

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВОДНЫХ ВЫТЯЖЕК ИЗ ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ РЕСПУБЛИКИ КОМИ на содержание ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ хромато-масс- спектроскопическим МЕТОДОМ

Методом хромато-масс-спектропии проведен качественный анализ водных вытяжек из органогенных горизонтов подзолистых почв средней тайги Республики Коми. Идентифицировано более 40 индивидуальных органических соединений шести классов: кислоты, спирты, альдегиды, кетоны, эфиры и углеводы. Показано, что результат анализа зависит от пробоподготовки образцов почвы.

Введение

Водорастворимые органические соединения (ВОС) играют важную роль в функционировании наземных экосистем: в формировании химического состава почв и их генезиса [1], миграции питательных элементов и металлов [2], контроле продуктивности водных экосистем – конечных водоемов стока [3]. Пути миграции ВОС, а также продуктов выветривания и почвообразования от мест их формирования в различных экосистемах к территориям конечного сосредоточения аналогичны таковым пространственных водных потоков. Наличие ВОС в природных водах, несмотря на нередко низкие концентрации, приводит к заметному изменению свойств воды как растворителя. После контакта с почвами и живыми организмами в геохимических ландшафтах циркулируют не просто воды, а своеобразные биологически активные растворы [2].

Идентификация индивидуальных водорастворимых органических соединений остается достаточно сложной задачей. Это обусловлено малыми концентрациями данных соединений, их физико-химическими свойствами (ВОС – химически лабильные соеди-

нения, подверженные деструкции в процессе экстракции и концентрирования), а также уровнем технического оснащения исследовательских центров. Целью данной работы явился качественный анализ ВОС, содержащихся в органогенных горизонтах почв средней тайги Республики Коми, методом хромато-масс-спектропии.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования выбраны органогенные горизонты почв с нарастающими признаками увлажненности: типичная подзолистая – А0(П), подзолистая поверхностно глееватая – А0(П^{III}) и торфянисто-подзолисто-глееватая – О1(Пб1), О2(Пб1). Описание образцов и результаты изучения их буферной способности приведены в работах [4, 5]. Водные суспензии готовили при массовом отношении почвы к воде 1:25, встряхивали 15 мин на электромеханической мешалке, фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента» (диаметр пор 2 мкм).

Определение состава и структуры органических соединений проводили в аккредитованной лаборатории «Экоаналит» Института биологии Коми НЦ УрО РАН методом хромато-масс-спектрометрии на спектрометре «TRACE DSQ» корпорации «Thermo Electron». Условия определения: программирование температуры термостата колонок 40 °С (4 мин) – 4 °С/мин – 300 °С

Е.В. Шамрикова*,
кандидат
биологических наук,
и.о. старшего
научного сотрудника
отдела почвоведения,
Институт биологии
Коми НЦ УрО РАН

И.В. Груздев,
кандидат химических
наук, старший
научный сотрудник
лаборатории
«Экоаналит»,
Институт биологии
Коми НЦ УрО РАН

В.В. Пунегов,
кандидат химических
наук, старший науч-
ный сотрудник отдела
Ботанический сад,
Институт биологии
Коми НЦ УрО РАН

* Адрес для корреспонденции: shamrik@ib.komisc.ru

(10 мин), кварцевая капиллярная колонка 30 м×0.25 мм (TR-5, Thermo), толщина пленки – 0.25 мкм. Газ-носитель – гелий, объемная доля 99.99 %, скорость потока через колонку – 1 см³/мин, деление потока – 1:30, температура испарителя 280 °С, детектора 200 °С. С помощью микрошприца МШ-1 отбирали и инжесктировали в испаритель хроматографа 5 мм³ анализируемой смеси. Продолжительность проведения хромато-масс-спектрометрического анализа составляла 45 мин. Интерпретацию масс-спектров соединений проводили с использованием программного обеспечения Xcalibur Data System (version 1.4 SR1) и библиотеки масс-спектров NIST 05.

Определение органических соединений без изменения их состава

Аликвоту водной вытяжки 500 см³ нейтрализовали раствором серной кислоты до pH 1±2, добавляли 100 см³ бутилацетата и проводили экстракцию в течение 10 мин. Процедуру экстракции повторяли дважды. В полученный экстракт вводили 2 см³ водного раствора гидроксида натрия и реагировали органические кислоты в течение 5 мин. После расслаивания фаз в делительной воронке бутилацетат отбрасывали. Водный раствор нейтрализовали раствором серной кислоты до pH 2±3, добавляли 5 см³ диэтилового эфира и повторно экстрагировали соединения в течение 5 мин. После расслаивания фаз эфирный слой переносили в бюкс и полностью испаряли эфир при комнатной температуре. Сухой остаток растворяли в 0.2 см³ этилового спирта и анализировали [6].

