

## ПАРАМАГНИТНЫЕ СВОЙСТВА ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ ПОДЗОЛИСТЫХ И БОЛОТНО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ\*

© 2007 г. Е. Д. Лодыгин<sup>1</sup>, В. А. Безносиков<sup>1</sup>, С. Н. Чуков<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, 199178, Санкт-Петербург, Васильевский о-в, 16-я линия, 29

Поступила в редакцию 15.05.2006 г.

Дана количественная характеристика содержания свободных радикалов в препаратах гуминовых (ГК) и фульвокислот (ФК), выделенных из пахотных подзолистых, и целинных подзолистых, подзолисто-поверхностно-глееватых и торфянисто-подзолисто-глееватых почв. Установлено, что концентрация парамагнитных центров (КПЦ) в ГК в 1.5–5 раз больше, чем в ФК. Сельскохозяйственное использование уменьшает парамагнитную активность гумусовых соединений и способствует накоплению в пахотном горизонте биотермодинамически стабильных органических соединений.

### ВВЕДЕНИЕ

Многочисленными экспериментами в области изучения органического вещества почв [1, 6, 7, 13] доказана огромная роль свободных органических радикалов семихиноидного типа в биохимических процессах. По современным представлениям эти радикалы являются непосредственными промежуточными участниками ступенчатого окислительно-полимеризационного процесса гумусообразования в почвах [5, 8, 14].

Метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) за последние годы широко вошел в практику биохимических исследований. Весьма успешно его применяют и для изучения органического вещества почв [5, 9, 11, 12]. Метод обладает очень высокой чувствительностью и, не нарушая структуры исследуемого вещества, дает многообразную оригинальную информацию о строении веществ, содержащих свободные радикалы (СР), под которыми обычно понимают молекулы, участки молекул или атомы в их структуре, обладающие свободным (неспаренным) электроном. Свободные радикалы благодаря большому запасу энергии и своей высокой активности играют центральную роль в большинстве химических реакций между органическими, органо-минеральными и минеральными соединениями в почве [4]. Поэтому, изучая свободнорадикальную структуру различных природных биополимеров, мы можем судить о реакционной способности последних и о возможных превращениях их в той или иной среде [5]. В связи с этим изучение строения и свойств свободных радикалов в гумусовых ве-

ществах (ГВ) почв является актуальной и перспективной задачей в комплексной проблеме изучения формирования и превращений органического вещества почвы.

Выяснению природы и свойств стабильных органических свободных радикалов посвящено большое количество работ [1, 6, 12, 13]. Большинство авторов склоняется к тому, что свободнорадикальная активность – фундаментальное свойство ГВ. Поэтому изучение парамагнитных свойств почвенных органических веществ дает полезную информацию о характере связей в молекулах гумусовых соединений. Анализ результатов других исследователей показал, что на концентрацию свободных радикалов в гумусовых соединениях сильно влияние оказывают как различные зональные биоклиматические факторы, так и деятельность человека [1, 6, 12].

Целью данной работы было определение концентрации свободных радикалов в составе гумусовых веществ и установление закономерностей их содержания в почвах разной степени гидроморфизма и окультуренности.

### ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследования гумусовых веществ проведены на почвах микрокатены (типичной подзолистой, подзолистой поверхностно-глееватой, торфянисто-подзолисто-глееватой) и пахотной подзолистой. Микрокатена заложена на вершине холма на Максимовском стационаре Института биологии Коми НЦ УрО РАН в 6 км к западу от г. Сыктывкар (61°39.6' с.ш. 50°41.0' в.д.). Морфологическое описание, физико-химические и биологические свойства изученных почв опубликованы ранее [10].

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума РАН (Госконтракт № РЕС-3-7-05) и РФФИ (гранты №№ 04-04-96015-р-2004урал, 04-04-49000).

