

**Г. А. Соколов**, кандидат сельскохозяйственных наук

**Т. А. Шатикина**, кандидат технических наук

**С. Г. Прохоров**, младший научный сотрудник

*Институт проблем использования природных ресурсов и экологии НАНБ*

**Д. Н. Мацукевич**, инженер-физик

**Л. В. Стригуцкий**, аспирант

*Белорусский государственный университет*

УДК 631.417.2:543.422.27

## **Экологические аспекты воздействия аммиачной селитры на молекулярную структуру гуминовых кислот торфяной почвы**

*Повышение выхода водорастворимых гуминовых кислот (ГК) при внесении аммиачной селитры в торфяные почвы низинного типа происходит в основном за счет комплексов их с железом. Азотом обогащается не только периферическая, но и ароматическая часть ГК.*

**И**нтенсификация земледелия, сопряженная с возрастанием нагрузки на агросистемы, и обостряющаяся в связи с этим проблема сохранения и воспроизводства плодородия почв требуют углубленного изучения влияния средств химизации на один из основных

*Yield increase of the humic acids (HA) dissolved in waters applying ammoniac nitrate in the low moor peat soils is stipulated mainly by HA complexis with iron. Not only peripheral but aromatic parts of HA are enriched by the nitrogen.*

показателей, определяющих экологическое благополучие почвы, – состояние ее органического вещества, главным образом, гуминового комплекса.

Данные исследования посвящены оценке воздействия на гуминовые кислоты (ГК) почв водных раство-

ров амміачной селітры (1- і 0,001 нормальнай канцэнтрацыі). В якасцэ ісследуемых іспользаваны пачвы, сфарміраваныя на тростніковым ( $R = 40\%$ ,  $A^c = 11,1\%$ ) і осоковым ( $R = 20\%$ ,  $A^c = 6,5\%$ ) торфах.

Модельны лабораторны эксперымент праводзілі в кантраліруемых умовах, на элюацыйных хромаграфічных колонках, поўнасцю ісключаючых вплине мікробіоты і пачвенных ферментаў, што прадставіло магчымасць атрымаць заканамернасці атнесці к дзейству нітрату аммонія. Гуміновыя кіслоты выдзялялі по фракцыям із прамывных вод пасле абробкі пачв мінеральнымі ўдобрэннямі падкисленнем раствора с паследуючым цэнтрыфугіраваннем і отмывкой асадка от іонаў хлора. Параллельна із торфяных пачв экстрагіравалі гуміновыя кіслоты шалочным раствором пірофосфорнакіслага натрыя пры тэмпературы  $20-25^\circ\text{C}$ .

Главнай праблемай пры ісследованні ГК яўляецца практычнае адсутствіе неразрушаючых метадаў аналіза іх молекулярнай структуры [1]. В то же время новыя подходы, разработанные в ИПИПРЭ АНБ, позволяют использовать метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) для ее решения [2-4]. Принципиальной предпосылкой является то обстоятельство, что парамагнетизм ГК обусловлен не семихионными ион-радикалами, как это утверждается в литературе [5,6], а особенностями структуры основного вещества, конкретно – наличием ароматического полисопряженного ядра. Поэтому исследование молекулярной структуры ГК выполнялось в основном с использованием ЭПР-спектроскопии. Методика регистрации и обработки спектров ЭПР приведена в [2-4].

Во всех образцах регистрируется 3 основных типа сигналов ЭПР (рис.), характерных для торфяной почвы [7]. 1-узкий сигнал ( $\Delta H \sim 5\text{Гс}$ ) принадлежит органическим парамагнитным центрам (ПМЦ), 2 - широкий ( $\Delta H \sim 1000\text{Гс}$ ) с  $g=2$  обусловлен соединениями  $\text{Fe}^{3+}$  с ковалентной формой связи, 3- более узкий сигнал ( $\Delta H \sim 100\text{Гс}$ ) в низких полях ( $g=4,3$ ) – индивидуальными ионами  $\text{Fe}^{3+}$  с ионной формой связи [8].

