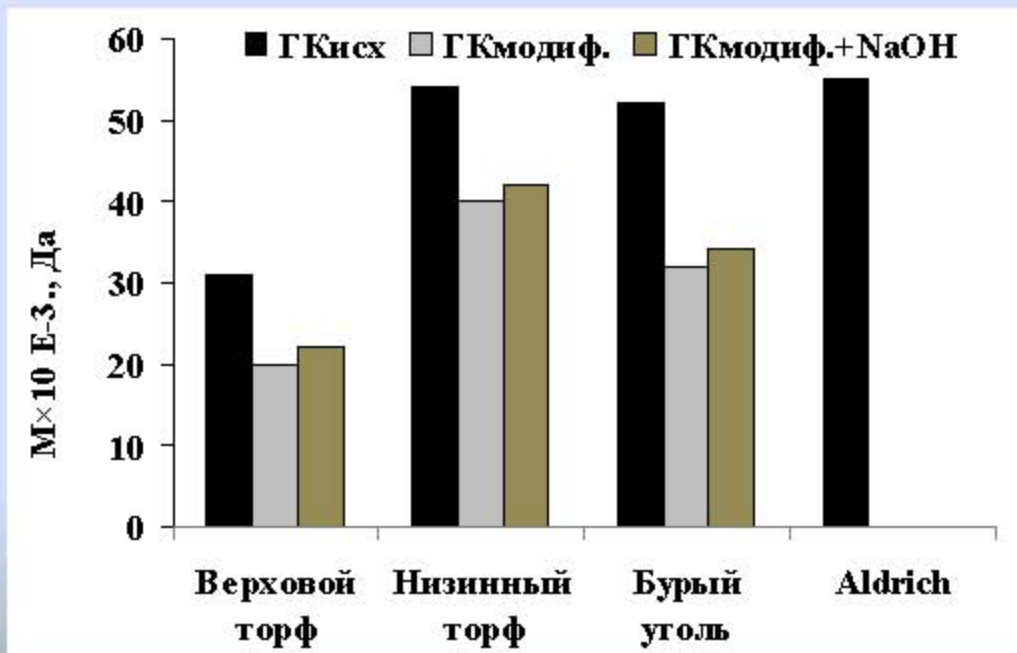
В ряду ГК т.Н > т.Н МА > т.Н МА+NaOH также увеличивается C<sub>alk-o</sub> и f<sub>ar</sub>, но снижается O-C<sub>alk-O,N</sub>

В ряду ГК У > У МА > У МА+NaOH увеличивается C<sub>alk</sub> и f<sub>ar</sub>, но снижается C<sub>alk-o</sub>

# Gel-chromatogram and apparent molecular weight of modified HA



После МА каустобиолитов средняя молекулярная масса ГК снижается: для образца У МА – на 40 %, для образцов т.В МА и т.Н МА – на 25 – 30 %.





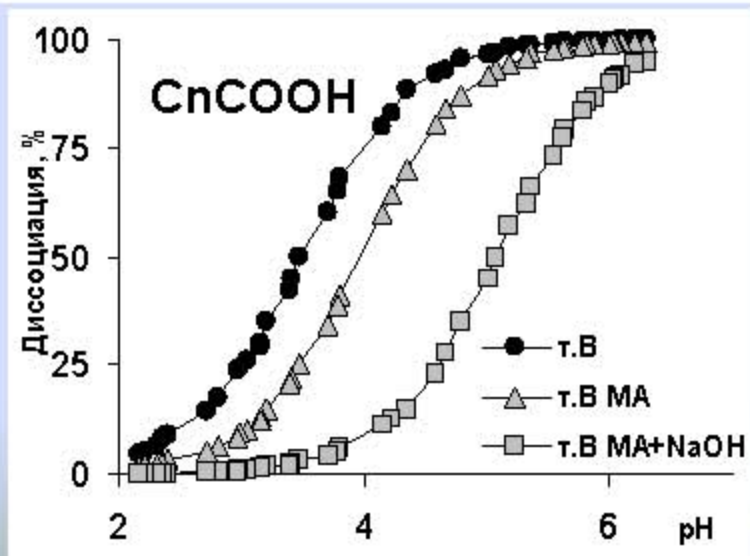
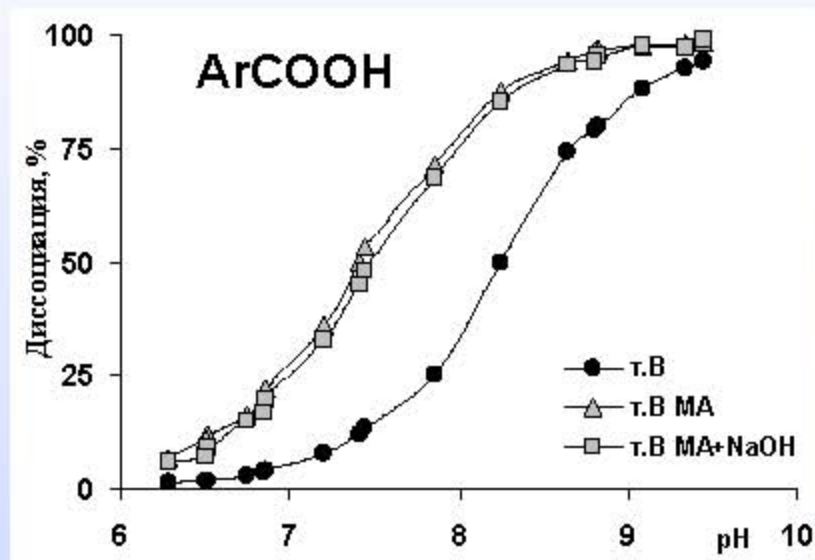
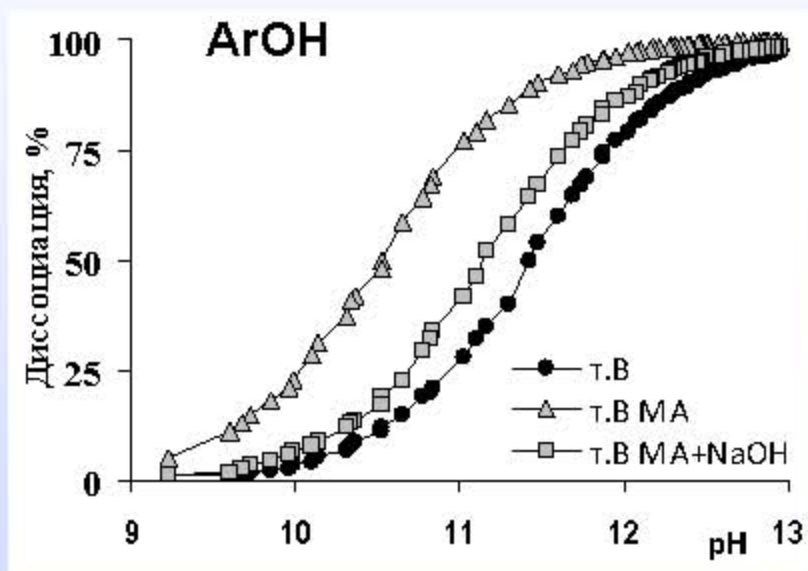
## The functional groups in modified HA and their dissociation constants

