

УДК 631.417.2

СТРОЕНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПОЧВ ЗОНАЛЬНОГО РЯДА
ПО ДАННЫМ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР ¹³C© 2011 г. В. А. Холодов¹, А. И. Константинов², А. В. Кудрявцев², И. В. Перминова²¹Почвенный институт им. В.В. Докучаева РАСХН, 119017, Москва, Пыжевский пер., 7²Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1–3

e-mail: vkholod@mail.ru

Поступила в редакцию 28.01.2010 г.

Структура гуминовых кислот (ГК) зональных типов почв: дерново-подзолистых (2 образца), серой лесной (1 образец) и черноземов (2 образца) количественно исследована методом спектроскопии ЯМР на ядрах ¹³C. В рассматриваемом ряду, в ГК увеличивается содержание незамещенного углерода ароматических фрагментов и уменьшается доля незамещенных алифатических структур. ГК дерново-подзолистых почв обогащены углеводными фрагментами в сравнении с ГК черноземов и серой лесной. В углеродном скелете ГК типичного тучного чернозема содержится гораздо большее алифатических и карбогидратных фрагментов по сравнению с типичным черноземом, что вероятно отражает меньшую степень трансформации ГК тучного чернозема.

ВВЕДЕНИЕ

Количество и качество почвенного органического вещества являются важными характеристическими признаками особенностей почвообразования в конкретном типе почв. Известна четкая зависимость состава и количества органического вещества от биоклиматических и зональных факторов [8]. В частности, в тундровой зоне при низкой интенсивности биологического круговорота углерода и в условиях, способствующих консервации растительных остатков, наблюдается довольно высокое (десятки процентов) [8] накопление углерода в виде малоразложившихся остатков, однако гумусообразование в этих условиях идет с низкой интенсивностью и образуется гумус фульватного типа. При движении на юг, от таежной до степной зоны, интенсивность круговорота углерода увеличивается, происходит уменьшение накопления в почве неразложившихся растительных остатков и увеличение запасов гуминовых веществ [8]. При этом характер гумуса меняется: в нем уменьшается доля фульвокислот (ФК) и увеличивается относительное содержание гуминовых кислот.

Гуминовые вещества (ГВ) составляют от 60 до 90% почвенного органического вещества [6]. Подробное изучение зональных особенностей строения гуминовых веществ необходимо для более глубокого понимания их роли как в глобальном круговороте углерода, так и в почвообразовании как таковом.

Особый интерес в этом плане представляют ГК, как весьма реакционноспособная и широко

представленная часть гуминовых веществ. При этом с практической точки зрения, внимание следует уделить в первую очередь ГК дерново-подзолистых, серых лесных и черноземных почв. Это связано с тем, что в России эти почвы широко используются в земледелии.

В предыдущие десятилетия исследователи довольно много внимания уделяли изучению строения и структуры ГК зонального ряда. Были установлены закономерности изменения с севера на юг элементного состава ГК, которые показали, что в ряду почв от подзолистых до каштановых почв в ГК возрастает содержание углерода, уменьшается – водорода и кислорода, при этом количество азота изменяется незначительно [10, 16]. Соответственно, атомные отношения, отражающие молекулярную структуру ГК, также подвержены зональным изменениям. Уменьшение в указанном ряду отношения Н/С косвенно указывает на увеличение ароматичности ГК, увеличение О/С – на возрастание окисленности. Отношение С/Н незначительно возрастает [10, 16]. Анализ диаграмм Ван-Кревелена выявляет при переходе от серых лесных почв к черноземам дегидратацию ГК и потерю СН₃-групп [10].

Следует отметить, что существуют работы, в которых вышеописанные закономерности не всегда верны в отношении кислорода. Например, согласно приводимым Тихоновой с соавт. [28] данным, в ряду ГК поверхностно оглеенной суглинистой почвы, алтайского южного чернозема и каштановой почвы возрастает содержание углерода, уменьшается – водорода, однако наиболь-

шее количество кислорода отмечается в ГК чернозема, затем следует каштановая почва и после нее — поверхностно оглееная почва.

Показаны основные закономерности изменения молекулярно-массового распределения для ГК зональных почв. Например, для нативных почв в ряду: дерново-подзолистые — серые лесные — черноземы, значения средневесовых и среднечисловых молекулярных масс уменьшаются при одновременном уменьшении полидисперсности молекулярно-массового распределения [10, 11]. Уменьшение значений молекулярных масс отражает закономерное увеличение с севера на юг в составе ГК содержания ароматических структур и уменьшение — периферических алифатических фрагментов, что соответствует кинетической теории гумификации Орлова [10]. Указанное уменьшение полидисперсности, в свою очередь, отражает относительное накопление в условиях степного почвообразования наиболее биотермодинамически устойчивых структур [10].