По сравнению с классическими ГК, выделенными путем пирофосфатнощелочной экстракции, исследуемые препараты характеризуются большими значениями ширины и меньшими – интенсивности и степени насыщения сигнала органических ПМЦ СВЧ-мощностью (большее значение параметра  $A/A_0$ ), а также высокой интенсивностью сигнала  $\text{Fe}^{3+}$  с  $g=4,3$  (рис.). Большая ширина согласуется с высоким содержанием азота (табл. 1, 2). Логично предположить, что при аммонизации имеет место внедрение азота в структуру ароматического ядра. В этом случае магнитное взаимодействие неспаренного электрона с ядрами азота должно приводить не только к уширению сигнала вследствие появления дополнительного вклада неразрешенной сверхтонкой структуры (СТС), но и к повышению  $\Delta H$  с ростом СВЧ-мощности и уменьшению степени насыщения сигнала. Также обращают на себя внимание большие значения  $\Delta H$  и  $A/A_0$  у образцов,

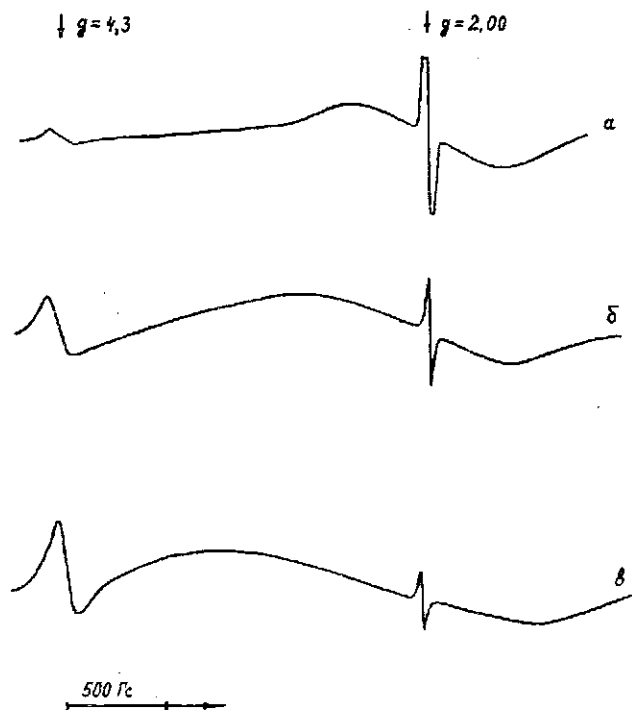


Рис. Спектры ЭПР гуминовых кислот (ГК):  
а – классические ГК; б – ГК, переходящие  
в водный раствор аммиачной селитры;  
в – торфяная почва.

полученных при обработке раствором с меньшей концентрацией селитры, что согласуется с высоким содержанием азота в данных образцах. Факт высокой эффективности слабо концентрированных растворов можно объяснить большим значением pH (5,65 для 0,001н.  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  и 4,85 для 1н.  $\text{NHNO}_3$ ), что должно способствовать связыванию азота с ароматическим ядром. Данные регрессионного анализа подтверждают выдвинутое предположение. Для  $\Delta H-f(N)$  коэффициент корреляции составляет 0,70.

В то же время для ГК, выделенных при обработке торфа аммиаком, отсутствует взаимосвязь  $\Delta H$  с содержанием азота, т.е. последний закрепляется главным образом в периферической части ГК [9].

В случае тростниковой почвы наблюдается согласие сигналов ЭПР с данными химического анализа и оптических измерений. Интенсивность коррелирует с данными электронной и ИК-спектроскопии, значениями  $S/N$ ,  $C_{ap}/C_{al}$  и содержанием функциональных групп, а ширина, степень уширения сигнала с ростом СВЧ-мощности и значение  $A/A_0$  – с содержанием азота. Полученные данные свидетельствуют о наибольшей степени ароматичности у классических ГК и слабее всего у выделенных 0,001 н.  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

В случае же осоковой почвы наблюдается более сложная картина, например, высокая интенсивность сигнала ЭПР у классических ГК, несмотря на близость данных элементного анализа и оптических измерений с остальными образцами (табл. 1, 2).

Таблица 1. Химическая характеристика гуминовых кислот

Условия выделения	Номер фракции	Элементный состав								A <sup>c</sup> , %
		C, %	H, %	N, %	O, %	C:N	H:C	O:C	Саром.:Салиф.	
Почва, развивающаяся на тростниковом торфе										
1 н	ГК общ.	49,5	5,2	4,1	41,2	13,7	1,27	0,62	1,22	3,0
0,001 н	ГК общ.	50,0	5,6	4,9	39,5	11,7	1,35	0,59	0,96	3,6
Пирофосфатно-щелочная экстракция	—	53,8	5,5	3,6	37,1	17,0	1,22	0,52	1,42	следы
Почва	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11,1
Почва, развивающаяся на осоковом торфе										
1 н	1	49,4	5,0	4,4	41,2	13,2	1,21	0,62	1,40	2,5
1 н	2	50,8	5,4	3,9	39,9	15,5	1,27	0,58	1,20	2,2
1 н	3	49,5	5,1	4,1	41,3	14,2	1,24	0,62	1,53	2,1
0,001 н	1	50,4	5,9	5,5	38,2	10,7	1,40	0,56	0,82	1,0
0,001 н	2	51,5	5,3	4,1	39,1	15,1	1,24	0,57	1,28	2,3
0,001 н	3, 4	50,6	5,1	4,3	40,0	13,4	1,21	0,59	1,46	2,0
0,001 н	5, 6	50,5	5,1	5,0	39,4	15,0	1,20	0,60	1,51	2,0
Пирофосфатно-щелочная экстракция	—	52,5	5,4	3,5	38,6	17,6	1,23	0,55	1,37	1,0
Почва	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6,5

