

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИЧЕСКОЙ ВЯЗКОСТИ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО

Елена Сергеевна Гасанова  
Николай Георгиевич Мязин  
Константин Егорович Стекольников

Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I

С целью установления взаимосвязи между реологическими свойствами гумусовых веществ и техногенным воздействием проведены исследования (начаты в 2012 г.) в почвенно-климатических условиях Липецкой области. Были изучены следующие варианты: внесение 20 т/га навоза (фон); внесение минеральных удобрений  $N_{120}P_{120}K_{120}$  + фон; применение кальциевого мелиоранта – дефека + фон. В ходе исследования образцы чернозема выщелоченного отбирались из слоя 0-20 см поля, на котором возделывали топинамбур сорта Интерес. Из почвенных образцов были выделены препараты гумусовых кислот, гуматов и фульватов натрия, которые анализировались с использованием вискозиметра Гепплера. Установлено, что максимальные величины характеристической вязкости отмечаются на вариантах внесения органического удобрения и кальцийсодержащего мелиоранта, а минимальные значения характерны для варианта внесения минеральных удобрений. Это связано с тем, что под действием минеральных удобрений происходит выраженная деструкция молекул основных компонентов органического вещества почв в результате усиления процессов окисления, декарбоксилирования, дезаминирования и гидролиза. Возможно, «осколки» молекул являются растворимыми и могут мигрировать в нижележащие горизонты, поэтому молекулярная масса анализируемых фракций гумуса снижается. На варианте внесения навоза в результате поступления свежего органического вещества усиливаются процессы гумификации, поэтому молекулярная масса препаратов возрастает. При внесении дефека в почву накапливаются стабильные формы органического вещества, которые характеризуются высокой конденсированностью и развитым строением молекул и, следовательно, имеют высокую молекулярную массу. На основании представленных данных можно сделать вывод о возможности применения метода вискозиметрии для косвенной оценки молекулярной массы отдельных компонентов гумусовых веществ и влияния агротехнических приемов на изучаемый параметр.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гумус, удобрения, мелиорант, гуминовые кислоты, фульвокислоты, молекулярная масса, вискозиметрия.

## DETERMINATION OF INTRINSIC VISCOSITY OF HUMIC ACIDS OF LEACHED CHERNOZEM

Elena S. Gasanova  
Nikolay G. Myazin  
Konstantin E. Stekolnikov

Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great

In order to establish the relationship between the rheological properties of humic substances and human impact the authors have conducted studies (initiated in 2012) in the soil and climatic conditions of Lipetsk Oblast. The following variants were evaluated: the application of 20 t/ha of manure (background); the application of mineral fertilizers  $N_{120}P_{120}K_{120}$  + background; the application of calcium ameliorant – defecate + background. In the course of study the samples of leached chernozem were taken from the 0-20 cm soil layer in the field in which the Jerusalem artichoke of the Interest variety was cultivated. Soil samples were processed to obtain the preparations of humic acids, sodium humates and fulvates, which were then analyzed using the Höppler viscometer. It was established that the maximum values of intrinsic viscosity were observed in the variants with the application of organic fertilizer and calcium-containing ameliorant, while the minimum values were typical for the variant with the application of mineral fertilizers. This was due to the fact that mineral fertilizers cause a pronounced destruction of molecules of the main components of organic matter in the soil as a result of intensification of the processes of oxidation, decarboxylation, deamination and hydrolysis. It is possible that the «debris» of molecules are soluble and can migrate to the underlying horizons, thus the molecular weight of the analyzed humus fractions decreases. In the variant of manure

application the supply of fresh organic matter causes an intensification of humification processes, thus the molecular weight of the preparations increases. When defecate is applied, the soil accumulates stable forms of organic matter that are characterized by a high degree of condensation and a well-developed structure of molecules and therefore have a high molecular weight. On the basis of the data presented, it can be concluded that the method of viscometry can be used for indirect estimation of molecular weight of individual components of humic substances and the impact of agricultural techniques on the parameter under study.