Следует отметить, что в последнее время макромолекулярная природа ГК ставится под вопрос. Так, на основе теоретических предположений, выдвинутых в восьмидесятых годах Вершавом [29], Пикколо с соавт. провели ряд гель-хроматографических экспериментов [22, 23]. В ходе экспериментов через гель-хроматографическую колонку в боратном буфере (0.02 или 0.1 М, рН 9.2) пропускали ГК при разных значениях рН. Вначале ГК подкисляли до рН 2 добавлением либо HCl, либо органической кислотой (уксусной или муравьиной). Затем рН последовательно увеличивали добавлением КОН и проводили гель-хроматографический эксперимент. На выходе колонки, в области низких и нейтральных значений рН наблюдали в случае использования минеральной кислоты высокомолекулярный пик, в случае органических кислот — выход препарата с низкомолекулярным пиком. Авторы объясняют наблюдаемое явление тем, что низкомолекулярные органические кислоты, в отличие от минеральных, разрывают водородные и гидрофобные связи (супрамолекулярные) и высвобождают отдельные молекулы ГК с низкой молекулярной массой. На основе полученных данных был сделан вывод, что ГВ в целом, как и ГК, в частности, представляют собой супрамолекулярную систему: совокупность молекул с относительно небольшой молекулярной массой (порядка нескольких сотен Да), объединенных в некую мицеллоподобную структуру водородными и гидрофобными связями [22, 23]. Однако рассмотрение методики хроматографического эксперимента дает право усомниться в корректности сделанных выводов. Как было показано в работе Перминовой [21], ис-

пользование сильной минеральной кислоты для установки рН 2 в растворе ГВ изменяет его ионную силу только на 0.026 М, в то время как при использовании слабой органической кислоты (уксусной) содержание веществ в системе увеличивается на 4.3 М. Таким образом получаются две системы, сравнивать которые некорректно.

Более того, при элюировании ГК, рН которых устанавливали соляной кислотой, в условиях боратного буфера, на них создается большой отрицательный заряд, аналогичный заряду геля, и в результате они выталкиваются из колонки на “мертвом” объеме вследствие электростатического отталкивания [2]. С другой стороны, при установлении рН 2 органической кислотой, в условиях высокой ионной силы (4.3 М), гуминовые вещества гидрофобируются и сорбируются прямо в колонке (эффект высаливания). Далее, так как промывка ведется щелочным боратным буфером, сорбированные ГК растворяются и постепенно выходят из колонки; таким образом, пик их выхода приходится на область низкомолекулярных значений [21]. Таким образом, работы Пикколо [22, 23] не дают достаточных оснований относить ГВ к супрамолекулярным соединениям. Тем не менее, эта концепция поддерживается рядом ученых. В 2005 г. вышел критический обзор, в котором отдается предпочтение “супрамолекулярной теории” строения ГВ [25]. Основным аргументом для этой позиции авторы приводят вышеизложенные подходы Пикколо с соавт. Кроме того, приводятся данные о существовании макромолекул в составе ГВ, являющиеся преобразованными биомолекулами (производные липидов, лигнина, нелигнинных ароматических веществ, углеводов и протеинов), что не противоречит “макромолекулярной модели”. Еще одним доказательством “супрамолекулярной теории” авторы считают данные ¹⁵N-ЯМР, спектроскопии, демонстрирующие преобладание в ГВ аминных и амидных форм азота над гетероциклическими. Однако нет никаких оснований считать невозможным существование этих соединений в гуминовой макромолекуле. Так, например Кононова в приводимых ею схемах возможных путей гумусообразования, в частности, показывает и присоединение аминокислот к пирокатехинам с сохранением аминокислотной группы [6].

Таким образом, современные данные о строении и структуре ГВ в целом, и ГК, в частности, свидетельствуют о том, что это скорее “молекулярный ансамбль” макромолекул. Однако всегда следует иметь в виду, что в составе ГВ присутствуют и молекулы с относительно небольшой молекулярной массой.

При рассмотрении ГВ в качестве природных гидрофобно-гидрофильных соединений [7] можно выделить следующие закономерности: в горизонтах гумификации для гумидных ландшафтов в ряду подзолистая Al-Fe-гумусовая – торфяно-глеевая – серая лесная почвы идет нарастание доли гидрофобных компонентов; также для почв семиаридного климата отмечено большее содержание гидрофобных компонентов в темно-каштановой почве по сравнению с черноземами.

Данные о зональных особенностях распределения кислородосодержащих функциональных групп ГК – карбоксильных и фенольных – противоречивы и не позволяют установить четкой генетической закономерности [10]. Это связано с близкими значениями кислотных констант этих групп и, как следствие, с трудностью установления точки эквивалентности при титровании [10]. Проблема осложняется артефактами различных аналитических методов при их применении для столь сложного объекта, как ГК [11].

Помимо ароматических фрагментов и функциональных групп в состав ГК входит довольно много алифатических замещенных и незамещенных структур. Однако закономерности их распределения в ГК зонального ряда практически не изучены. В первую очередь это связано с трудностью количественного определения этих фрагментов. Однако в настоящее время появляются новые методы анализа органических веществ, с помощью которых можно получить новые данные о строении вещества.