Таблица 2. Параметры спектров ЭПР и оптическая плотность гуминовых кислот

Органические ПМЦ					Fe <sup>3+</sup>				D <sub>465</sub> <sup>0,01</sup>
ΔH, Гс P <sub>свч</sub> =0,25 мВт	ΔH, Гс P <sub>свч</sub> =50 мВт	g	I, ·10 <sup>16</sup> спин/г	A/A <sub>0</sub>	g=4,3		g=2,0		
					ΔH, Гс	I <sub>отн.</sub> , ·10 <sup>7</sup>	ΔH, Гс	I <sub>отн.</sub> , ·10 <sup>9</sup>	
5,5	6,1	2,0033	6,3	10,0	130	1,72	950	5,34	0,38
5,6	6,7	2,0033	4,6	10,5	100	0,46	1100	15,5	0,27
3,6	3,6	2,0033	88	2,45	90	0,055	1200	10,5	0,42
5,5	6,3	2,0029	12	11,25	130	1,31	850	9,57	—
6,2	7,3	2,0032	3,96	9,84	140	1,64	970	7,67	0,27
5,3	6,4	2,0034	5,16	9,42	160	1,62	960	6,53	0,26
5,0	6,0	2,0034	16,8	7,06	130	1,42	860	2,88	0,31
5,3	6,4	2,0037	17,4	4,58	160	1,15	920	8,60	0,25
5,9	7,0	2,0034	5,13	11,47	130	1,47	260	3,54	0,27
5,5	6,7	2,0033	6,60	11,05	130	1,44	920	3,90	0,39
6,4	6,4	2,0036	4,79	12,73	130	1,56	920	3,64	0,37
4,1	4,7	2,0038	58,7	1,59	130	0,305	980	7,02	0,27
6,3	6,7	2,0034	11,1	10,95	130	1,51	850	7,28	—

Примечание. 1. Нумерация образцов соответствует таблице 1.

2. A/A<sub>0</sub> — отношение амплитуд сигналов при СВЧ 50 мВт и 0,25 мВт, для ненасыщающегося сигнала A/A<sub>0</sub> ~ 15.

Для объяснений данных противоречий необходимо принять во внимание возможность влияния магнитных соединений железа. Действительно, корреляционный анализ показал хорошую взаимосвязь между параметрами сигнала органических ПМЦ и интенсивностью сигнала Fe<sup>3+</sup> с g=4,3. Для интенсивности коэффициент корреляции составил 0,79, для ΔH — 0,74 и A/A<sub>0</sub> — 0,72.

В то же время обращает на себя внимание весьма слабая корреляция с сигналом ковалентно связанного железа (g=2), хотя интенсивность его на порядок-два

выше ионносвязанного. Для I g=0,11, для ΔH—0,003, для A/A<sub>0</sub> — 0,12. Тем не менее, суммарные коэффициенты корреляции множественной регрессии (учитывающей оба сигнала Fe<sup>3+</sup>) существенно выше по сравнению с простой. Для I g=0,935, для ΔH — 0,83, для A/A<sub>0</sub> — 0,86.

В литературе известно явление падения интенсивности сигнала ЭПР ГК при сорбции парамагнитных ионов металлов [10]. Вследствие отсутствия значительного уширения сигнала ЭПР, что, как считается, должно иметь место при физическом (магнитном) взаимо-

действию ПМЦ [8], утверждается, что оно обусловлено химическим взаимодействием ПМЦ ГК с ионами [10]. Однако обратимое восстановление интенсивности при удалении ионов металлов и коррелирующие с последней изменения других параметров сигнала ЭПР:  $\Delta H$  и  $A/A_0$  (табл. 2) – противоречит данному объяснению.

