

УДК 543.641: 631.417: 631.87941

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ^{13}C ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ В ИССЛЕДОВАНИИ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ВЕРМИКОМПОСТОВ РАЗЛИЧНОГО СРОКА СОЗРЕВАНИЯ

Юшкова Е.И.

*ГОУ ВПО Орловский государственный университет,
Медицинский институт, Орел*

Подробная информация об авторах размещена на сайте
«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

Методом ЯМР-спектроскопии исследовали качественный и количественный состав гуминовых кислот выделенных из вермикомпостов различного периода созревания. Были идентифицированы и количественно определены следующие функциональные группы и молекулярные фрагменты: ароматические (- Ar), карбоксильные (-COOH), карбонильные (-C=O), алкильные (-CH₃, -CH₂, -CH), O-замещенные алифатические атомы углерода (Alk-O). Анализ молекулярной структуры препаратов гуминовых кислот показал, что с увеличением периода вермикомпости-рования увеличивается содержание O-алкильных функциональных групп (с 15% до 33%) и уменьшается доля ароматических молекулярных фрагментов (с 34% до 20%). По содержанию карбонильных фрагментов исследованные образцы практически не различались.

Одной из актуальных проблем настоящего времени является изучение структуры биогумуса, а так же состава и свойств препаратов гумусовых кислот. Проблема преобразования органического вещества биогумуса, несмотря на многочисленные работы в этой области, требует дальнейшего исследования.

Использование метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР) открывает новые возможности в идентификации органических соединений, позволяет получить количественные данные о структурных фрагментах гуминовых кислот.

Препараты гуминовых кислот для ^{13}C ЯМР-спектроскопии были выделены из образцов вермикомпостов (капролитов червя «Старатель») на основе конского компоста. Вермикомпостирование проводили в течении полутора (образец – 1), трех (образец - 2) и шести (образец – 3) месяцев. В качестве контроля использовали конский компост (образец - 0).

Гуминовые кислоты выделяли по следующей методике. Из образцов были взяты навески с расчетом, чтобы в них содержалось по 5 г сухого вещества. К навескам, помещенным в центрифужные

стаканы, было добавлено по 50 мл 0,1 N раствора HCl. Суспензии были перемешаны в течение 30 минут магнитной мешалкой и отцентрифугированы при 2500 g в течение 20 минут. При такой процедуре в экстракт переходили соли и карбоксигидраты. После центрифугирования, супернатанты отбрасывали, а осадки помещали в колбы со шлифом, добавляли по 50 мл 0,1 M раствора NaOH и доводили pH до 12,5 1 M раствором NaOH при перемешивании, контролируя pH на pH-метре. Через растворы пропускали азот, колбы закрывали и суспензии оставляли на 24 часа для экстракции гуминовых кислот.

После экстракции суспензии центрифугировали при 2500g в течение 20 мин. Осадки использовали для дальнейших процедур. Супернатанты собирали в колбы со шлифом, предварительно измерив их объем, оттитровывали с помощью бюретки 6 N HCl до pH 1,5 (для разделения фульвокислот и гуминовых кислот), пропускали через них азот и оставляли на 20 часов. По истечении указанного времени, образовавшиеся осадки гуминовых кислот отделяли от надосадочной жидкости центрифугированием в течение 20 мин при

2500g, и помещали в предварительно взвешенные бюксы и высушивали над P_2O_5 в эксикаторе под вакуумом. Выше описанная процедура экстракции гуминовых кислот была проведена 11 раз.

Спектры ЯМР регистрировались на твердофазном ЯМР-спектрометре Bruker DSX 200 при резонансной частоте 50,3 МГц, контактное время 1 мсек.

Результаты ЯМР-спектроскопии позволили оценить качественный и количественный состав гуминовых кислот выделенных из вермикомпостов различного периода созревания. Были идентифицированы и количественно определены следующие функциональные группы и молекулярные фрагменты: ароматические (-Ar), карбоксильные (-COOH), карбонильные (-C=O), алкильные (-CH₃, -CH₂, -CH), O-замещенные алифатические атомы углерода (Alk-O) (рисунок 1). Максимальное содержание ароматических фрагментов было обнаружено в образце-0, минимальное в образце-3. Наименьшее содержание карбоксильных групп наблюдали в образ-

це - 3. По содержанию карбонильных фрагментов исследованные образцы практически не различались (таблица 1). Анализ молекулярной структуры препаратов гуминовых кислот показал, что с увеличением периода вермикомпостирования увеличивается содержание O-алкильных функциональных групп (с 15% до 33%) и уменьшается доля ароматических молекулярных фрагментов (с 34% до 20%). Можно предположить, что с увеличением времени «созревания» вермикомпостов происходит трансформация молекулярной структуры гуминовых кислот: разрушаются ароматические фрагменты и накапливаются более устойчивые продукты. Полученные результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями и литературными данными [1-5].