Одним из таких методов, сравнительно недавно адаптированных для изучения строения гуминовых веществ в целом, и ГК в частности, является спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) на ядрах ^{13}C . Регистрация ^{13}C -ЯМР-спектров ГВ в водно-щелочном растворе в режиме устранения ядерного эффекта Оверхаузера и при достаточных временах релаксационной задержки позволяет получать количественную информацию о распределении углерода по структурным группам в молекулах ГК [5, 20]. Например, на основе данных, полученных этим методом для ряда ГК поверхностно оглееной суглинистой почвы, алтайского южного чернозема и каштановой почвы, можно отметить уменьшение содержания алифатических и полисахаридных фрагментов, увеличение содержания ароматического углерода, а также углерода, связанного с карбоксильными и эфирными группами [28].

Следует отметить, что ^{13}C -ЯМР несет информацию только об атоме углерода и его окружении и не позволяет напрямую судить о таких струк-

турных показателях, как молекулярная масса и взаимное расположение фрагментов.

Широко распространенный метод ^{13}C -ЯМР-спектроскопии твердофазных образцов, наряду с очевидными преимуществами (большими по сравнению с растворами концентрациями образцов и меньшим временем релаксации), имеет существенные недостатки, основной из которых – значительное недоопределение атомов углерода в ароматических фрагментах ГК, что делает получение количественных спектров ГК в твердой фазе очень сложной задачей [11, 24, 27]. По указанной причине для получения количественной структурной информации применяется жидкофазный вариант спектроскопии ЯМР ^{13}C [5, 18, 20, 24]. Спектроскопия ЯМР на ядрах ^{13}C в растворе позволяет описать распределение углерода в молекулах ГК по структурным фрагментам, отличающимся по химическим сдвигам составляющих их ядер углерода. Таким образом, появляется возможность выявить закономерности распределения структурных фрагментов в ГК зональных почв и получить новые количественные данные об изменении строения ГК в зависимости от условий гумусообразования. С одной стороны, это позволит уточнить данные об изученных ранее структурных единицах ГК (функциональные группы и ароматические структуры), с другой, будут получены новые данные о зональных тенденциях состава алифатической части молекул ГК.

Целью работы было изучение структуры углеродного скелета ГК непрерывного зонального ряда от дерново-подзолистых почв до черноземов методом спектроскопии ЯМР на ядрах ^{13}C в жидкой фазе.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Отбор и характеристика почвенных образцов. Для выделения препаратов ГК использовали образцы почв непрерывного зонального ряда: дерново-подзолистых (2 образца), серую лесную (1 образец), черноземов (2 образца).

Почвенный образец был составлен из пяти индивидуальных образцов. Индивидуальные пробы (каждая проба составляла около 2 кг) отбирали с участка площадью примерно 5 м² из верхнего гумусово-аккумулятивного горизонта (A1) на глубине 5–15 см.

Из полученного образца (около 10 кг) методом квартования был создан средний образец (1.5 кг), из которого были отобраны крупные корни, образец был перетерт и пропущен через сито с диаметром ячеек 1 мм.

Таблица 1. Некоторые физико-химические характеристики почв, из которых выделяли гуминовые кислоты

Почва	С орг, %	С гк/С фк	pH водный
Дерново-подзолистая легкосуглинистая целинная, Московская обл. (2003 г.)	2.77	0.4	4.7
Дерново-подзолистая легкосуглинистая целинная, Московская обл. (2004 г.)	2.04	1.0	4.7
Серая лесная легкосуглинистая целинная, Тульская обл.	1.61	1.1	6.6
Чернозем типичный, тяжелосуглинистый, ежегодно косимая степь, Курская обл.	5.52	1.7	6.8
Чернозем типичный тучный тяжелосуглинистый, залежь, Воронежская обл.	8.33	2.1	6.8

Образцы дерново-подзолистых целинных почв (классификация 1977 г. [4]) отбирали дважды: в 2003 и 2004 гг. на участке хвойного леса территории УОПЭЦ “Чашниково” в Московской обл.

Образцы серой лесной целинной почвы (классификация 1977 г. [4]) отбирали в Тульской обл. на участке широколиственного леса Тульских засек, в Крапивинском заказнике (№ 45) по маршруту следования летней зональной практики факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова.

Образцы чернозема типичного (классификация 1977 г. [4]) отбирали в Центрально-черноземном государственном биосферном заповедника им. Алехина (ЦЧГЗ) Курской обл. на участке ежегодно косимой степи.

Чернозем типичный тучный (классификация 1977 г. [4]) отбирали на залежном участке недалеко от Хреновского конного завода Воронежской обл. по маршруту следования зональной практики факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова.

Образцы почв были охарактеризованы [1, 9] по содержанию органического углерода, показателю С гк/С фк (который определялся по схеме Пономаревой–Плотниковой) и pH (табл. 1). Также было проведено определение содержания физической глины (частиц <0.01 мм) на основе которого почвы были классифицированы [13] по гранулометрическому составу (табл. 1).