KEY WORDS: humus, fertilizers, ameliorant, humic acids, fulvic acids, molecular weight, viscometry.

### **В**ведение

Доказано, что основная функциональная роль гумуса заключается в регуляции устойчивости экосистем, одним из механизмов которой является отторжение (или возврат) части органического вещества в пределах круговорота. Гумус выступает также как память экосистем, кодируя в своем составе и свойствах условия периода своего формирования [1].

В системе почва – вода – растение схема малого круговорота углерода регулируется преимущественно гуматами почвы [3]. Педогенный углерод, включаясь в воздушные и водные миграционные потоки, связывает биоту, атмосферу, гидросферу, литосферу в единый биосферный биогеохимический круговорот веществ [2].

Гумусовые вещества, обуславливая устойчивость почв, выполняют при этом природоохранную функцию [3]. В период образования и функционирования антропосферы особенно возросла роль гумуса как инактиватора и ингибитора вредных для устойчивого развития экосистем веществ, а также как средства удаления их за пределы корнеобитаемого слоя [10]. Как правило, гумусовые вещества устойчивы к известкованию, гипсованию и действию минеральных удобрений. Являясь, по существу, хроматографической системой, гумус частично связывает поступающие в почву минеральные удобрения, тяжелые металлы, биологически активные вещества (гербициды), поверхностно-активные вещества (мыла и детергенты, поступающие при орошении сточными водами) и другие загрязнители [9, 10].

Спецификой гумусовых веществ является стохастический характер, обусловленный особенностями их образования в результате естественного отбора устойчивых структур [7]. Как следствие, к фундаментальным свойствам гумусовых веществ относятся нестехиометричность состава, нерегулярность строения, гетерогенность структурных элементов и полидисперсность молекулярных масс [7].

В состав гумусовых веществ входят гуминовые (ГК), фульвокислоты (ФК) и гумин. Главная цепь макромолекулы ГК состоит из фрагментов фенолкарбоновых кислот с привитыми к ней углеводными и белковыми цепочками. ГК содержит разные виды функциональных групп: карбоксильные, фенольные, амидные, спиртовые, альдегидные, карбоксилатные, кетонные, метоксильные, хинонные, гидроксихинонные и аминоксильные. Основное отличие ФК – их высокая обогащенность фенольными гидроксиллами, которая в 1,5-3,0 раза выше, чем в ГК. Для ФК характерно такое пространственное строение, когда арильные и алкильные фрагменты чередуются [6].

Одной из важных характеристик гумусовых веществ является молекулярная масса. Она влияет на их растворимость, способность к миграции в природных экосистемах, возможность поглощения микроорганизмами и растениями. Гумусовые кислоты являются высокомолекулярными соединениями ионогенного характера, что определяет их полиэлектролитные свойства [9]. Молекулярная масса гумусовых кислот также влияет на их способность к связыванию ионов различных металлов.

Молекулярная масса молекул гуминовых кислот колеблется от 4000-6000 до 50 000-100 000 Да. Масса различных фракций фульвокислот колеблется от 200-300 до 30 000-50 000 Да, что также подтверждает высокую степень их гетерогенности [5]. Таким образом, величины молекулярных масс гумусовых кислот, по данным различных

исследователей, лежат в широком диапазоне значений – от сотен до миллионов Дальтон, и зависят от используемого метода.

Для определения молекулярной массы гумусовых веществ используют такие методы, как:

- светорассеяние;
- гель-проникающая хроматография;
- ультрацентрифугирование;
- вискозиметрия;
- измерение коллигативных свойств.