Образец ГК	Содержание функциональных групп, мг-экв/г			Общая кислотность, мг-экв/г	pK <sub>1д</sub> – C <sub>n</sub> COOH	pK <sub>2д</sub> – ArCOOH	pK <sub>3д</sub> – ArOH
	C <sub>n</sub> COOH	ArCOOH	ArOH				
<b>Верховой торф</b>							
т.В	3,2±0,1*	6,2±0,1	9,6±0,3	19,0	3,5	8,3	11,4
т.В МА	3,3±0,1	5,3±0,2	8,2±0,2	16,8	4,0	7,4	10,5
т.В МА+NaOH	4,5±0,2	5,7±0,1	9,8±0,3	20,0	5,1	7,5	11,2
<b>Низинный торф</b>							
т.Н	3,1±0,1	6,8±0,1	11,5±0,2	21,4	3,7	8,1	11,4
т.Н МА	2,8±0,1	6,3±0,2	11,9±0,3	21,0	4,0	8,0	12,0
т.Н МА+NaOH	3,8±0,2	7,8±0,2	13,4±0,3	25,0	4,0	8,3	11,3
<b>Бурый уголь</b>							
У	0,8±0,1	4,8±0,2	9,3±0,2	14,9	4,5	7,1	11,3
У МА	0,8±0,1	5,1±0,1	9,8±0,2	15,7	4,1	7,0	11,3
У МА+NaOH	1,1±0,1	6,5±0,2	10,3±0,4	17,9	3,7	7,6	11,8
Aldrich	2,3±0,1	6,1±0,3	10,5±0,2	19,0	4,2	8,1	11,1

\* - Указан доверительный интервал, n = 3, P = 0,95

Модификация ГК без реагента незначительно изменяет количество функциональных групп; В ряду ГК т.В > т.В МА > т.В МА+NaOH и т.Н > т.Н МА > т.Н МА+NaOH кислотные свойства ослабевают и усиливаются в ряду У < У МА < У МА+NaOH для групп C<sub>n</sub>COOH

# The Dissociation of functional groups in modified HA of high-moor peat



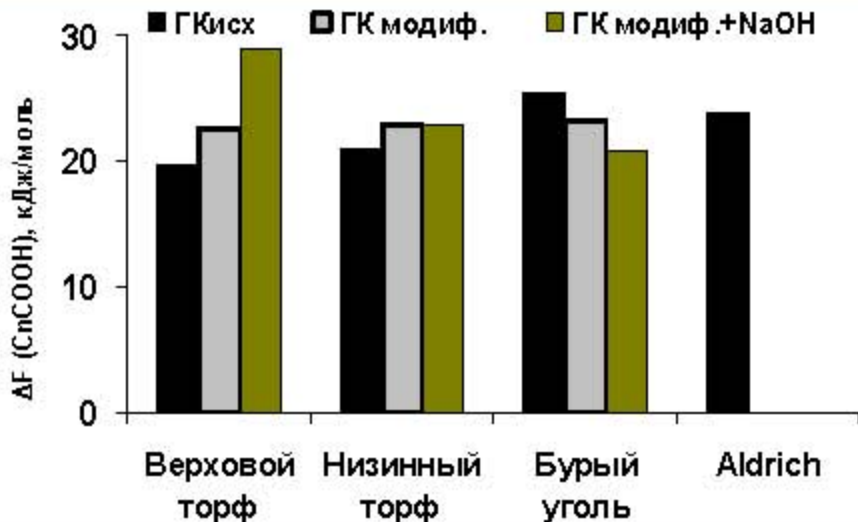
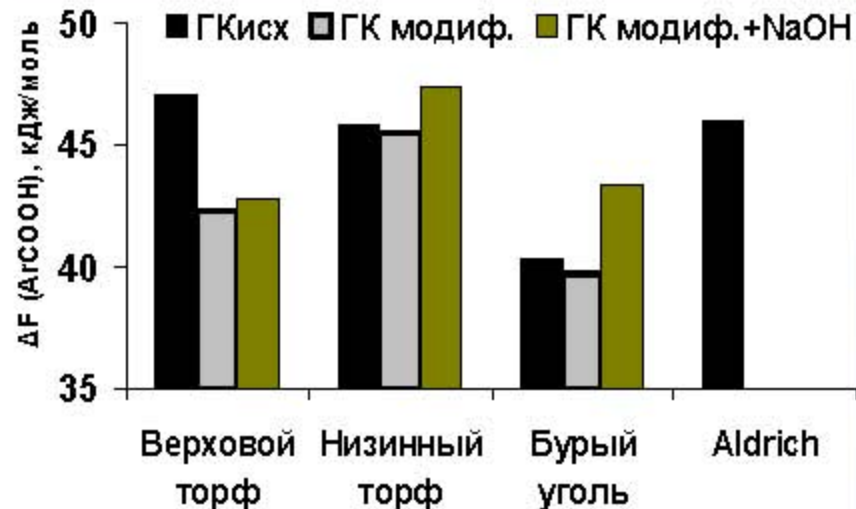
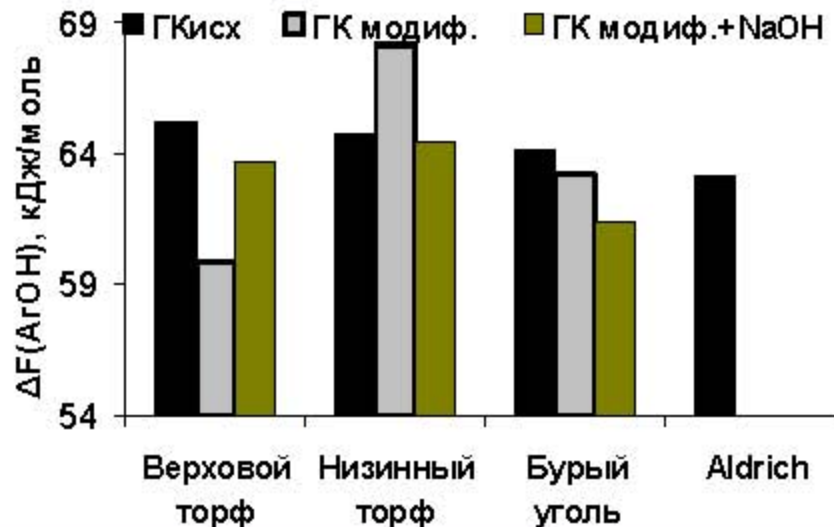
Уравнение Гендерсона-Гассельбаха

$$pK = pH + n \lg \frac{1-\alpha}{\alpha}$$

pK – показатель кислотности:

α – величина диссоциации функциональных групп фрагментов ГК

# The Dissociation energy of functional groups in modified HA

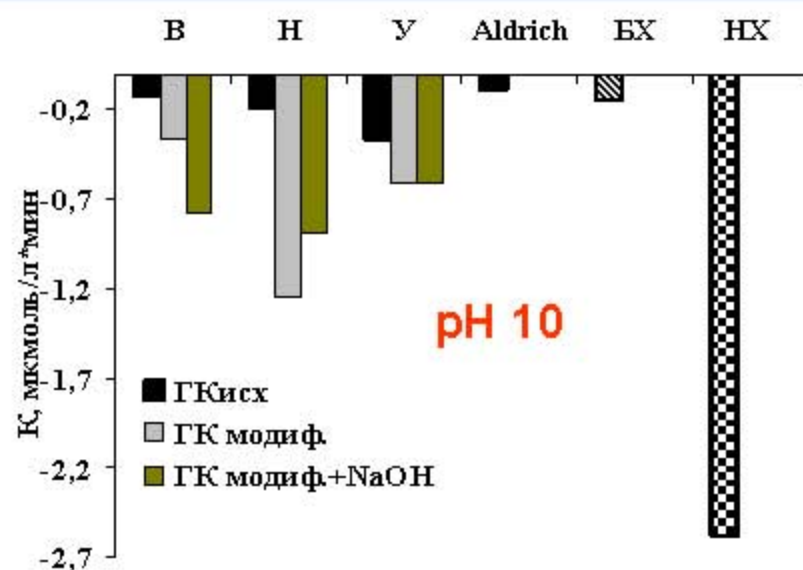
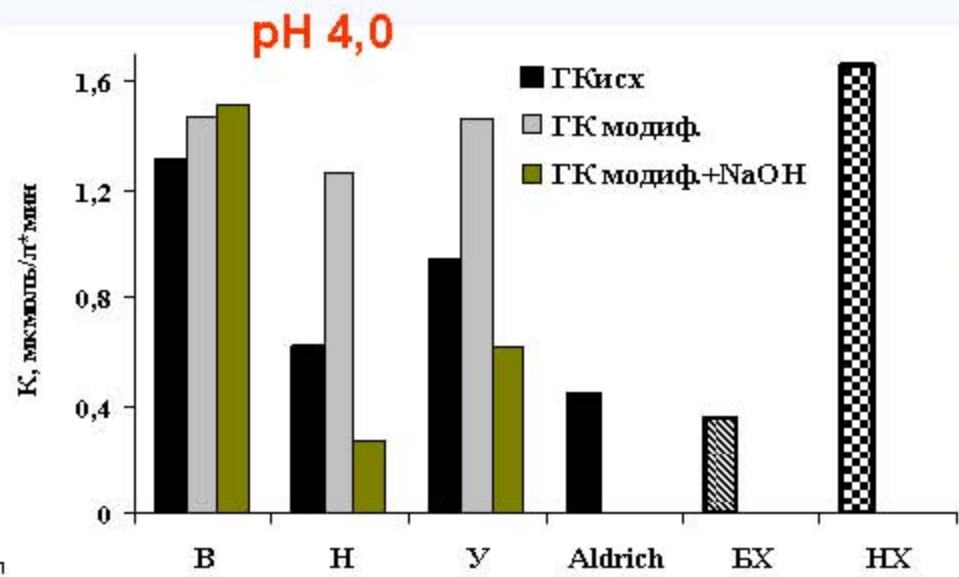
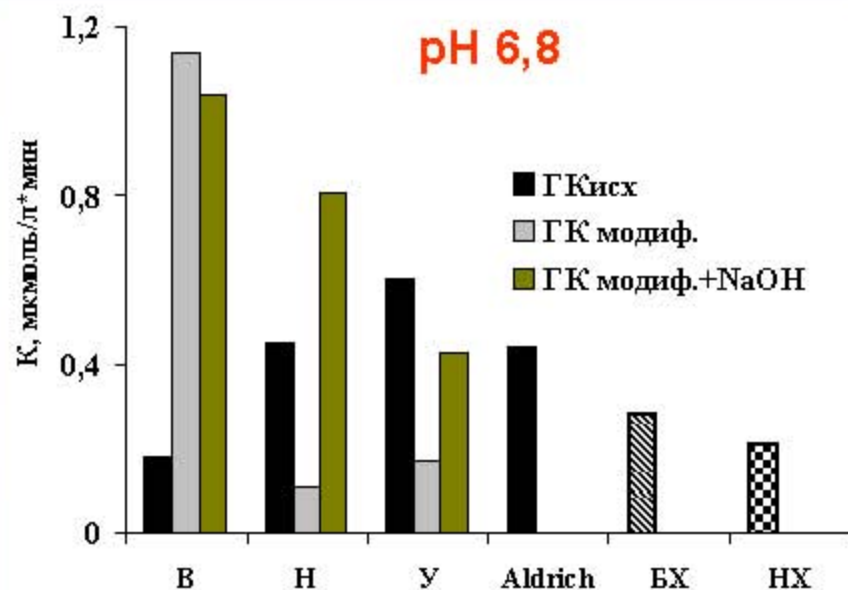


Модификация ГК верхового торфа снижает энергию диссоциации ArOH и ArCOOH групп и увеличивает на 3-8 кДж/моль для SnCOOH групп.