В ряду изученных почв содержание органического углерода изменялось от 1.59 до 8.33%, что в целом соответствует приводимым в литературе пределам [15]. Однако следует отметить относительно высокое содержание органического углерода в дерново-подзолистых почвах, однако эти значения

укладываются в приводимые в литературе рамки для целинных почв этого подтипа [12, 15].

В почвах от дерново-подзолистых через серую лесную к черноземам закономерно возрастают показатели С гк/С фк и pH, что характерно для рассматриваемого зонального ряда [15]. В целом физико-химические показатели отобранных образцов характерны для исследуемых зональных типов почв.

Выделение и характеристика препаратов Г.К. Гуминовые кислоты выделяли согласно методу, рекомендованному Международным гуминовым обществом (International Humic Substances Society – IHSS) [26]. Единственное отличие состояло в том, что щелочные экстракции проводили не в атмосфере азота, а на обычном воздухе.

Элементный состав определяли на элементном анализаторе модели 1106 фирмы Carlo Erba Strumentazione (Италия). Содержание гигроскопической воды во всех препаратах принимали равным 8% [11]. Зольность выделенных ГК определяли методом ручного сжигания в кварцевых трубках в атмосфере кислорода при температуре 750°C в течение 40 мин. Содержание кислорода рассчитывали по разности между массой беззольной безводной навески и суммарным содержанием С, Н, N.

Распределение углерода ГК по структурным фрагментам, определяли методом спектроскопии ЯМР ¹³C [5]. Образцы ГК для ЯМР-исследования готовили растворением навески (50 мг) в 0.6 мл 0.3 М NaOD/D₂O. Смесь помещали в ультразвуковую баню на 30 мин, далее центрифугировали 5 мин при 10000 об./мин, раствор отделяли от

Таблица 2. Элементный состав ГК исследованных почв

ГК почв	Элементный состав, % (масс)*				Атомные отношения			Зольность, %
	С	Н	N	O	H/C	O/C	C/N	
Дерново-подзолистых								
2003 г.	51.3	4.9	5.2	38.6	1.15	0.56	11.6	14.9
2004 г.	55.8	4.9	6.0	33.2	1.06	0.48	10.9	2.0
Серой лесной	56.7	4.3	5.8	30.7	0.91	0.41	11.4	10.0
Черноземов								
типичного	56.3	3.3	3.9	36.6	0.70	0.49	16.9	2.1
типичного тучного	61.2	2.7	4.5	31.6	0.59	0.4	15.7	7.0

* В расчете на беззольную и безводную пробу. Содержание гигроскопической воды во всех препаратах принимали равным 8% [11].

осадка и переносили в ампулу для ЯМР-спектроскопии диаметром 5 мм. Спектры ЯМР ^{13}C регистрировали на спектрометре “Avance 400” компании “Bruker” (Германия) с рабочей частотой 100 МГц для ядер ^{13}C в режиме INVGATE, используя импульсную последовательность CPMG с первым импульсом последовательности 90° , временем регистрации сигнала спада свободной индукции 0.2 с и временем релаксационной задержки 7.8 с. Продолжительность одного ЯМР эксперимента составляла порядка 12 ч.

Зарегистрированные сигналы спада свободной индукции для улучшения соотношения “сигнал–шум” подвергали умножению на спадающую экспоненту с параметром уширения спектральной линии (lb) 100 Гц и последующему преобразованию Фурье для перевода сигнала с разверткой по времени в спектр с разверткой по частоте, измеряемой в миллионных долях (м.д.) от несущей частоты спектрометра (100 МГц для ядер ^{13}C). Указанную обработку и преобразование спектров осуществляли при помощи программного обеспечения “MestReC” одноименной компании. Интегрирование спектров по интервалам осуществляли, используя программное обеспечение “GelTreat” (© А.В. Кудрявцев).

Распределение атомов углерода по различным структурным фрагментам определяли интегрированием соответствующих спектральных областей. В спектре делали следующие отнесения согласно [5] (м.д.):

220–187 – углерод кетонных и хинонных групп (C=O);

187–165 – углерод карбоксильных, сложноэфирных и амидных групп ((>CO)–O,N);

165–145 – углерод O, N-замещенных ароматических фрагментов (C_{Ar}–O,N);

145–108 – углерод незамещенных и C-замещенных ароматических фрагментов (C_{Ar});

108–90 – углерод, связанный простыми связями с двумя гетероатомами (кислород или азот); в составе гуминовых веществ; представлен в основном ацетальным углеродом в циклических полисахаридах (OC–O,N);

90–48 – углерод, связанный простой связью с гетероатомом и, в основном, входящий в состав углеводных единиц; в этой спектральной области дополнительно выделили интервалы 90–64 – вторичные атомы углерода (CH–O,N); 64–58 – первичные атомы (CH₂–O,N) и 58–48 метоксильный углерод (CH₃O);

48–5 – углерод алифатических (алкильных) фрагментов, не связанных с гетероатомами (CH_n).