Нами была проанализирована ситуация магнитного взаимодействия неэквивалентных ПМЦ, поскольку времена спин-решеточной релаксации  $T_1$  ионов  $Fe^{3+}$  значительно короче, чем у органических ПМЦ. Поэтому механизмы и результаты влияния первых на сигнал ЭПР ГК будут принципиально отличаться от ситуации взаимодействия одинаковых ПМЦ.

Квантовомеханическая теория Редфилда [11] указывает, что спин с малым временем релаксации  $T_1$  вызывает дополнительное уширение  $\delta H$  спин-пакета\* ПМЦ с большим временем релаксации, обусловленное уменьшением последнего:

$$\delta H = g\beta T_1 \left[ \langle H_z^2 \rangle + \langle H_y^2 \rangle / (1 + \omega_0^2 T_1^2) \right] / (h/2\pi), \quad (1)$$

где  $\beta$  и  $h$  – физические константы;  $\langle H_z^2 \rangle$  и  $\langle H_y^2 \rangle$  – среднеквадратичные компоненты флуктуирующего поля, создаваемого ионом в точке расположения органического ПМЦ в направлениях, параллельном и перпендикулярном постоянному магнитному полю  $H$ ;  $\omega_0$  – рабочая частота радиоспектрометра ЭПР.

С использованием этой формулы было проведено математическое моделирование влияния ионов  $Fe^{3+}$  на спектр ЭПР ПМЦ ГК. Рассматривалось однородное распределение органических ПМЦ и ионов, концентрация последних считалась меньшей. Исходная линия спин-пакета ПМЦ ГК бралась лоренцевой формы.

В результате на экран дисплея (или принтер) выводились графики спектров ЭПР органических ПМЦ при различных концентрациях ионов, нормированные на амплитуду, вычислялось  $Y'_{max}$  – абсолютная амплитуда производной поглощения,  $\Delta H$  – ширина между пиками в Гс, значения производной поглощения  $Y'$  в условных координатах ( $Y'_{max}$  равняется единице) в точках, отстоящих от резонанса на расстояниях, кратных  $\Delta H/2$ , и затем полученные значения сравнивались с аналогичными величинами для исходной линии органических ПМЦ. Эта информация также выводилась на экран дисплея (принтер). Например, для концентрации быстрорелаксирующих ПМЦ ( $T_1 = 10^{-8}$  с)  $n = 10^{19}$  сп/г и с исходной шириной сигнала органических ПМЦ  $\Delta H = 0,7$  Гс амплитуда падает в 6,45 раза при уширении в 1,34 (0,93 Гс). Значение  $Y'/Y'_{л}$ , большее единицы, свидетельствует, что спад крыльев сигнала ЭПР более пологий, чем в случае лоренцевой формы линии, считающейся предельным случаем медленного спада крыльев [8]. Поэтому вводится термин – “суперлоренцевая” форма.

Именно “суперлоренцевая” форма линии обуславливает падение регистрируемой интенсивности сигнала ЭПР, определяемой по формуле –  $Y'_{max} \cdot \Delta H^2$  [8], т.е. уменьшение амплитуды сигнала существенно выше увеличения квадрата уширения (в нашем примере  $6,45 > 1,34^2 \sim 1,80$ ). Выполненные расчеты показали, что кажущееся падение интенсивности тем больше, чем больше степень “суперлоренцевости” (параметр  $Y'(H)/Y'_{л}(H)$ ).

При всей упрощенности рассмотренная модель правильно объясняет принципиальные аспекты влияния ионов  $Fe^{3+}$ , в первую очередь значительное уменьшение степени насыщения сигнала ГК СВЧ-мощностью (возрастание параметра  $A/A_0$ ), что свидетельствует фактически об уширении спин-пакета  $\delta H$ . Выполненное рассмотрение показало существенную зависимость  $\delta H$  от расстояния между ионом  $Fe^{3+}$  и органическим ПМЦ ( $\sim 1/r^6$ ) (в случае взаимодействия одинаковых ПМЦ  $\delta H \sim 1/r^3$  [8]). Сигнал с  $g=4,3$  вероятнее всего обусловлен ионами  $Fe^{3+}$ , связанными с карбоксильными группами, значительная доля которых принадлежит ароматическим фрагментам [2–4], что объясняет близкое расположение их к органическим ПМЦ, а следовательно, и высокую эффективность по сравнению с ионами  $Fe^{3+}$ , ответственными за сигнал с  $g \sim 2$ .

Коэффициенты корреляции зависимости интенсивности и ширины сигнала ГК от  $A/A_0$  (0,82 и 0,84 соответственно) близки к коэффициентам множественной корреляции (учет обоих сигналов  $Fe^{3+}$ ). Это свидетельствует, что основным механизмом влияния соединений  $Fe^{3+}$  является их воздействие на релаксационные параметры органических ПМЦ.