Определение соединений в виде производных (дериватов)

Прямое определение некоторых веществ часто осложнено их высокими кислотными свойствами и полярностью. Дериватизация способствует увеличению селективности анализа, поскольку производные могут сильно различаться по своим свойствам по сравнению с исходными веществами. Наиболее широко распространенный метод дериватизации спиртов, кислот, аминов, амидов и тиолов – силирование. В этом случае преследуется цель замещения “подвижных” атомов водорода в составе гидрокси-, карбокси-, тиольной-, первичной и вторичной аминогрупп и др. на –Si(CH₃)₃-группы и, следовательно, переводение соединений в соответствующие триметилсилильные производные (рис. 1).

Аликвоту водной вытяжки 10 см³ с помощью перестальтического насоса марки

Е. В. Ванчикова,
кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории “Экоаналит” Института биологии Коми НЦ УрО РАН

А. А. Ветошкина,
студент, Сыктывкарский государственный университет (СыктГУ)

НП-1М со скоростью 2÷5 см³/мин наносили на концентрирующий патрон (Диапак С16Т). Патрон заполнен гидрофобным сорбентом на основе силикагеля с размером частиц 63±200 мкм с химически привитыми гексадецильными (С16) группами. Осажденные на патроне органические соединения элюировали 5 см³ этанола. Элюат упаривали в вакууме на роторном испарителе “ИР-1М” при температуре не выше 40 °С до полного испарения этилового спирта. Досушивали при 60±70 °С в вакууме в течение 10 мин. К элюату добавляли 50 мкдм³ силирующей смеси, которая состояла из пиридина, триметилхлорсилана и N-,O-бис-(триметилсилил) трифторацетамида (в объемном отношении 5:2,5:5, соответственно). С целью активации синтеза триметилсилильных производных органических соединений реакционную смесь выдерживали 20 с в ультразвуковой ванне УЗВ-2/150ТН, 30 мин при комнатной температуре, затем вносили 0,2 мкдм³ гексадекана (внутренний стандарт) и анализировали. Ранее методика уже была успешно апробирована на растительном материале [7]. Пример хроматограммы приведен на рис. 2.

Результаты и их обсуждение

При расшифровке хромато-масс-спектров водорастворимых органических соединений выделено шесть классов: кислоты, спирты, альдегиды, кетоны, эфиры и углеводы (табл. 1). Наиболее многочисленной является группа карбоновых кислот и их производных. Обнаружено 11 насыщенных и ненасыщенных одноосновных, 4 двухосновные кислоты, 14 оксикислот, в том числе алифатические и ароматические. Ранее методом бумажной хроматографии в водных вытяжках подзолистых почв средней

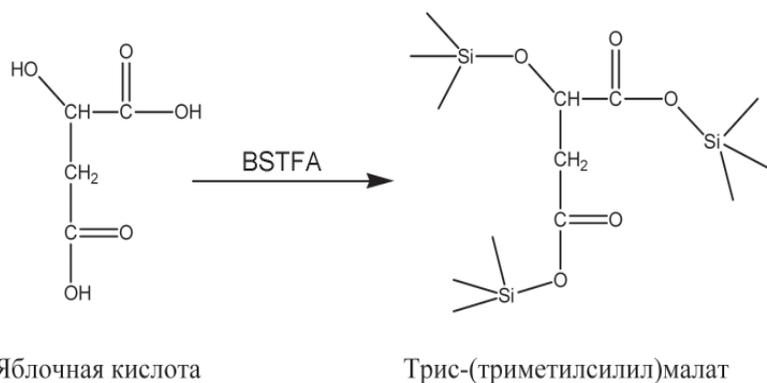


Рис. 1. Схема синтеза триметилсилильных производных оксикислот с применением N-,O-бис-(триметилсилил)трифторацетамида (BSTFA).