Модификация ГК бурого угля снижает  $\Delta F$  ArOH- и SnCOOH-групп и увеличивает для ArCOOH-групп



# The abscopal and initiating properties of modified HA in process of the oxygen electroreduction (ЭВ O<sub>2</sub>)



BX – 1,4-бензохинон, HX – 1,4-нафтахинон

$$K = C^{\circ}O_2 * (1 - I/I_0) / t$$

K – кинетический критерий антиоксидатной активности, мкмоль/л\*мин;

I – ток ЭВ O<sub>2</sub> в присутствии ГК в растворе, мкА;

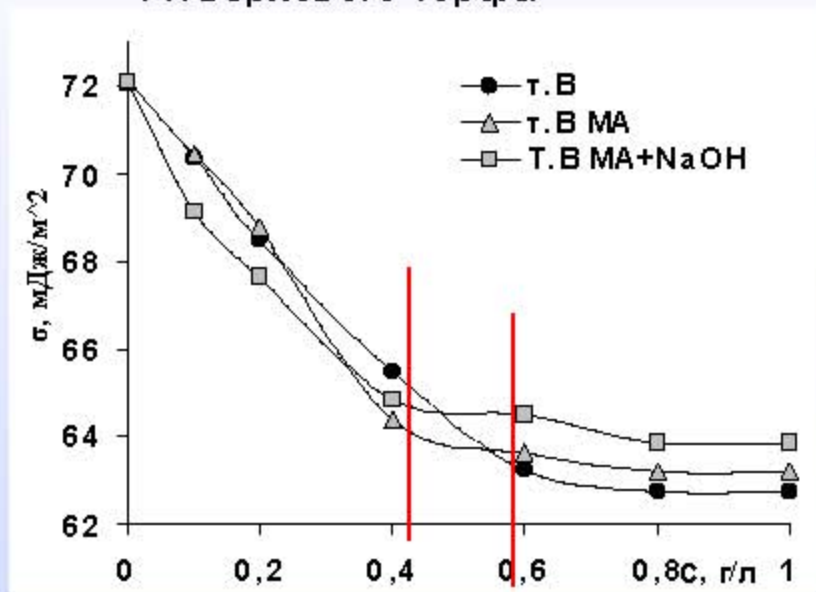
I<sub>0</sub> – ток ЭВ O<sub>2</sub> в отсутствии ГК в растворе, мкА;

C<sup>°</sup>O<sub>2</sub> – исходная концентрация кислорода в растворе, мкмоль/л;

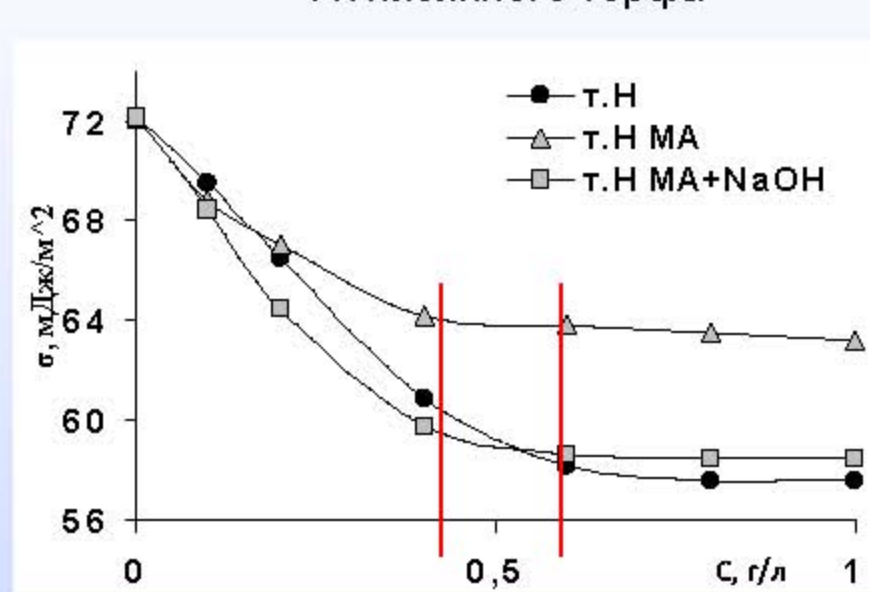
t – время протекания процесса, мин.

# The surface-active properties of modified HA

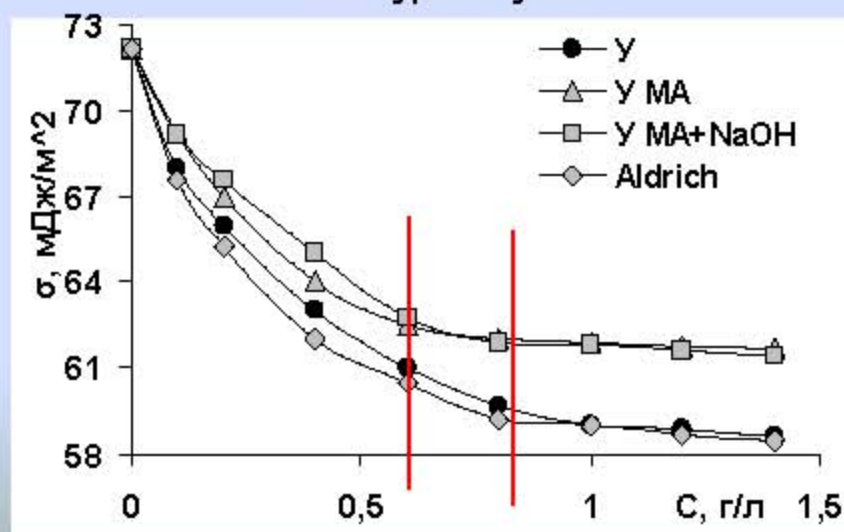
ГК верхового торфа



ГК низинного торфа



ГК бурого угля



Условия эксперимента:  $T = 24\text{ }^{\circ}\text{C}$

После модификации ГК различных каустобиолитов снижается их критическая концентрация мицеллообразования.