Полученные данные по строению препаратов использовали для выявления зональных особенностей строения ГК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

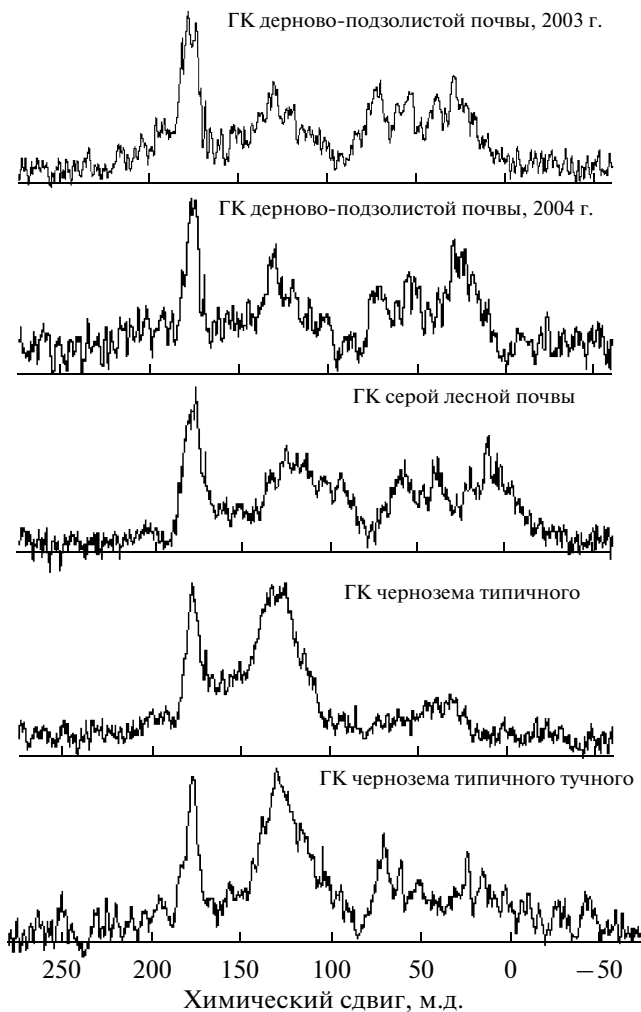
Показатели элементного состава изучаемых ГК приведены в табл. 2. Содержание углерода ГК возрастало в ряду от дерново-подзолистых до черноземов. Показатель изменялся от 51.3 (ГК дерново-подзолистой почвы 2003 г. отбора) до 61.2% (ГК тучного чернозема). Следует отметить, что в ГК серой лесной почвы углерода было несколько (на 0.4%) больше, чем в типичном черноземе.

Содержание водорода закономерно уменьшалось в рассматриваемом ряду (от 4.9 до 2.7%). Содержание кислорода было максимальным в ГК дерново-подзолистой почвы 2003 г. отбора, минимальное — в ГК серой лесной почвы. В рассматриваемом ряду не наблюдалось четкого уменьшения содержания кислорода в ГК от дерново-подзолистых до черноземов. По-видимому, этот показатель менее характерен для зональных ГК чем содержание углерода или кислорода. Необходимо отметить, что схожие тенденции можно наблюдать и в результатах, приводимых другими авторами [3, 17, 28]. Вероятно, это связано с тем, что кислород больше входит в состав периферических функциональных групп, которые сильнее подвержены изменению, чем “ядро” ГК, и таким образом содержание кислорода в ГК будет зависеть не столько от зональных, сколько от локальных факторов.

Содержание азота в ГК дерново-подзолистых почв составило 5.2–6.0, серой лесной почвы — 5.8, черноземов — 3.9–4.5%.

Атомное отношение водорода к углероду в рассматриваемом зональном ряду ГК закономерно уменьшалось от 1.15 до 0.59, что соответствует природно-географическим изменениям условий гумусообразования, отражающимся в возрастании доли ароматических структур в составе ГК и уменьшении отношения Н/С [10]. При этом для отношения О/С трудно выделить какие-либо зональные закономерности. Для ГК дерново-подзолистых почв этот показатель составил 0.48–0.56, в ГК серой лесной 0.43, а черноземах 0.40–0.49. Это можно объяснить тем, что, с одной стороны, степень окисленности ГК возрастает в зональных почвах от севера к югу [10], с другой — в ГК дерново-подзолистых почв более развита периферическая часть, содержащая больше функциональных групп, обогащенных кислородом и, как уже указывалось, большей зависимостью содержания кислорода в ГК от локальных факторов.

Показатель С/Н незначительно возрастал в ГК при переходе от дерново-подзолистых (10.6–11.6) к серым лесным (12.0) почвам и далее существенно увеличивался в черноземах (15.7–16.9).



¹³С-ЯМР спектры ГК исследованных почв (интенсивность сигнала нормирована на максимальный сигнал каждого спектра).

Кроме того, необходимо отметить неплохую воспроизводимость данных: при отборе образцов дерново-подзолистой почвы на одном участке, но в разные годы, для выделенных из них ГК отношения Н/С отличались на 0.09, О/С — на 0.08, а С/Н — на 0.71. Большее различие последнего показателя объясняется тем, что, во-первых, азот более мобилен в почве в целом и в ГК, в частности, и, во-вторых, определение азота в ГК обычно имеет большую ошибку, чем углерода и водорода, что связано с меньшим содержанием элемента в ГК.