Высокие значения суммарных коэффициентов множественной корреляции свидетельствуют, что ионы  $Fe^{3+}$ , ответственные за сигнал с  $g \sim 2$ , также связаны с органическим веществом. Таким образом, приведенные данные убедительно говорят о том, что водорастворимые препараты ГК, экстрагируемые при обработке торфяной почвы аммиачной селитрой, являются фактически гумино-железистыми комплексами.

Установлено высокое значение коэффициента множественной регрессии для  $\Delta H = f(Fe_{4,3}^{3+}, Fe_{2}^{3+}, N)$  ( $r=0,92$ ). Для параметра же  $A/A_0 = f(Fe_{4,3}^{3+}, Fe_{2}^{3+}, N)$  значение  $r=0,87$  не отличается от полученного для  $A/A_0 = f(Fe_{4,3}^{3+}, Fe_{2}^{3+})$ . Следовательно, если ширина сигналов ЭПР ГК определяется как вкладом неразрешенной СТС от ядер азота в ароматических структурах, так и влиянием магнитных соединений  $Fe^{3+}$ , то степень насыщения  $A/A_0$  – только последним.

Параметры спектров ЭПР самих торфяных почв близки не к классическим ГК, а к исследуемым препаратам (табл. 2, рис.). При этом обращает на себя внимание близость интенсивности и ширины сигналов ЭПР соединений  $Fe^{3+}$ , хотя зольность выделенных препаратов существенно ниже.

Очевидно, что для понимания биологической активности исследуемых препаратов необходимо при-

\* Реальный спектр ЭПР органических систем, в том числе и ГК, является суперпозицией индивидуальных линий, называемых спин-пакетами [2–4].

нимать во внимание как характер закрепления азота, так и наличие комплексов органического вещества с железом.

#### Выводы

1. Внесение аммиачной селитры в торфяную почву приводит к закреплению азота не только в периферической, но и ароматической части ГК.

2. Падение интенсивности сигнала ЭПР ГК при сорбции парамагнитных ионов металлов обусловлено не химическим, а физическим (магнитным) взаимодействием последних с ПМЦ ГК, как центров с различными временами релаксации, что существенно расширяет возможности ЭПР спектроскопии в исследовании структуры органо-минеральных комплексов.

3. В торфяных почвах низинного типа ГК находятся в основном в виде комплексов с ионами железа, которые переходят в водный раствор аммиачной селитры без разрушения структуры комплексов.

#### Литература

1. Лиштван И. И., Терентьев А. А., Базин Е. Т., Головач А. А. Физико-химические основы технологии торфяного производства. – Мн.: Наука и техника, 1983. – 232 с.
2. Стригуцкий В. П., Навоша Ю. Ю., Смычник Т. П., Бамбалов Н. Н. // Почвоведение. – 1992. – № 1. – С. 147–151.
3. Навоша Ю. Ю., Прохоров С. Г., Стригуцкий В. П., Томсон А. Э. // Почвоведение. – 1992. – № 1. – С. 109–113.
4. Лиштван И. И., Стригуцкий В. П., Бамбалов Н. Н. и др. // Весці АН БССР, сер. хім. нав. – 1990. – № 4. – С. 7–10.
5. Neto L. M., Nascimento O. R., Falanoni J., Poppi N. R. // Soil Science. – 1991, V. 151. – № 5. – P. 369–376.
6. Типикин Д. С., Лазарев Г. Г., Жорин В. А., Лебедев Я. С. // Журнал физической химии. – 1993, Т. 67. – № 9. – С. 1834–1838.
7. Лиштван И. И., Кашинская Т. Я., Стригуцкий В. П. и др. // Весці АН БССР, сер. хім. нав. – 1981. – № 5. – С. 99–106.
8. Ингрэм Д. Электронный парамагнитный резонанс в биологии. – М.: Мир, 1972. – 296 с.
9. Тишкович А. В., Бамбалов Н. Н., Шатихина Т. А. и др. // Весці АН БССР, сер. с.-г. нав. – 1982. – № 3. – С. 46–52.
10. Браташевский Ю. А., Гордиенко С. А., Пахомов Н. Н., Сличенко В. А. // Труды 4-ого Международного конгресса по торфу. – Финляндия, 1974, Т. 4. – С. 251–255.
11. Redfield A. G. // IBM J. Res. Develop. – 1957, V.1, № 1. – P. 19–31.