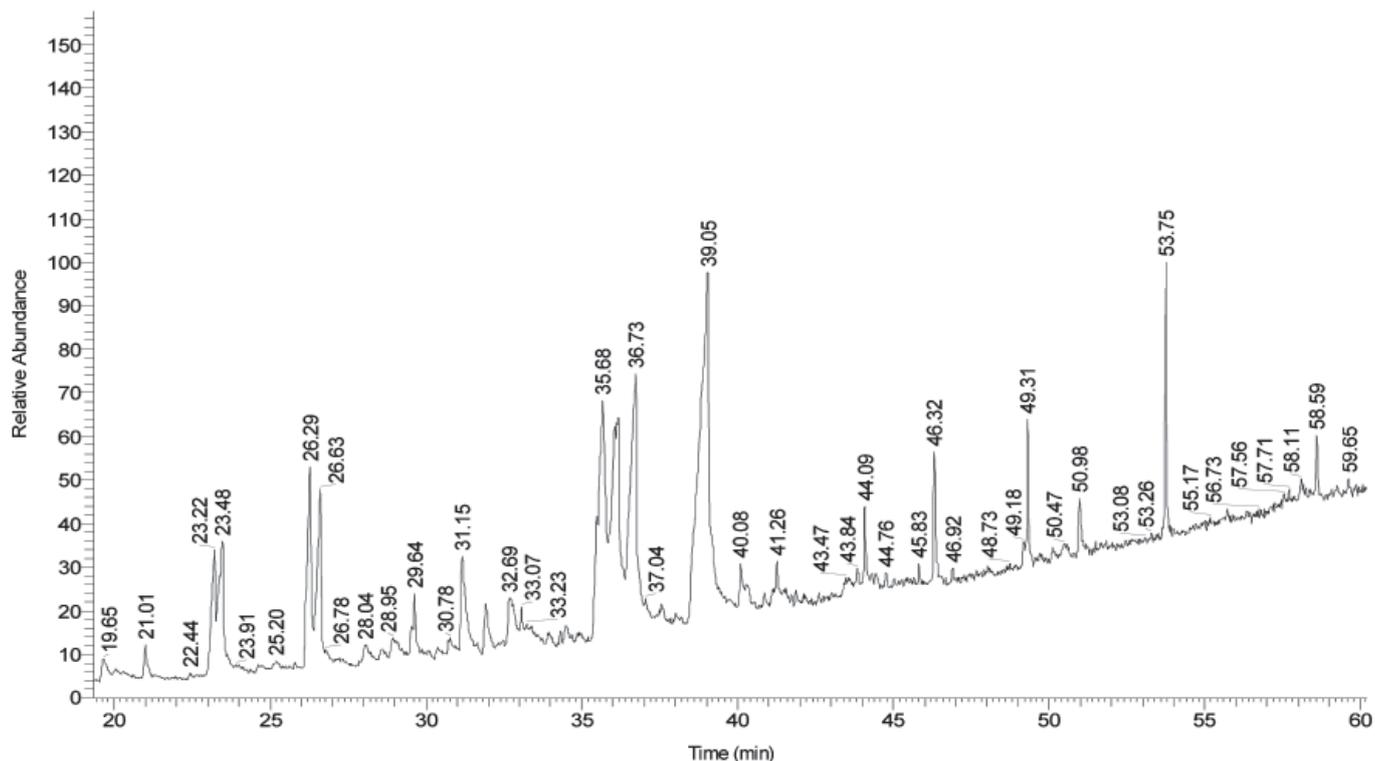


Рис. 2. Хроматограмма соединений водной вытяжки образца органогенного горизонта типичной подзолистой почвы; прямое определение.

тайги Республики Коми были идентифицированы двухосновные кислоты – насыщенные (щавелевая и янтарная), ненасыщенная (фумаровая) и трехосновная оксикислота (лимонная) (C_4) [8]. Определенные нами дикарбоновые кислоты, за исключением щавелевой, имеют большее количество атомов в цепи (C_6 - C_{10}).

Известно, что большая часть ионов алюминия в растворах подзолистых почв (до 85 % [9]) связана в комплексные ионы с анионами органических кислот [9-11], половина из них – с анионами низкомолекулярных органических кислот [10]. Многими исследователями показана высокая устойчивость комплексных соединений, образованных двух- и трехосновными кислотами, в частности, щавелевой, с ионами алюминия [8, 11]. Объясняется это с тем, что многоосновные карбоновые кислоты являются полидентатными лигандами и образуют прочные хелаты.

По мнению ряда авторов [12-20] более стабильные металлоорганические комплексы дают ароматические оксикислоты, далее менее устойчивые производные предельных кислот, затем незамещенные предельные кислоты. Более того, существенный вклад в стабильность комплексов вносит относительное расположение заместителей в бензольном кольце [13]. Наиболее высокой

прочностью обладают ортоизомеры (салициловая кислота, табл. 2) [14] в связи с максимальным сближением влияющих групп [21].