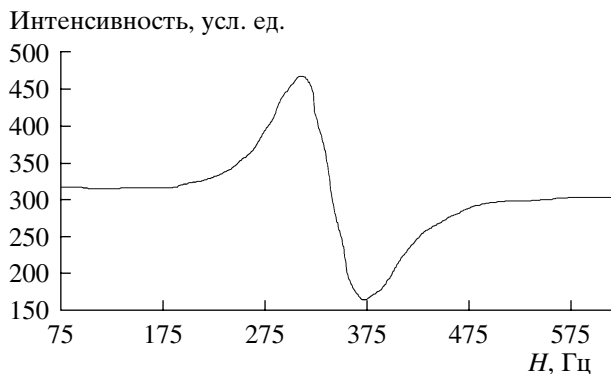


Рис. 1. Типичный ЭПР спектр гумусовых кислот, на примере препарата гуминовых кислот гор. А2g торфянисто-подзолисто-глеевой почвы ( $H$  – частота, Гц).

Препараты гуминовых и фульвокислот выделены по методике Кононовой и Бельчиковой [3]. Для регистрации ЭПР спектров исследованных препаратов гумусовых веществ применялся спектрометр SE//X2547 Radioran при СВЧ мощности в резонаторе 20–40 мВт и частоте СВЧ 9.372 ГГц. В качестве эталона использовали дифенилпикрил-гидразил с известным содержанием радикалов. Концентрацию парамагнитных центров в образцах определяли методом сравнения относительных интенсивностей сигналов образца и эталона по значениям формулы  $(\Delta H)^2 Y$ , где  $\Delta H$  – ширина, а  $Y$  – амплитуда линии [2]. Абсолютная ошибка определения концентрации свободных радикалов методом ЭПР составляет 10–20% [1].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 показан ЭПР спектр, характерный для всех исследованных ГК и ФК. На спектрах исследованных препаратов можно идентифицировать одну интенсивную широкую линию с  $g = 2.003$ , что говорит о явном присутствии свободных радикалов в структуре гумусовых веществ. Полученный  $g$ -фактор близок к значению  $g$ -фактора свободного электрона ( $g = 2.0023$ ), что указывает либо на существование сильно делокализованной молекулярной орбитали, либо на такое состояние, при котором орбитальная составляющая магнитного момента электрона близка к нулю [2, 6]. Расчеты интегральной интенсивности линии поглощения позволили оценить концентрацию неспаренных электронов в образцах ГВ. Установлено, что КПЦ в молекулах ГК торфянисто-подзолисто-глеевой почвы почти в 2 раза выше, чем в ГК подзолистой и подзолистой поверхностно-глеевой почвах. Различие между КПЦ в гуминовых кислотах подзолистой и подзолистой поверхностно-глеевой почв незначимо.

На рис. 2 показано, как изменяется содержание СР в препаратах гуминовых и фульвокислот

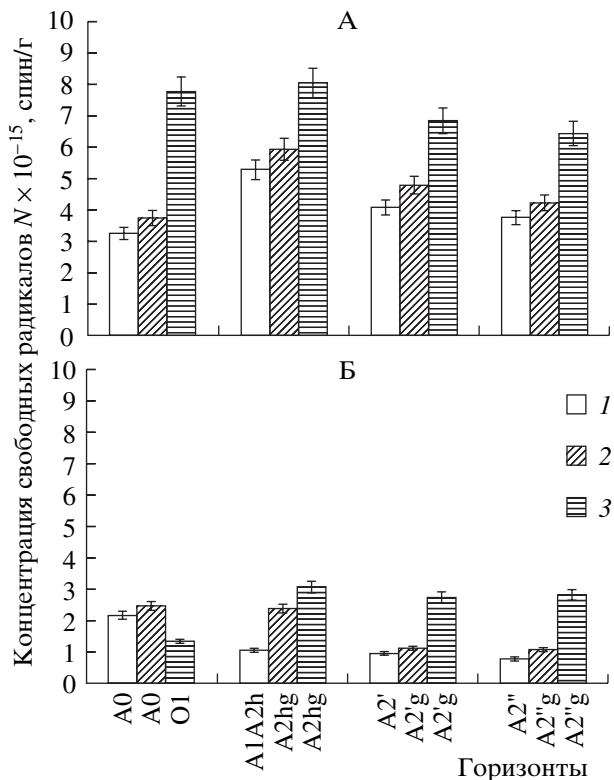


Рис. 2. Содержание свободных радикалов в препаратах гуминовых кислот (А) и фульвокислот почв (Б) разной степени гидроморфизма: 1 – подзолистой, 2 – подзолистой поверхностно-глеевой и 3 – торфянисто-подзолисто-глеевой ( $n = 5$ ,  $P = 0.95$ ).