В целом выделенные препараты по данным элементного анализа представляют собой типичные ГК соответствующих зональных почв [10, 16].

Таким образом показано, что используемые в работе препараты ГК вполне характерны для зональных почв, из которых они выделены. Это дает воз-

Таблица 3. Распределение углерода по структурным фрагментам в ГК (% от С общ)

ГК почв	Спектральные области, м.д.									Дескрипторы строения	
	5–48	48–58	58–64	64–90	90–108	108–145	145–165	165–187	187–220	ΣC_{carb}^*	$\Sigma C_{Ar}/\Sigma C_{Al}^{**}$
	СНп	СН ₃ О	СН ₂ О	СНО	ОСО	С _{Ar}	С _{ArO}	СОО	С=О		
Дерново-подзолистых											
2003 г.	21	6	3	12	5	20	7	18	6	22	0.6
2004 г.	24	6	3	10	4	20	7	16	10	19	0.6
Серой лесной	16	4	2	8	2	35	13	19	1	14	1.5
Черноземов											
типичного	9	2	1	3	4	44	13	19	4	6	2.9
типичного тучного	13	4	3	8	2	41	11	16	3	14	1.8

* Сумма карбогидратов (58–108 м.д.).

** Степень ароматичности.

возможность изучать их структуру методом ¹³С-ЯМР спектроскопии в качестве типичных представителей зональных почв России.

Полученные ¹³С-ЯМР спектры приведены на рисунке.

Количественная оценка распределения спектральной интенсивности в спектрах ¹³С ЯМР для исследованных ГК приведена в табл. 3.

Как можно видеть, спектры ГК обеих изученных дерново-подзолистых почв весьма схожи между собой. При рассмотрении зонального ряда от дерново-подзолистых почв до черноземов четко видно нарастание в спектре площади пиков ароматической области (165–108 м.д.) и уменьшение содержания незамещенного алифатического углерода (48–5 м.д.). Сигналы в области углерода углеводных фрагментов (90–48 м.д.) более выражены в ГК дерново-подзолистых почв, нежели серой лесной почвы или черноземов. На всех спектрах в области 187–165 м.д. четко выделяются резонансы карбоксильного углерода, однако зависимости от зональной принадлежности ГК не просматривается.

Численное значение содержания алифатического углерода (СНп) отчетливо уменьшается от ГК дерново-подзолистых почв через серую лесную к черноземам, максимальная разница составляет 15%. Также видна устойчивая тенденция увеличения в рассматриваемом ряду содержания углерода незамещенных ароматических фрагментов от 20% в ГК дерново-подзолистых почв до 44% в типичном черноземе. Отмеченная особенность подтверждает предположение об уменьшении доли периферийных фрагментов и увеличении количества ароматических структур в молекулах ГК при изменении условий гумусообразования от тяжелых к лесостепным и степным [10]. Вероятно, это связано с характером растительных остатков, формирующих гумусовый горизонт и типами микробных сообществ. В случае дерново-подзолистой почвы, формирующейся в условиях тайги, основным источником органического вещества является обогащенный лигнином опад хвойных деревьев. Соответственно, доминируют микробные сообщества, специализирующиеся на переработке, в первую очередь, лигнина. Предположительно в связи с этим, идет относительное на-

копление алифатических и углеводных структур. Кроме того, так как в тайге преобладает наземный опад, по-видимому, по другому формируются органо-минеральные связи.

В случае серых лесных почв и черноземов основной опад формируется *in situ* с корнями растений, и быстрее чем наземный опад, вступает во взаимодействие с минеральной частью почвы. Кроме того, в нем больше целлюлозы в сравнении с хвойным опадом [14]. Поэтому микробные сообщества этих почв вероятно “специализируются” преимущественно на разложении целлюлозы, и следовательно идет относительное накопление дериватов лигнина — ароматических компонентов.

В отношении замещенного ароматического углерода, входящего, в основном, в состав фенольных фрагментов не наблюдается четкой зональной тенденции. Можно отметить, что этот показатель меньше у ГК дерново-подзолистых почв (7%) по сравнению с остальными (11–13%). Для ГК серой лесной почвы и типичного чернозема показатель составляет 13%, а для ГК тучного чернозема — 11%. Как можно видеть, ГК серой лесной почвы и черноземов весьма близки по содержанию фенольных фрагментов. Возможно, это связано с тем, что по биоклиматическим условиям гумусообразования серые лесные почвы ближе к черноземам, чем к дерново-подзолистым почвам.