# Adsorption of Biocides by Standart HFA Aldrich (pH 4,0 – 4,5)

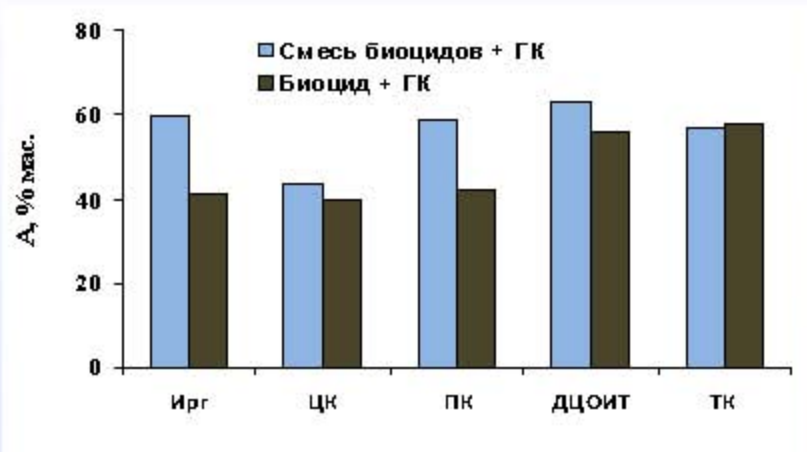


Рис.1- Адсорбция из растворов смеси и индивидуальных биоцидов с ГФК Aldrich

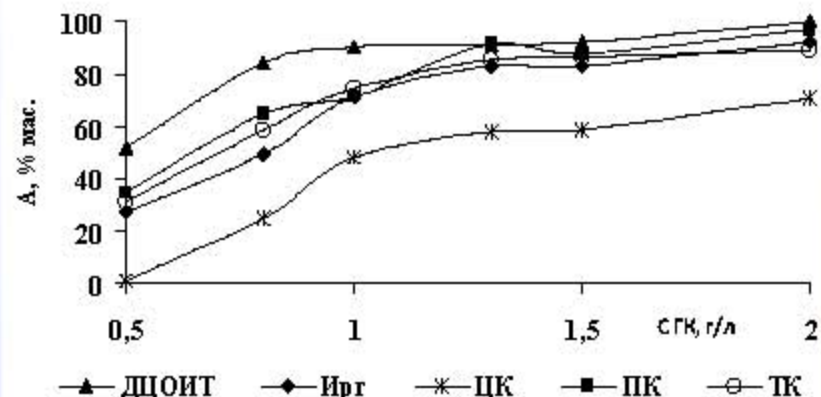


Рис.2 – Влияние концентрации ГФК Aldrich на адсорбцию биоцидов в смеси

Табл. – Эмпирические константы Фрейндлиха для биоцидов, адсорбированных ГФК Aldrich

Биоцид	$K_f \times 10^{-5}$ , л/кг
ДЦОИТ	$3,5 \pm 0,1^*$
Иргарол 1051 (Ирг)	$3,1 \pm 0,2$
Ципроконазол (ЦК)	$3,3 \pm 0,1$
Пропиконазол (ПК)	$3,5 \pm 0,1$
Тебуконазол (ТК)	$4,3 \pm 0,1$

\*  $\pm$  доверительный интервал для  $n = 3$ ,  $P = 0,95$

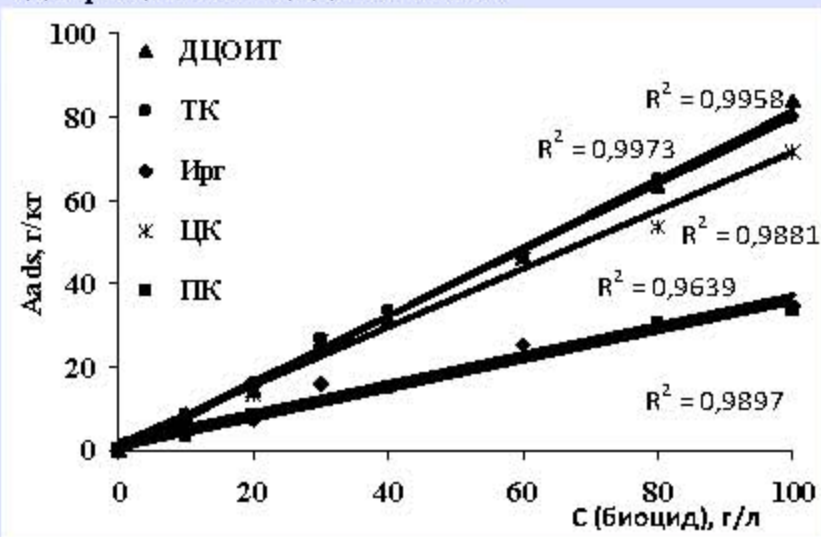
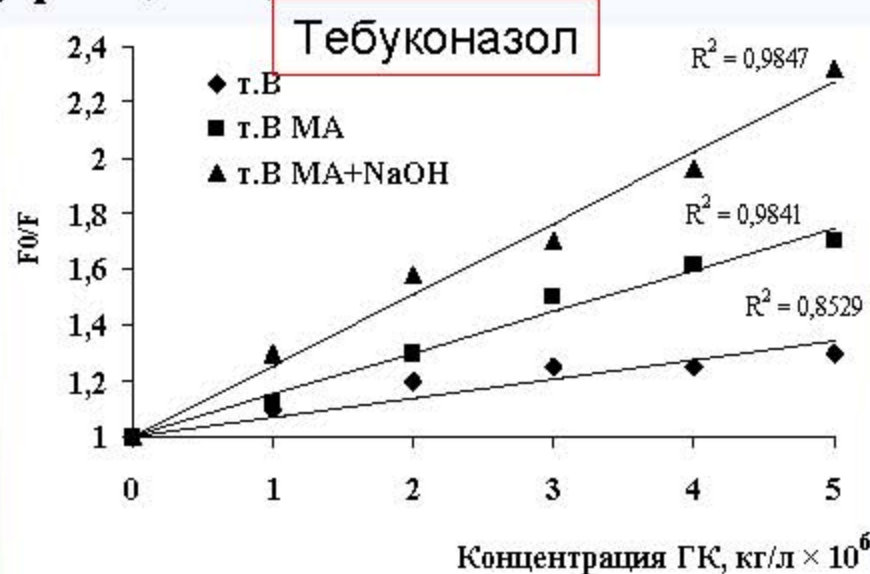
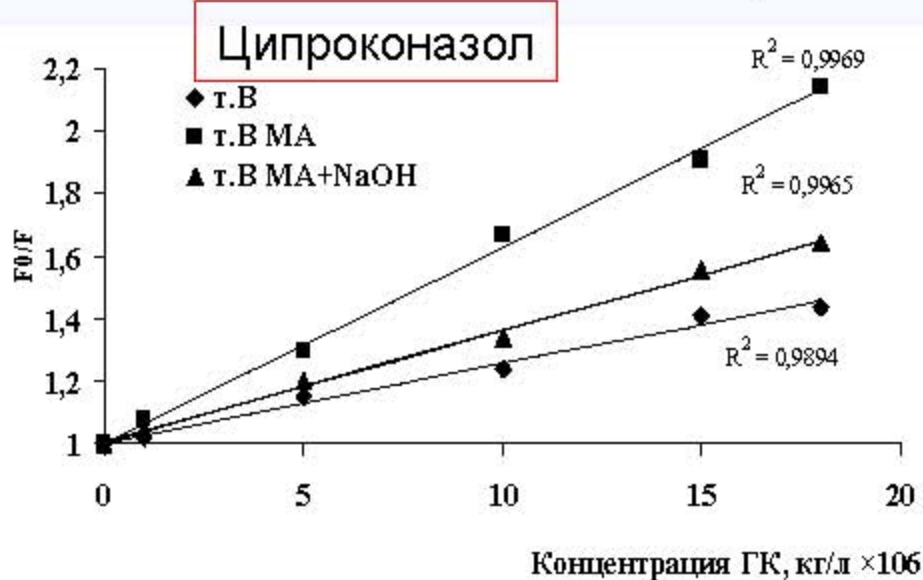