почв различной степени гидроморфизма. Как видно из рис. 2, А, с увеличением степени увлажненности значительно возрастает содержание СР в молекулярной структуре ГК во всех горизонтах торфянисто-подзолисто-глеевой почвы. Это обусловлено биогидротермическими условиями гумусообразования в торфянисто-подзолисто-глеевой почве, при которых все биохимические процессы заторможены, что способствует накоплению СР в молекулах ГК. В трехкомпонентном комплексе структуры почвенного покрова (типичная подзолистая–подзолистая поверхностно-глеевая–торфянисто-подзолисто-глеевая) выявлена близость подзолистых поверхностно-глеевых почв к типичным подзолистым почвам по содержанию парамагнитных центров в препаратах ГК и ФК. Для всех почв установлено, что содержание СР в препаратах ГК уменьшается по профилю, это свидетельствует о большей термодинамической устойчивости молекул ГК минеральных горизонтов по сравнению с ГК органогенных горизонтов. Исключение составляют ГК подстилки и оторфованные горизонты, в которых концентрация свободных радикалов ниже, чем в нижележащих горизонтах. По-видимому, это связано с тем, что эти ГК представлены прогуминовыми кисло-

тами, и содержание СР в их структуре в значительной мере обусловлено характером поступающего опада. Несколько иная картина изменения КПЦ по профилям исследованных почв наблюдается для препаратов ФК (рис. 2, Б). Так, для ФК подзолистых почв характерно значимое уменьшение содержания свободных радикалов в минеральных горизонтах более чем в 2 раза. Таким образом можно заключить, что для подзолистой и подзолистой поверхностно-глееватой почв препараты ФК минеральных горизонтов более термодинамически устойчивы, чем аналогичные ФК органогенных горизонтов.

В торфянисто-подзолисто-глееватой почве, наоборот, прослеживается резкое увеличение содержания ПМЦ в структуре ФК при переходе от органогенного (О1) к минеральному (А2hg) горизонту, а затем незначимое уменьшение вниз по профилю. То есть характерные изменения КСР в препаратах ФК и ГК по профилю торфянисто-подзолисто-глееватой почвы аналогичны между собой.

С целью изучения влияния сельскохозяйственного освоения почв на содержание свободных радикалов в структуре гумусовых кислот были исследованы препараты ГК и ФК пахотной подзолистой почвы. Установлено, что распашка более существенно влияет на содержание свободных радикалов в структуре ФК, чем ГК (таблица).

Из таблицы видно, что содержание свободных радикалов в ГК пахотного горизонта примерно соответствует средней концентрации свободных радикалов горизонтов А0 и А1А2h, и их отличия незначимы. В отличие от ГК, ФК пахотной подзолистой почвы являются менее термодинамически устойчивыми и более подвержены микробиологической деструкции. Это, в свою очередь, обусловило более интенсивную трансформацию молекул ФК при окультуривании, в результате которой КСР резко уменьшилась до следовых количеств. В литературе нет единого мнения на изменение КСР в гумусовых кислотах при освоении почв. Так, по мнению одних исследователей, КСР в ГК является величиной, обратной их биотермодинамической устойчивости и глубине гумификации. При распашке почв парамагнитная активность гумусовых веществ уменьшается [5, 6]. Другие авторы считают, что вовлечение в состав гумуса остатков некоторых сельскохозяйственных культур может приводить к увеличению количества свободных радикалов [12].

Таким образом, на основании проведенных исследований установлено, что в препаратах ГК исследованных почв содержание свободных радикалов в 1.5–5 раз выше, чем в препаратах ФК, что обуславливает их высокую способность к реакциям полимеризации и комплексообразования по радикальному механизму. Содержание свобод-

Содержание свободных радикалов в препаратах гумусовых кислот

Подзолистая почва, горизонт	Концентрация свободных радикалов $N \times 10^{-15}$ спин/г ( $n = 5, P = 0.95$ )	
	гуминовые кислоты	фульвокислоты
Целинная, А0	$3.24 \pm 0.19$	$2.17 \pm 0.13$
А1А2h	$5.26 \pm 0.3$	$1.05 \pm 0.06$
Пахотная, А пах	$4.05 \pm 0.24$	Сл.