Этим же предположением можно объяснить отсутствие четких отличий между ГК черноземов и серой лесной почвы по содержанию суммы углеводных фрагментов (ΣC_{carb}). В целом этот показатель составил 6% для чернозема типичного и 15%, для чернозема тучного, а для серой лесной почвы — 14%. В то же время содержание “углеводного” углерода в ГК дерново-подзолистых почв было существенно больше (19–22%). Содержание отдельных фракций углеводных фрагментов в подавляющем большинстве случаев выше в ГК дерново-подзолистых почв. Вероятно из-за менее интенсивного биологического круговорота в дерново-подзолистых почвах полисахаридные остатки не полностью перерабатываются микроорганизмами, и часть их попадает в состав ГК. Кроме того, в ГК дерново-подзолистых почв отмечается больше углерода кетонных и хинонных групп.

Особо следует отметить, что содержание углерода карбоксильных, сложноэфирных и амидных групп (интервал 165–187 м.д.), который в ГК в основном представлен карбоксильным углеродом, во всех рассматриваемых препаратах примерно одинаково и варьирует от 16 до 19%. Возможно, в рассматриваемом ряду почв содержание карбоксильных фрагментов довольно стабильно; этим

объясняется отсутствие ярко выраженной зональной закономерности в их распределении, что отмечалось и предыдущими исследователями [10]. С другой стороны, для прояснения данного вопроса необходимы дальнейшие исследования с сопоставлением результатов ^{13}C -ЯМР спектроскопии с данными потенциометрического титрования функциональных групп ГК.

Следует отметить разницу в строении углеродного скелета двух исследованных черноземов: типичного и тучного. ГК тучной разновидности чернозема содержат больше алифатического углерода. Также в ГК тучного чернозема в два раза больше карбогидратных фрагментов, причем метоксильного углерода (CH_3O) больше в два раза, первичного углерода (CH_2O) — в три раза, а вторичных атомов (CHO) более чем в 2.5 раза. По этим показателям ГК тучного чернозема были ближе к ГК серой лесной почвы.

Большее содержание карбогидратов в ГК типичного тучного чернозема по сравнению с типичным черноземом можно объяснить меньшей трансформацией растительных остатков при их образовании, вероятно вызванной микроклиматическими особенностями, способствующей консервации гуминовых веществ. Это может быть например промораживание гумусово-аккумулятивного горизонта или оптимальный баланс весеннего промачивания и летнего иссушения [19], вследствие чего интенсивность разложения органического вещества в тучном черноземе меньше, соответственно в нем накапливается больше гумуса, однако характеристики его ГК отличаются от наиболее глубоко преобразованных ГК чернозема ежегоднокосимой степи, в последних меньше карбогидратов и алифатических фрагментов.

Таким образом, можно предположить, что условия, способствующие консервации органического вещества и формированию тучных черноземов, отражаются в относительно большем содержании карбогидратных фрагментов ГК.

Степень ароматичности ГК ($\Sigma C_{Ar}/\Sigma C_{Al}$), представляющая собой отношение суммы ароматического углерода к сумме алифатических фрагментов, которая отражает гидрофобно-гидрофильный баланс в ГК закономерно возрастает от ГК дерново-подзолистых почв (0.6) до черноземов, достигая значения 2.9 в типичном черноземе. Причем в тучном черноземе этот показатель меньше (1.8), что отражает большее содержание в нем менее разложенных гидрофильных структур (в первую очередь целлюлозных остатков). Нарастающая с севера на юг гидрофобность хорошо согласуется с данными, полученными методом гидрофобной хроматографии [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные ^{13}C ЯМР-спектроскопические исследования структуры ГК целинных или залежных почв зонального ряда от дерново-подзолистых почв до черноземов показали, что наиболее значимыми зональными показателями структуры углеродного скелета ГК являются содержания незамещенного алифатического углерода и незамещенного ароматического углерода. Причем первый показатель в рассматриваемом ряду уменьшается, а второй — увеличивается. Также в рассматриваемом ряду возрастает степень ароматичности ГК, отражающая их гидрофильно-гидрофобный баланс.

Структура ГК серой лесной почвы гораздо ближе к черноземам, чем к дерново-подзолистым почвам, что указывает на схожесть биотермодинамических условий гумусообразования в этих почвах.

В ГК дерново-подзолистых почв, в отличие от серых лесных и черноземов, больше углерода, относящегося к углеводным фрагментам, что указывает на большую роль полисахаридов в формировании ГК в этих почвах.