Менее устойчивы *мета*- и еще менее *пара*-изомеры. Дальнейшая стабилизация комплексного соединения, образованного ионами алюминия и анионом ароматической оксикислоты, возможна при наличии гидроксид- и метокси- групп за счет возникновения межмолекулярных водородных связей [21] (протокатехиновая, галловая, табл. 2). Среди ароматических кислот исследованных нами почв обнаружены метокси-производные протокатехиновой (ванилиновая) и галловой (сиреневая) кислот, а также изомер салициловой (4-оксибензойная) кислоты.

Таким образом, водорастворимые производные фенолов в подзолистых почвах средней тайги могут активно участвовать в концентрировании и рассеивании металлов как естественного, так и антропогенного происхождения в связи со способностью образовывать с ними прочные комплексные соединения.

Существенное влияние на устойчивость комплексов оказывают значения pH. Доля ионов алюминия в форме металлоорганических комплексов от общего содержания иона в растворе резко снижается при увеличении кислотности – при pH 4.5 она составляет более 90 %, при pH ниже 4 стремится к нулю [22]. Следует отметить, что фторидный комплексный ион AlF_6^{3-} ($p\beta_6 = 20.67$ [23]), образующийся при определении обменной кис-

Таблица 1

Водорастворимые органические соединения, содержащиеся в почве и идентифицированные методом хромато-масс-спектрологии

Классы соединений			Определение соединений без их изменения	Определение соединений в виде производных
Карбоновые кислоты	Алифатические	Одно- и двухосновные	гексановая (капроновая), гептановая (энантовая), 2-этилгексановая, нонановая (пеларгоновая), декановая (каприновая), гексадекановая (пальмитиновая), октадекановая (стеариновая), октандиовая (субериновая, пробковая), нонандиовая (азелаиновая), 2-октенная, 10-ундеценная (ундацеленовая), 8-ноненная	гексадекановая (пальмитиновая), 9Z-октадекановая (олеиновая), этандиовая (щавелевая), гександиовая (адипиновая), октандиовая (субериновая, пробковая), нонандиовая (азелоиновая)
		Оксикислоты	2-оксидекановая	оксиэтановая (гликолевая), 2-оксипропановая (молочная), 3-оксибутановая (3-оксимасляная), 3-оксипentanовая, 2-оксигексановая, 2,3-диоксипропионовая, 3-оксидекановая, 2,3,4,5-тетраоксипentanовая (рибоновая), 2-оксибутандиовая (яблочная)
	Ароматические	Одноосновные	бензойная, фенилуксусная	-
		Оксикислоты	4-окси-3-метоксибензойная (ванилиновая), 4-оксибензойная, 4-окси-3,5-диметоксибензойная (сиреневая)	4-окси-3-метоксибензойная (ванилиновая), 3,4-диоксибензойная (протокатехиновая)
Оксиальдегиды и оксикетоны			4-окси-3-метоксибензальдегид (ванилин)	4-оксиацетофенон
Сложные эфиры			2-этилгексилэтиловый эфир гександиовой кислоты, гептадециловый эфир 3-хлорпропионовой кислоты	-
Спирты			-	глицерин
Углеводы			-	D-глюкоза, D-маннитол, глюкопираноза, D-арабиноза, D-гураноза

лотности по А.В. Соколову [24], может быть менее устойчивым по сравнению с алюмоорганическими комплексами (табл. 2). В результате ионы алюминия, связанные в комплексные соединения с анионами ароматических оксикислот, при определении обменной кислотности могут оказаться неучтенными, особенно при pH выше 4 [25]. Качественный состав водорастворимых органических соединений разных образцов почв имеет ряд различий. При объединении результатов двух методик оказалось, что образцам А0(П), О1(Пб1) и О2(Пб1) свойственно одинаковое разнообразие органических соединений, несколько меньший набор соединений в образце А0(П^{III}), характеризующемся промежуточной степенью увлажнения.

Минимальный перечень оксикислот и наибольший насыщенных и ненасыщенных основных кислот свойственен образцам

А0(П) и О2(Пб1). В образце О1(Пб1), характеризующемся максимальной степенью увлажнения, обнаружено наибольшее число ароматических кислот, что соответствует литературным данным [1], и оксикислот.