Таким образом, результаты ¹³C ЯМР-спектроскопии позволяют получить более полную структурную информацию о качественном и количественном составе препаратов гуминовых кислот.

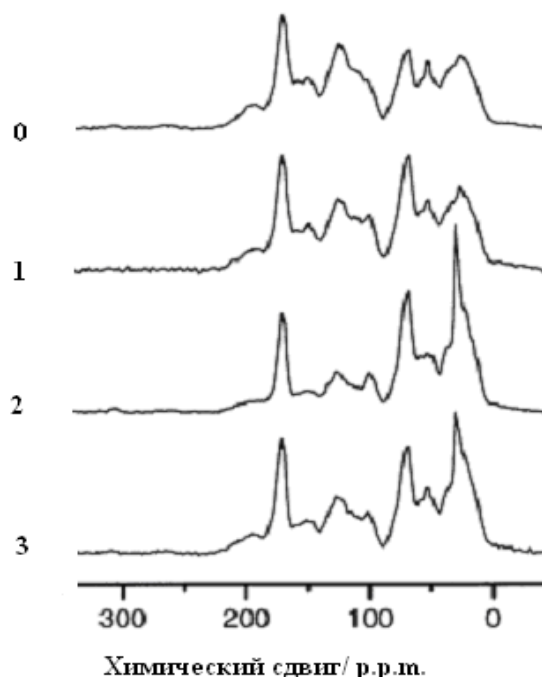


Рис. 1. ЯМР спектры гуминовых кислот из вермикомпостов различного периода вермикомпостирования: образец-0 – контроль, конский компост; образец-1 - 1,5 месяца вермикомпостирования; образец-2 - 3 месяца вермикомпостирования; образец - 3- 6 месяцев вермикомпостирования.

Таблица 1. Вклад углерода в различные функциональные группы гуминовых кислот полученных из вермикомпостов различного периода созревания

Образец*	Углерод определенный при различных р.р.м., %				
	0-45 алкильный С	45-110 О-алкильный С	110-160 ароматический С	160-185 карбоксильный С	185-220 карбонильный С
0	29	15	34	16	6
1	30	18	31	15	6
2	30	26	27	12	5
3	31	33	20	11	5

*образец-0 – контроль, конский компост; образец-1 - 1,5 месяца вермикомпостирования; образец-2 - 3 месяца вермикомпостирования; образец - 3- 6 месяцев вермикомпостирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Андреева Д.Б., Чимитдоржиева Г.Д. Использование спектроскопии ЯМР ^{13}C в исследовании структурных фрагментов ГК низинного торфа и бурого угля забайкалья.//Материалы II Всероссийской конференции «Гуминовые вещества в биосфере», 3-6 февраля 2003г.

2. Куликова Н.А. Связывающие и детоксицирующие свойства гуминовых кислот по отношению к атразину.// Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, МГУ, М. 1999.

3. Павловская Н.Е., Юшкова Е.И., Даниленко А.Н., Ботуз Н.И., Полозова Е.Ю., Борзенкова Г.А. Физико-химическая характеристика и биологическая активность биогумуса. Орел: издательство ОРАГС, 2007. 140 с.

4. Перминова И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот.//Диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук. МГУ, М. 2000 г.

5. Sotak C.H., Dumoulin C.L., Levy G.C.//Anal.Chem., 1983, № 55, P. 782-787.

THE USE OF SPECTROSCOPY METHOD IN THE STUDY OF HUMINE ACIDS OBTAINED FROM VERMICOMPOSTURES OF VARIOUS PERIODS OF RIPENING

Yushkova E.I.

“Orel State University”, Medical Institute, Orel

Qualitative and quantitative composition of humane acids excreted from vermicomposture of different periods of ripening was investigated by NMR - spectroscopy method. The following functional groups and molecular fragments were identified and defined quantitatively: aromatic (- Ar), carbocille (-COOH), carbonile (-C=O), alkile (-CH₃, -CH₂, -CH), O-substituted aliphatic atoms of carbon (Alk-O). The analysis of molecular structure preparations of humane acids showed that with the increase of vermicomposting period the content of O-alkile functional groups increases (from 15 % to 33 %) and the quota of aroma molecular fragments decreases (from 34% to 20 %). The samples investigated practically didn't differ in the amount of carbonile fragments.