ГК тучного чернозема по сравнению с ГК типичного содержат больше алифатических и карбогидратных фрагментов. Возможно это связано с тем, что интенсивность разложения органического вещества в тучном черноземе меньше, соответственно накапливается больше гумуса, однако характеристики его ГК отличаются от наиболее глубоко преобразованных ГК чернозема ежегоднокосимой степи. Меньшая интенсивность разложения органического вещества вероятно обусловливается микроклиматическими особенностями формирования тучного чернозема.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Аринушкина Е.В.* Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970. 488 с.
2. *Беленький Б.Г., Виленчик Л.З.* Хроматография полимеров. М.: Химия, 1978. 290 с.
3. *Бельчикова Н.П.* Некоторые закономерности содержания, состава гумуса и свойств гуминовых кислот в главнейших группах почв Союза ССР // Тр. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 1951. Т. XXXVIII. С. 33–58.
4. Классификация и диагностика почв СССР. М.: Колос, 1977. 223 с.
5. *Ковалевский Д.В., Пермин А.Б., Перминова И.В., Петросян В.С.* Выбор условий регистрации количественных ^{13}C ЯМР-спектров гумусовых кислот // Вестн. Моск. ун-та. 2000. Сер. 2. Химия. Т. 41. № 1. С. 39–42.
6. *Кононова М.М.* Органическое вещество почвы. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 315 с.
7. *Милановский Е.Ю.* Гумусовые вещества почв как природные гидрофобно-гидрофильные соединения М.: ГЕОС, 2009. 186 с.
8. *Орлов Д.С., Бирюкова О.Н., Суханова Н.И.* Органическое вещество почв Российской федерации. М.: Наука, 1996. 256 с.
9. *Орлов Д.С., Гришина Л.А.* Практикум по химии гумуса. М.: Изд-во МГУ, 1981. 272 с.
10. *Орлов Д.С.* Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1990. 325 с.
11. *Перминова И.В.* Анализ, классификация и прогноз свойств гуминовых кислот. Дис. ... док. хим. н. М.: Моск. ун-т, 2000. 359 с.
12. Подзолистые почвы центральной и восточной частей европейской территории СССР (на суглинистых почвообразующих породах) / Под ред. А.А. Роде, Н.А. Ногиной, И.В. Забоевой. М.: Наука, 1980. 301 с.
13. Пособие по проведению анализов почв и составлению агрохимических картограмм. М.: Россельхозиздат, 1969. 328 с.
14. Почвоведение. Почвы и почвообразование / Под ред. В.А. Ковды, Б.Г. Розанова. М.: Высшая школа, 1988. Ч. 1. 400 с.
15. Почвоведение. Типы почв, их география и использование / Под ред. В.А. Ковды, Б.Г. Розанова. М.: Высшая школа, 1988. Ч. 2. 368 с.
16. *Тюрин И.В.* Органическое вещество почвы и его роль в плодородии. М.: Наука, 1965. 320 с.
17. *Хавкина Н.В., Бессарабова А.А.* Природа, состав и свойства гуминовых кислот пахотных почв юга дальнего востока // Изв. СО АН СССР. Сер. биологических наук. 1983. Вып. 3. № 15. С. 16–20.
18. *Холодов В.А., Константинов А.И., Беляева Е.Ю., Куликова Н.А., Кирюшин А.В., Перминова И.В.* Строение гуминовых кислот, извлекаемых в ходе последовательной щелочной экстракции из чернозема // Почвоведение. 2009. № 10. С. 1177–1183.
19. Черноземы СССР / Под ред. В.М. Фридланда, И.И. Лебедевой. М.: Колос, 1974. Т. I. 560 с.
20. *Hertkorn N., Permin A.B., Perminova I.V., Kovalevskii D.V., Yudov M.V., Kettrup A.* Comparative analysis of partial structures of a peat humic and fulvic acid using one and two dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy // J. Environ. Qual. 2002. V. 31. P. 375–387.
21. *Perminova I.V.* Size exclusion chromatography of humic substances: Complexities of data interpretation attributable to non-size exclusion effects // Soil Sci. 1999. V. 164. P. 834–840.
22. *Piccolo A.* New insights on the conformational structure of humic substances as revealed by size exclusion chromatography // The role of humic substances in the ecosystems and in environmental processes Eds.: J. Drozd, S. S. Gonet, N. Senesi, J. Weber. IHSS-Polish

- Society of Humic Substances, Wroclaw, Poland, 1997. P. 19–35.
23. *Piccolo A., Nardi S., Concher G.* Macromolecular changes of humic substances induced by interaction with organic acids // *European J. Soil Sci.* 1996. V. 47. P. 319–328.
24. *Preston C.M.* Applications of NMR to soil organic matter analysis: History and prospects // *Soil Sci.* 1996. V. 161. P. 144–166.
25. *Sutton R., Sposito G.* Molecular structure in soil humic substances: The New View // *Environ. Sci. and Tech.* 2005. V. 39. № 23. P. 9009–9015.
26. *Swift R.S.* Organic matter characterization (chap 35) // *Methods of soil analysis.* Madison, WI: Soil Science Society of America, 1996. Part 3. P. 1018–1020.
27. *Thorn K.A.* Nuclear-magnetic-resonance spectrometry investigations of fulvic and humic acids from the Suwannee river // *Humic substances in the Suwannee river, Georgia: Interactions, properties, and proposed structures* / Eds.: R.C. Averett, J.A. Leenheer, D.M. McKnight, K.A. Thorn. U.S. Geological survey. Water-supply paper. Denver, 1994. P. 141–182.
28. *Tikhova V.D., Fadeeva V.P., Dergacheva M.I., Shakirov M.M.* Analysis of humic acids from various soils using acid hydrolysis // *Russian J. of Applied Chemistry.* 2008. V. 81. № 11. P. 1957–1962.
29. *Wershaw R.L.* A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in soil-water and sediment-water systems // *J. Contam. Hydrol.* 1986. № 1. P. 29–45.