Каждый из методов обладает своими особенностями [8]. Так, методы, основанные на измерении коллигативных свойств полимера (осмометрия, криоскопия, эбулиоскопия), чрезвычайно чувствительны к присутствию низкомолекулярных примесей в анализируемом образце. Поэтому их применение для анализа препаратов гумусовых кислот, которые практически всегда содержат низкомолекулярные зольные компоненты, может приводить к существенному занижению молекулярной массы. К тому же этими методами определяется среднечисловая молекулярная масса. Величины молекулярной массы, найденные этим способом, составляют от 500 до 1000 Да. Метод светорассеяния позволяет определить только средневесовую молекулярную массу. На величины молекулярных масс, определяемые методом ультрафильтрации, большое влияние оказывает взаимодействие гумусовых кислот с мембранами.

Для многих целей достаточно знать относительную вязкость раствора  $\eta_{отн}$ , т.е. отношение вязкости раствора  $\eta$  к вязкости растворителя  $\eta_o$ . Если плотность раствора близка к плотности растворителя, то для разбавленных растворов вполне допустимо приближение (1)

$$\eta_{отн} = \frac{\eta}{\eta_o} \cong \frac{t}{t_o}, \quad (1)$$

где  $t$  и  $t_o$  – время истечения раствора соответственно полимера и растворителя.

В вискозиметрии также используются такие величины, как удельная вязкость раствора ( $\eta_{уд}$ ) и приведенная вязкость раствора ( $\eta_{пр}$ ), формулы расчета которых представлены ниже.

$$\eta_{уд} = \frac{\eta - \eta_o}{\eta_o} = \frac{\eta}{\eta_o} - 1; \quad (2)$$

$$\eta_{пр} = \frac{\eta_{уд}}{C}, \quad (3)$$

где  $C$  – концентрация раствора, г/мл.

В большинстве случаев приведенная вязкость разбавленных растворов полимеров линейно зависит от концентрации полимера

$$\frac{\eta_{уд}}{C} = [\eta] + K \cdot C. \quad (4)$$

Параметр  $[\eta]$  (вязкость раствора полимера, экстраполированная к бесконечному разбавлению) называется характеристической вязкостью – предельное значение отношения  $\frac{\eta_{уд}}{C}$

(или  $\frac{\ln \eta_{отн}}{C}$ ) при концентрации раствора, стремящейся к нулю. Характеристическую вяз-

кость  $[\eta]$  определяют путем графической экстраполяции значений  $\frac{\eta_{уд}}{C}$  (или  $\frac{\ln \eta_{отн}}{C}$ ), полученных для нескольких концентраций, к нулевой концентрации.

В основе вискозиметрии разбавленных растворов полимеров лежит уравнение Марка – Куна – Хаувинка, связывающее характеристическую вязкость растворов  $[\eta]$  и средневязкостную молекулярную массу полимера  $M$  следующим соотношением:

$$[\eta] = K \cdot M^a, \quad (5)$$

где  $K$  и  $a$  – константы.

Постоянная  $K$  зависит от температуры, природы полимера и растворителя. Показатель  $a$  зависит от всех факторов, влияющих на конформацию макромолекулярной цепи. Уравнение справедливо для большого числа полимерных веществ.

Метод вискозиметрии, один из самых простейших в аппаратном оформлении, позволяет получать такую важную характеристику макромолекул, как молекулярная масса. Определение молекулярно-массовых характеристик гумусовых веществ методом вискозиметрии представляет собой весьма актуальную задачу.

#### **Методика эксперимента**

Полевые исследования проводятся с 2012 г. в ООО «ТерраИнвест» Данковского района Липецкой области на плантации топинамбура сорта Интерес.

В качестве объектов исследования использованы образцы чернозема выщелоченного слоя 0-20 см.

Анализировались следующие варианты:

- контроль;
- внесение 20 т/га навоза (фон);
- внесение минеральных удобрений  $N_{120}P_{120}K_{120}$  + фон;
- применение кальциевого мелиоранта – дефекат + фон.

Повторность опыта – трехкратная, размещение повторений – трехъярусное, делянок – систематическое шахматное.