Рис.3 – Изотермы адсорбции биоцидов ГФК Aldrich при 25 °C



# The Interaction of some Biocides with modified HA (high-moor peat) by the fluorescence quenching pH 4,0 – 4,5



## Уравнение Штерна-Фольмера

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{ac} \times C_{ГК}$$

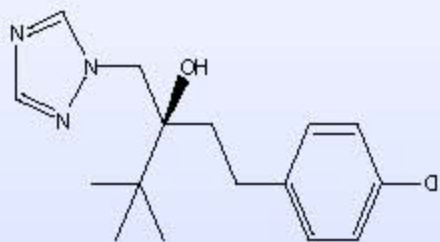
$F_0$  и  $F$  – интенсивности флуоресценции биоцида в отсутствие и в присутствии ГК соответственно;  
 $C_{ГК}$  – концентрация ГК, кг/л;  
 $K_{ac}$  – константа ассоциации биоцида с ГК, л/кг  
 $K_{ac}$  (ТК) возрастает в 2-3,6 раза при взаимодействии с модифицированными ГК.  
 Среди торфяных образцов наибольшим значением  $K_{ac}$  характеризуется т.В МА+NaOH

Табл. – Константы ассоциации биоцидов с модифицированными ГК верхового торфа

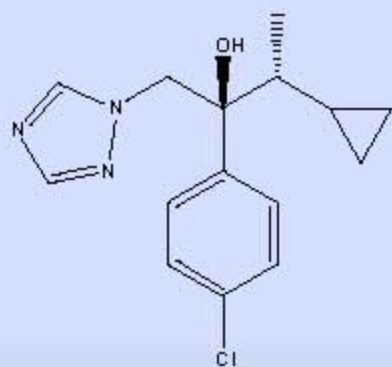
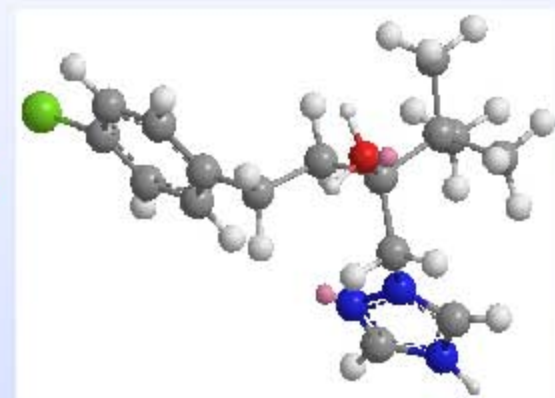
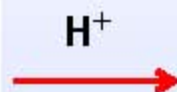
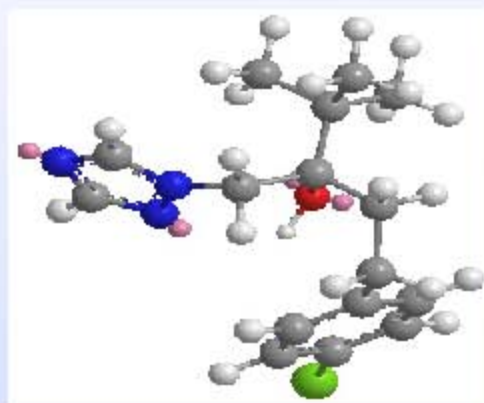
Образец ГК	$K_{ac}$ (ЦК) $\times 10^{-5}$ , л/кг	$K_{ac}$ (ТК) $\times 10^{-5}$ , л/кг
т.В	$0,26 \pm 0,01^*$	$0,72 \pm 0,02$
т.В МА	$0,65 \pm 0,02$	$1,45 \pm 0,01$
т.В МА+NaOH	$0,35 \pm 0,01$	$2,56 \pm 0,01$

\*  $\pm$  доверительный интервал для  $n = 3$ ,  $P = 0,95$

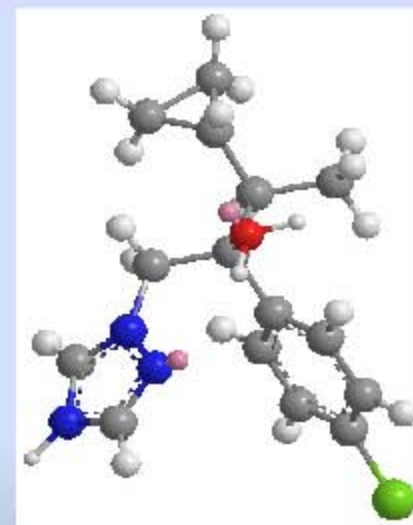
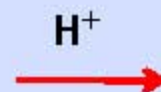
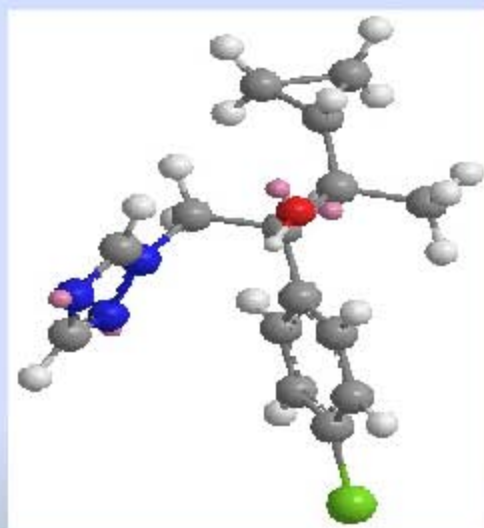
# Some structural transformations of Biocides (acid medium)