Таблица 2

Константы устойчивости комплексных соединений ионов алюминия с органическими кислотами (Куст), образующимися в почвах

Название кислоты	Куст	Источник
Янтарная	2,09	15
Лимонная	7,9	16
Щавелевая	6,1; 11,1; 15,12	17
Фульвокислоты	8,6	18
Протокатехиновая	15,33	19
Салициловая	12,9; 23,2; 29,8	17
Галловая	14,24; 25,36; 33,32	20

Самая сильная, щавелевая, кислота ($pK_{a1} = 1.27$ [23]) идентифицирована в образцах А0(Ппг) и О1(Пб1), что подтверждает вывод [2] о накоплении наиболее сильных кислот в органогенных горизонтах гидроморфных почв. Следовательно, повышение поверхностного увлажнения почв способствует увеличению разнообразия ароматических и оксикислот, снижению набора алифатических незамещенных кислот, а также образованию наиболее сильных (прежде всего щавелевой) кислот.

На результат качественного анализа существенно влияет пробоподготовка образцов почв. При извлечении органических соединений бутилацетатом во всех образцах идентифицируются насыщенные и ненасыщенные одно- и двухосновные карбоновые кислоты, кислоты ароматического ряда, а также бензальдегид. Определение соединений в виде силильных производных в спиртовой фазе позволяет обнаружить, в основном, оксикислоты, углеводы и трехатомный спирт. Следует отметить, что в первом случае были определены соединения, содержащие не менее 6 атомов углерода, а во втором – начиная с этандиоловой кислоты (табл. 1). Можно назвать, по крайней мере, две причины этих различий. Во-первых, диэлектрическая проницаемость экстрагентов (бутилацетата и этилового спирта) существенно отличается ($\epsilon_1 \approx 6$, $\epsilon_2 \approx 25$), следовательно, их отношение к разным соединениям неодинаково. Во-вторых, не все соединения, перешедшие в водную вытяжку, например, сложные эфиры, способны силироваться, поэтому вторым способом они не идентифицированы.

Таким образом, две используемые методики пробоподготовки почв дают результаты качественного состава водных вытяжек из почв, дополняющие друг друга, так как идентифицированные органические соединения практически не дублируются.

Заключение

Методом хромато-масс-спектрологии проведен качественный анализ водных вытяжек из подзолистых почв средней тайги Республики Коми. Выделено шесть классов органических соединений: кислоты, спирты, альдегиды, кетоны, эфиры и углеводы. Наиболее многочисленной является группа карбоновых кислот и их производных. Повышение поверхностного увлажнения почв способствует увеличению разнообразия ароматических и оксикислот, снижению набора алифатических незамещенных, а также образованию наиболее

сильных (прежде всего щавелевой) кислот. Показано, что результат анализа существенно зависит от пробоподготовки почвы – при детектировании органических соединений, экстрагированных бутилацетатом, идентифицированы насыщенные и ненасыщенные одноосновные карбоновые кислоты, кислоты ароматического ряда, а также бензальдегид. Определение водорастворимых соединений в виде силильных производных позволило обнаружить оксикислоты, углеводы и глицерин.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта «Почвенно-функциональные ресурсы биосферы Европейского северо-востока и биолитогенные экотоны - фундаментальная основа охраны и мониторинга почвенно-земельного фонда» программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга».

Литература

1. Регуляторная роль почвы в функционировании таежных экосистем. М.: Наука, 2002. 365 с.
2. Кауричев И.С. Теория и практика метода сорбционных лизиметров в экологических исследованиях / И.С. Кауричев, И.М. Яшин, В.А. Черников М.: Изд-во МСХА, 1996. 142 с.
3. Mchalzik V. Dynamics of dissolved organic nitrogen and carbon in Central European Norway spruce ecosystem / Mchalzik V., Matzner E. // Europ. J. Soil Sci. 1994. № 50 (4). P. 579-590.
4. Шамрикова Е.В. Буферность к кислоте минеральных горизонтов подзолистых и болотно-подзолистых почв Республики Коми / Е.В. Шамрикова, Т.А. Соколова, И.В. Забоева // Почвоведение, 2005. № 5. С. 533-542.
5. Шамрикова Е.В. Формы кислотности и буферность к основанию минеральных горизонтов подзолистых и болотно-подзолистых почв Республики Коми / Е.В. Шамрикова, Т.А. Соколова, И.В. Забоева // Почвоведение, 2003. № 9. С. 958-967.
6. Хромато-масс-спектрометрическое определение фталатов и органических кислот в воде. Методические указания. МУК 4.1.738-99. 1999. 12 с.
7. Творожникова Т.А. Сезонная динамика роста эктомикоризных корней ели сибирской и содержание в них сахаров / Т.А. Творожникова, С.В. Загирова, В.В. Пунегов // Физиология растений, 2009. № 1. С. 117-123.
8. Кауричев И.С. О миграции и качественном составе воднорастворимого органического

кого вещества в почвах лесолуговой зоны / И.С. Кауричев, Е.М. Ноздрунова // Изв. ТСХА. Почвоведение и агрохимия, 1962, № 5. С. 106-115.