Из образцов почвы по методике Кононовой – Бельчиковой выделили гумусовые кислоты путем обработки пирофосфатом натрия рН 13. Затем полученные гумусовые кислоты разделили подкислением до рН 1,5-2,0 на гуматы натрия и раствор фульватов натрия. Образцы высушивали на водяной бане. Для проведения эксперимента готовили растворы определенной концентрации: 2,5; 5,0; 7,5; 10,0%.

Препараты гумусовых кислот анализировали с помощью вискозиметра Гепплера. Его действие основано на законе Стокса о шарике, падающем в неограниченной вязкой среде. Вискозиметр представляет собою трубку, выполненную из прозрачного материала, в которую помещается вязкая среда. Вязкость определяется по скорости прохождения падающим шариком промежутков между метками на трубке вискозиметра. Измеряется время падения скатывающегося шарика в наклонной цилиндрической трубке, заполненной тестируемой жидкостью. Выполняются три измерения, и результатом является среднее время, требуемое для падения шарика.

С помощью одного и того же вискозиметра измеряли время падения шарика в растворителе и растворах разной концентрации. Для каждой концентрации рассчитывали приведенную вязкость. Затем строили графики зависимостей приведенной вязкости от концентрации и проводили двойную экстраполяцию к нулевой концентрации. Начальные отрезки на оси ординат определяли характеристическую вязкость.

#### **Результаты и их обсуждение**

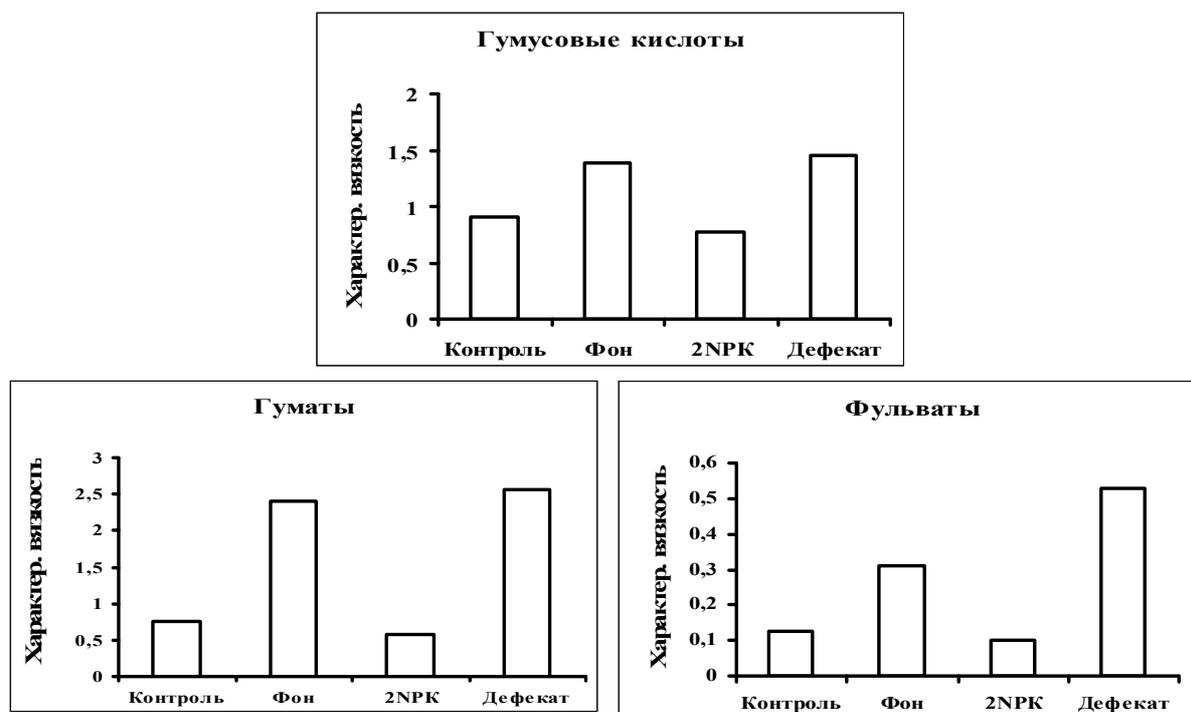
В таблице приведены усредненные результаты измерения времени падения шарика в анализируемых растворах. Полученные данные были использованы нами для расчета характеристической вязкости.

## СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ

### Время падения шарика в холостом и анализируемых растворах

Концентрация, %	Время падения шарика в растворе, с			
	пирофосфата натрия	гумусовых кислот	гуматов натрия	фульватов натрия
<b>Контроль</b>				
10,0	62	88,60	84,57	63,98
7,5		82,56	79,97	63,23
5,0		76,73	75,07	63,14
2,5		69,64	69,17	62,88
<b>Фон</b>				
10,0	62	107,25	88,85	66,07
7,5		93,73	84,79	65,93
5,0		79,22	78,33	65,50
2,5		70,73	73,66	64,22
<b>Вариант внесения 2NPK</b>				
10,0	62	77,86	81,4	64,53
7,5		76,37	77,2	64,13
5,0		72,58	72,3	63,83
2,5		68,03	68,2	63,01
<b>Вариант внесения дефеката</b>				
10,0	62	95,10	84,5	70,60
7,5		88,08	79,5	70,30
5,0		81,15	74,8	68,98
2,5		73,36	69,96	66,20

На рисунке представлены результаты расчета характеристической вязкости выделенных препаратов гумусовых кислот, гуматов и фульватов натрия. Установлено, что максимальная вязкость характерна для образцов вариантов с внесением органического удобрения и кальциевого мелиоранта. Наименьшая вязкость отмечается на варианте применения минеральных удобрений.



**Значения характеристической вязкости гумусовых кислот, гуматов и фульватов натрия по вариантам опыта**

По значению характеристической вязкости можно предположить величины молекулярной массы анализируемых образцов. В соответствии с уравнением Марка – Куна – Хаувинка между этими параметрами существует прямая зависимость. Можно предположить, что наибольшая молекулярная масса свойственна препаратам с мелиорируемого и фонового вариантов. Минимальная масса отмечается на контрольном варианте и варианте с минеральными удобрениями.

Объяснение этому мы видим в следующем. Под действием минеральных удобрений происходит выраженная деструкция молекул основных компонентов органического вещества почв в результате усиления процессов окисления, декарбонирования, дезаминирования и гидролиза. Возможно, «осколки» молекул являются растворимыми и легко могут мигрировать в нижележащие горизонты, поэтому молекулярная масса анализируемых фракций гумуса снижается.

На варианте внесения навоза в результате поступления свежего органического вещества усиливаются процессы гумификации, поэтому молекулярная масса препаратов возрастает. При внесении кальциевого мелиоранта в почву накапливаются стабильные формы органического вещества, которые характеризуются высокой конденсированностью и развитым строением молекул и, следовательно, имеют высокую молекулярную массу. Полученные результаты подтверждаются методами потенциометрии, УФ- и ИК-спектроскопии, проведенными ранее [4].

### **Выводы**

Методом вискозиметрии выявлено, что максимальной вязкостью характеризуются растворы гуматов, полученные из образцов почвы фонового и мелиорируемого вариантов. Минимальная вязкость отмечается для препаратов фульватов, выделенных из почвенных образцов контрольного варианта и варианта с внесением минеральных удобрений.

Таким образом, на основании представленных данных мы можем сделать вывод о возможности применения метода вискозиметрии для косвенной оценки молекулярной массы отдельных компонентов гумусовых веществ и предположительно оценить влияние агротехнических приемов на изучаемый параметр.