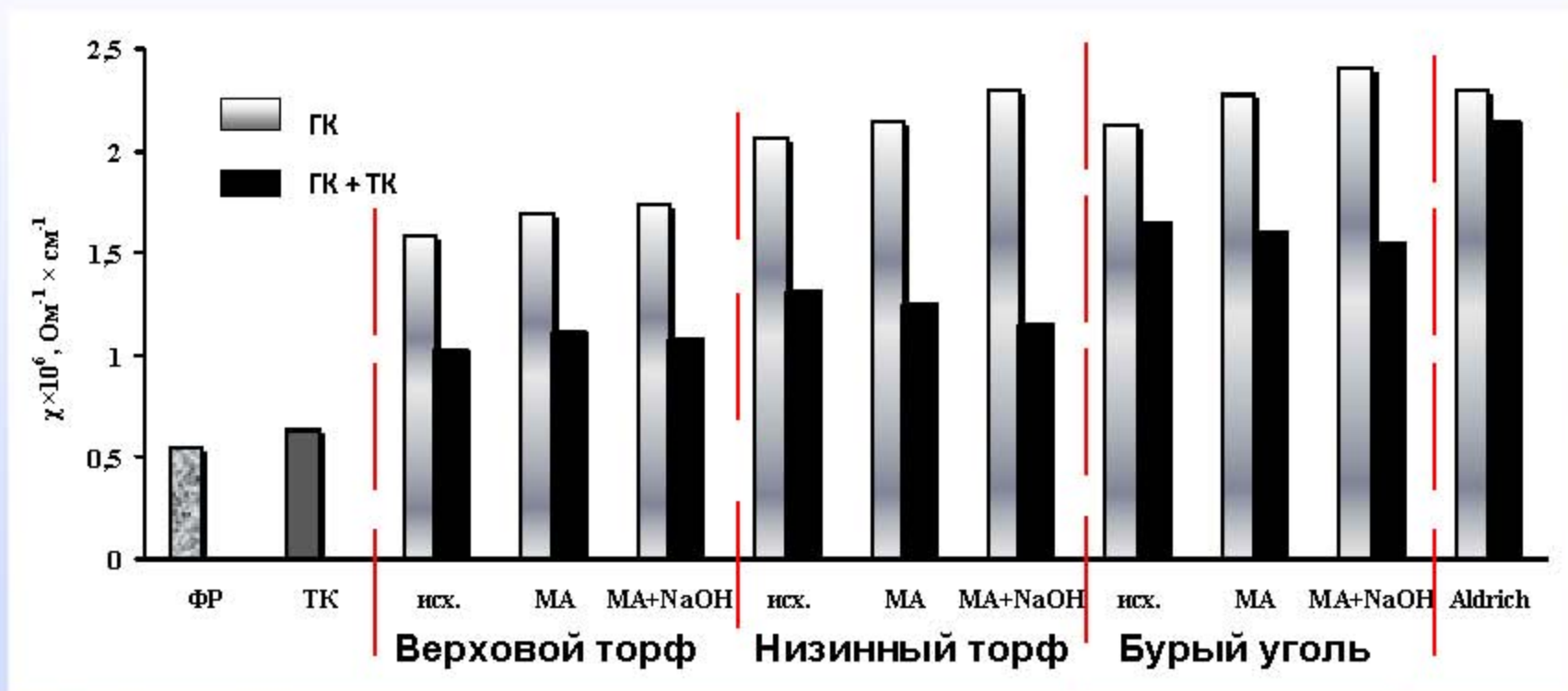
Тебуконазол



Ципроконазол



## The superficial conduction of the modified HA after addition Tebukonazol



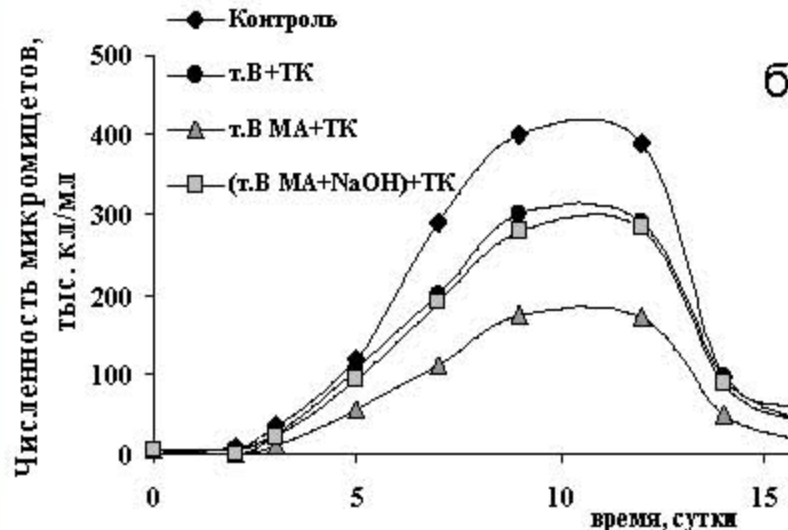
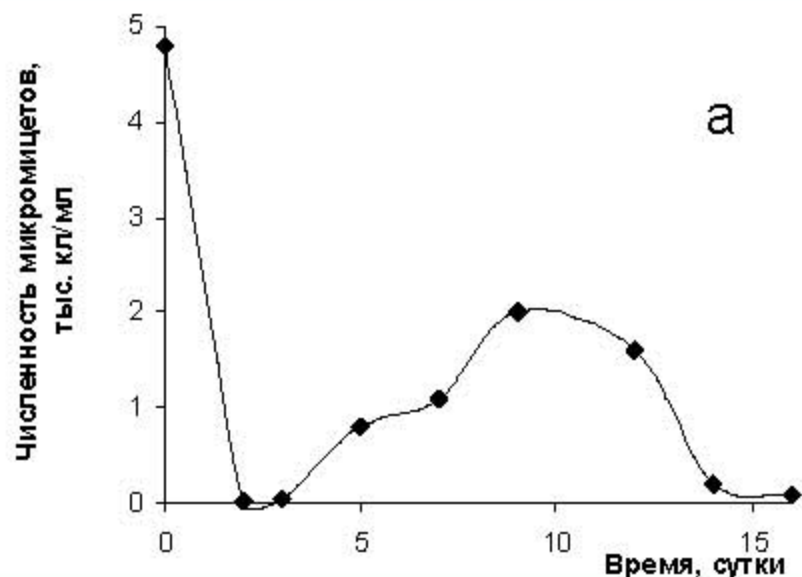
ФР – фоновый раствор

ТК - тебуконазол

После добавления тебуконазола в растворы ГК электропроводность снижается для всех образцов, что подтверждает участие ионизированных функциональных групп фрагментов ГК в связывании биоцида



# Detoxicant properties of the modified HA in the solution with Tebukonazol



Изменение численности почвенных микромицетов в присутствии тебуконазола (а) и после добавления модифицированных ГК верхового торфа (б)

Контроль – среда Раймонда с почвенными микромицетами без биоцида и модифицированных ГК  
TK – тебуконазол

Внесение ГК в биотестируемую систему способствует снижению токсичности биоцида. Результаты подтверждают связывание биоцида образцами ГК. Невысокие эффекты детоксикации ГК т.В МА обусловлены низкой стабильностью его комплекса с ТК.