ных радикалов в препаратах ГК значимо уменьшается по профилю исследованных почв, что свидетельствует о более высокой устойчивости их молекул в минеральных горизонтах по сравнению с ГК органогенных горизонтов. Сельскохозяйственное использование значимо снижает суммарную парамагнитную активность гумусовых кислот (более чем на 20%) по сравнению с целинными аналогами, что приводит к накоплению в пахотном горизонте биотермодинамически устойчивых и более гумифицированных соединений.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бабанин В.Ф., Ильин Н.П., Орлов Д.С., Федотова О.П.* О природе линий в спектрах ЭПР гумусовых кислот // Почвоведение. 1977. № 1. С. 65–72.
2. *Вертс Дж., Болтон Дж.* Теория и практическое применение метода ЭПР. М.: Мир, 1975. 548 с.
3. *Кононова М.М., Бельчикова Н.П.* Ускоренные методы определения состава гумуса // Почвоведение. 1961. № 10. С. 75–87.
4. *Орлов Д.С.* Органическое вещество почв России // Почвоведение. 1998. № 9. С. 1049–1057.
5. *Чуков С.Н.* Структурно-функциональные параметры органического вещества почв в условиях антропогенного воздействия. СПб.: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2001. 216 с.
6. *Чуков С.Н., Гуров А.Ф.* Парамагнитные свойства органо-минеральных соединений гумусово-иллювиального песчаного подзола // Моделирование почвообразовательных процессов гумидной зоны. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1984. С. 138–149.
7. *Commoner B., Townsend J., Pake G.E.* Free radicals in biological materials // Nature. 1954. V. 174. № 4432. P. 689–691.
8. *Flaig W.* Chemische Untersuchungen an Humusstoffen // Zs. Chemie. 1964. Bd. 4. № 7. S. 253–265.
9. *Liang B.C., Gregorich E.G., Schnitzer M., Shulten H.R.* Characterization of water extracts of two manures and their absorption on soils // Soil Sci. Am. J. 1996. V. 60. P. 1758–1763.
10. *Lodygin E.D., Beznosikov V.A.* Influence of soil moisture on concentrations and  $^{13}\text{C}$  NMR profiles of lipids in three Albeluvisols // Geoderma. 2005. V. 127. № 3–4. P. 253–262.
11. *Michaelis L.* The formation of semiquinones as intermediary reduction products from pyocyanine and some oth-

- er dyestuffs // *The J. of Biol. Chem.* 1931. V. 92. № 2. P. 211–232.
12. *Neto L.M., Enrique A.A., Gomes T.D.* Effects of cultivation on ESR spectra of organic matter from soil size fractions of mollisol // *Soil Sci.* 1994. V. 157. № 6. P. 365–372.
13. *Neto L.M., Nascimento O.R., Talamoni J., Poppi N.R.* EPR of micronutrients-humic substances complexes extracted from a Brazilian soil // *Soil Sci.* 1991. V. 151. № 5. P. 369–373.
14. *Shnitzer M., Skinner S.Y.* Free radicals in soil humic compounds // *Soil. Sci.* 1969. V. 108. № 6. P. 383–390.

## **Paramagnetic Properties of Humus Acids of Podzolic and Bog-Podzolic Soils**

**E. D. Lodygin, V. A. Beznosikov, and S. N. Chukov**

The contents of free radicals in preparations of humic and fulvic acids extracted from virgin and plowed podzolic, surface gleyic podzolic, and peaty podzolic–gleyic soils were determined. The concentration of paramagnetic centers in the humic acids was 1.5–2 times higher than that in the fulvic acids. The agricultural use decreases the paramagnetic activity of the humus compounds and promotes the accumulation of biothermodynamically stable organic compounds in the plow horizons.