## Библиографический список

1. Вальков В.Ф. Экология почв. Ч. 2. Разрушение почв. Дегумификация. Нарушение водного и химического режима почв : учеб. пособие для студентов вузов / В.Ф. Вальков, К.Ш. Казеев, С.И. Колесников. – Ростов-на-Дону : УПЛ РГУ, 2004. – 54 с.
2. Варшал Г.М. Геохимическая роль гумусовых кислот в миграции элементов / Г.М. Варшал, Т.К. Велюханова, И.Я. Кошечева // Гуминовые вещества в биосфере : сб. науч. тр. – Москва, 1993. – С. 97–117.
3. Ганжара Н.Ф. Процессы трансформации органического вещества в почвах и его качественный состав / Н.Ф. Ганжара, Д.С. Орлов // Концепция оптимизации режима органического вещества в агроландшафтах : сб. науч. тр. – Москва, 1993. – С. 18–26.
4. Гасанова Е.С. Влияние удобрений и мелиоранта на качество органического вещества чернозема выщелоченного : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.01.03 / Е.С. Гасанова. – Воронеж, 2006. – 24 с.
5. Котов В.В. Высокомолекулярные соединения. Ионобменные и мембранные процессы : учеб. пособие / В.В. Котов, Л.Ф. Науменко. – Воронеж : ФГОУ ВПО ВГАУ, 2007. – 152 с.
6. Мартынова Н.А. Химия почв: органическое вещество : учеб.-метод. пособие / Н.А. Мартынова. – Иркутск : Изд-во ИГУ, 2011. – 255 с.
7. Орлов Д.С. Химия почв : учеб. пособие / Д.С. Орлов, Л.К. Садовникова, Н.И. Суханова. – Москва : Высшая школа, 2005. – 558 с.
8. Перминова И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот : автореф. дис. ... д-ра хим. наук : 02.00.02 / И.В. Перминова. – Москва, 2000. – 50 с.
9. Физико-химические основы возникновения фрактальной организации почвенных коллоидов / Г.Н. Федотов [и др.] // Почвоведение. – 2007. – № 7. – С. 823–830.
10. Чуков С.Н. Биосферные функции и структура гуминовых веществ / С.Н. Чуков // Сохраним планету Земля : сб. докл. междунар. экол. форума ; под ред. Б.Ф. Апарина. – Санкт-Петербург, 2004. – С. 127–130.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ Принадлежность к организации

Елена Сергеевна Гасанова – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры агрохимии и почвоведения, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Российская Федерация, г. Воронеж, тел. 8(473) 253-76-93 (доб. 1340), E-mail: upravlenieopm@mail.ru.

Николай Георгиевич Мязин – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, зав. кафедрой агрохимии и почвоведения, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Российская Федерация, г. Воронеж, тел. 8(473) 253-76-93 (доб. 1306), E-mail: agroхими@agronomy.vsau.ru.

Константин Егорович Стекольников – доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры агрохимии и почвоведения, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», Российская Федерация, г. Воронеж, тел. 8(473) 253-76-93 (доб. 1340), E-mail: agroхими@agronomy.vsau.ru.

Дата поступления в редакцию 10.11.2016

Дата принятия к печати 26.01.2017

## AUTHOR CREDENTIALS Affiliations

Elena S. Gasanova – Candidate of Agricultural Sciences, Docent, the Dept. of Agricultural Chemistry and Soil Science, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russian Federation, Voronezh, tel. 8(473) 253-76-93 (internal 1304), E-mail: upravlenieopm@mail.ru.

Nikolay G. Myazin – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Head of the Dept. of Agricultural Chemistry and Soil Science, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russian Federation, Voronezh, tel. 8(473) 253-76-93 (internal 1306), E-mail: agroхими@agronomy.vsau.ru.

Konstantin E. Stekolnikov – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, the Dept. of Agricultural Chemistry and Soil Science, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Russian Federation, Voronezh, tel. 8(473) 253-76-93 (internal 1340), E-mail: agroхими@agronomy.vsau.ru.

Date of receipt 10.11.2016

Date of admittance 26.01.2017