9. Van Hees P.A.W. Equilibrium models of aluminium and iron complexation with different organic acids in soil solution / Van Hees P.A.W., Lundstrom U.S. // Geoderma. 2000. V. 94. № 2-4. P. 201-221.

10. Lundstrom U.S. Advances in understanding the podzolization process resulting from a multidisciplinary study of three coniferous forest soils in the Nordic Countries / Lundstrom U.S., Van Breemen N., Bain D.C., Van Hees P.A.W. et al. // Geoderma, 2000. V. 94. P. 335-353.

11. Jansen B. Mobility of Fe(II), Fe(III) and Al in acidic forest soils mediated by dissolved organic matter: influence of solution pH and metal/organic carbon ratios / Jansen B., Nierop K.G.J., Verstraten J.M. // Geoderma. 2003. V. 114. Iss. 1-2. P. 323-340.

12. Shuk-Ching T. Aluminium-Binding Ability of Soluble Organics in Douglas Fir Litter and Soil / Shuk-Ching T., McColl J. // Soil Sci. Soc. Am.J., 1991. № 5. P. 1421-1427.

13. Martell A.E. The determination and use of stability constants / Martell A.E., Motekaitis R.J. VCH Publishers Inc. New York, 1988. P. 77-142.

14. Sikora F.J. Aluminium Complexation by Protocatechuic and Caffeic Acids as Determination by Ultraviolet Spectrophotometry / Sikora F.J., McBride M.B. // Soil Sci. Soc. Am.J., 1990. № 54. P. 78-86.

15. Argen S. Aluminium from two glacial tills – flows and retention mechanisms / Argen S., Jacks G. // Aqua Fennica, 1991. № 21. P. 29-37.

Ключевые слова:

водорастворимые органические соединения почв, хромато-масс-спектроскопия

16. Bache B.W. Soluble aluminium and calcium-aluminium exchange in relation to pH of dilute calcium chloride suspensions of acids soils // J. Soil Sci, 1974. № 25. P. 320-332.

17. Adams W.A. Effects of lime applications to upland catchment on soil properties and the chemistry of drainage waters / Adams W.A., Evans G.M. // J. Soil Sci, 1989. № 40. P. 585-597.

18. Sposito G. The chemistry of Soils. Oxford University Press, Oxford. 1989. 277 p.

19. Bache B.W. The release of Al into soil solutions and drainage waters in Acid Deposition: Origins, inputs and alsostatement statyies. Ed. J.W.S. Longhurst. 1991. 254 p.

20. Bertsch P.M. Speciation of Hydroxy-Aluminium Solution by Wet Chemical and Aluminium-27 NMR Methods / Bertsch P.M., Layton W.J., Barnhisel R.I. // Soil Sci. Soc. Am.J., 1986. № 50. P. 1449.

21. Моррисон Р. Органическая химия / Моррисон Р., Бойд Р. М.: Изд-во Мир, 1974. 1131 с.

22. Gerke J. Aluminium complexation by humic substances and aluminum species in the soil solution // Geoderma, 1994. № 63. P. 165-175.

23. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Химия. 1989, 447 с.

24. Воробьева Л.А. Теория и методы химического анализа почв. М.: Изд-во МГУ, 1998. 272 с.

25. Шамрикова Е.В. Кислотность КСI-вытяжек из органогенных горизонтов почв: источники, возможные равновесия // Почвоведение, 2010. № 7. С. 1-8.

E.V. Shamrikova, I.V. Gruzdev, V.V. Punegov, E.V. Vanchikova, A.A. Vetoshkina

WATER QUALITATIVE ANALYSIS OF PODZOLIC SOILS OF KOMI REPUBLIC BY CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

Chromatography-mass spectrometry method was used for qualitative analysis of aqueous extracts of organogenic horizons of podzolic soils in the middle taiga of the Komi Republic. More than 40

individual organic compounds of six classes have been identified, notably acids, alcohols, aldehydes, ketones, esters, and carbohydrates. The results depend on soil sample pretreatment.

Key words: chromatography-mass spectrometry, water soluble organic compounds