## **Conclusion:**

1. Modification of peat HA with alkaline reagent results in the increase functional groups. Acid properties of carboxyl groups ( $\text{pH} < 7$ ) are reduced for peat samples and increased for coal samples.
2. Modified HAs in the process of the oxygen electroreduction show initiating properties in alkaline medium and absopal properties in acid medium.
3. The critical concentration of the forming micella is reduced for modified HA.
4. Adsorption of Biocides by HFA Aldrich is observed on concentration 0,8 – 1 g/l.
5. Modification of HA enhances some interaction with Tebukonazol and Cyproconazol in 3,6 and 2,5 time.



1. Иванов А.А., Юдина Н.В., Мальцева Е.В., Ломовский О.И. Влияние окислительно-восстановительных условий и механического воздействия на изменение состава гуминовых кислот // Изв. Том.политех. универ-та. – 2007. – Т.310. - №2 – С. 159-162 (4/2).
2. Иванов А.А., Юдина Н.В., Мальцева Е.В., Матис Е.Я. Исследование биостимулирующих и детоксицирующих свойств гуминовых кислот различного происхождения в условиях нефтезагрязненной почвы // Химия раст. сырья. – 2007. - №1 – С. 99-103 (5/3).
3. Чайковская О.Н., Соколова И.В., Соколова Т.В., Юдина Н.В., Мальцева Е.В., Иванов А.А. Влияние гуминовых кислот на фототрансформацию метилфенолов в воде // Журн. прикл. спектр.. – 2008. – Т.25. - №4 – С. 577-582 (6/2).
4. Мальцева Е.В., Иванов А.А., Юдина Н.В. Адсорбционные взаимодействия гуминовых кислот с биоцидами // Журн. физ. хим. – 2009. Т.83. - №11 – С. 2175 – 2179 (5/4).
5. Иванов А.А., Юдина Н.В., Мальцева Е.В., Матис Е.Я., Сваровская Л.И. Стимуляция активности микроорганизмов нефтезагрязненных почв гуминовыми препаратами // Почвоведение. – 2010. - №2 – С. 229-234 (6/3).
6. Мальцева Е.В. Влияние механообработки на компонентный состав сапропелитов // Химия и хим. технология в XXI в.: Тез. V всерос. студенч. научно-практич. конф. 11-12 мая 2004. – Томск. – С. 98-99 (1/1).
7. Мальцева Е.В. Особенности изменения химического состава полисахаридов природного органического сырья при механоактивации // Химия и хим. технология в XXI в.: Тез. VI всерос. студенч. научно-практич. конф. 11-12 мая 2005. – Томск. – С. 129 (1/1).
8. Мальцева Е.В., Иванов А.А., Юдина Н.В., Тухвагулин Р.Т. Влияние гуминовых кислот механоактивированного торфа на процесс обратимой агрегации эритроцитов крови // Фундаментальные проблемы новых технологий в 3-ем тыс.: Материалы 3-й всерос. Конф. Молод. Уч. 2006. – Томск– С. 33-36 (4/3).
9. Мальцева Е.В., Иванов А.А., Юдина Н.В. Исследование влияния гуминовых кислот механоактивированного торфа на микробиологическую активность нефтезагрязненной почвы // Хим. и технология растит. Веществ: Материалы V всерос. Научн. Конф. 8-12 июня 2008. – Уфа. С. 198 (1/0,5).



10. Мальцева Е.В., Иванов А.А., Матис Е.Я., Юдина Н.В. Использование модифицированных гуминовых кислот торфа для детоксикации нефтезагрязненных почв // Контроль и реабилитация окр. Среды: Материалы VI международн. симпоз. 3-5 июля 2008. – Томск - С. 332-334 (3/2).
11. Mamylov S.P., Yudina N.V., Lomovsky O.I., Maltseva E.V. Chelation ability of Mechanochemically produced humin substances // Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies: III Internat. Conf., May 27-30, 2009. – Novosibirsk – P. 198 (1/0,4).
12. Мальцева Е.В., Юдина Н.В., Чайковская О.Н., Соколова Н.В., Нечаев Н.В. Спектрально-люминесцентные и антиоксидантные свойства гуминовых кислот при воздействии УФ-излучения // Гумин. вещества в биосфере: Труды V Всерос. Конф. 1-4 марта 2010. – Санкт – Петербург, - С. 336-341 (6/4).
13. Tchaikovskaya O.N., Sokolova I.V., Nechaev L.V., Maltseva E.V., Yudina N.V. The Study of Antioxidant Activity of Natural Organic Acids // Current issues of natural products chemistry and bionotechnology: 2<sup>nd</sup> Annual Russian Korean Conf. March 15-18, 2010. – Novosibirsk – P. 35 (1/0,4).
14. Мальцева Е.В., Иванов А.А., Юдина Н.В., Буркова В.Н. Оценка сорбционных свойств верхового торфа // Добыча, подготовка, транспорт нефти и газа: материалы V Всерос. научно-практич. конф. 21-24 сентября 2010. – Томск, - С. 159-162 (4/3).
15. Нечаев Л.В., Чайковская О.Н., Соколова И.В., Юдина Н.В., Мальцева Е.В. Сравнительная оценка антиоксидантных свойств гуминовых кислот хемилюминесцентным и вольтамперометрическим методами // Биоантиоксидант: Материалы VIII Международн. конф. 4 – 6 октября 2010. – Москва. – С. 325 – 327 (3/1).

*Автор выражает глубокую признательность и благодарность научному руководителю к.т.н. Юдиной Н.В., а также д.х.н., профессору Филимошкину А.Г., д.ф.-м.н., профессору Соколовой И.В., д.ф.-м.н. доценту Чайковской О.Н., д.х.н., профессору Ломовскому О.И. (ИХТТuM СО РАН, г.Новосибирск) и к.х.н. Петренко Т.В. за помощь в выполнении исследований и ценные советы.*

**Спасибо за внимание !**