

# КОРРЕКТОРЫ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ УГЛЯ: ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ

Т.А. Соркина, Н.А. Куликова,  
О.И. Филиппова, Д.А. Панкратов,  
И.В. Перминова, В.С. Петросян

МГУ им. М.В. Ломоносова



**Ж**елезодефицитное состояние растений, известное как карбонатный хлороз, проявляется в ослаблении зеленой окраски и пожелтении листьев, ослаблении роста, снижении количества и качества урожая. Проблема железодефицитного хлороза остро стоит при выращивании растений на почвах с повышенным содержанием карбоната кальция с высоким значением рН, особенно в закрытом грунте, а также при благоустройстве городских и рекультивации загрязненных территорий [1, 2].

В настоящее время для коррекции железодефицитного хлороза используют в основном устойчивые к гидролизу при  $pH = 7 \div 8$  синтетические хелаты железа(III) [1]. При этом железо из таких комплексов за один-два года потребляется растениями, а устойчивые органические лиганды остаются в почве, в результате чего повышается и без того высокая химическая нагрузка на почву. Кроме того, при попадании в природные водоемы такие органические лиганды образуют с тяжелыми металлами устойчивые комплексы, переводя их из

донных осадков в подвижную, биологически доступную форму, что приводит к биоаккумуляции этих загрязняющих веществ в пищевых цепях [3]. Таким образом, замена синтетических хелатов на природные комплексоны, содержащие биологически доступное железо, является важной задачей современной экологии.

В почве важную роль в минеральном питании растений играют обладающие комплексообразующими свойствами гуминовые вещества (ГВ) — это сложные смеси устойчивых к биодеструкции высокомолекулярных темноокрашенных органических соединений природного происхождения, образующихся при разложении растительных и животных остатков под действием микроорганизмов и абиотических факторов среды [4]. Существенным преимуществом использования ГВ в качестве матриц для внесения микроэлементов, в том числе железа, по сравнению с синтетическими препаратами является то, что внесение их в почву способствует снижению стресса, вызываемого дефицитом железа, и улучшает адаптационные свойства растений.

Под руководством И.В. Перминовой была разработана методика синтеза препаратов, содержащих биологически доступное железо на основе гуминовых веществ леонардита (Пат. РСТ WO 2005/042551 A1). Леонардит — верхний окисленный слой бурого угля — является одним из отходов производства угля и содержит до 90 % ГВ. Создание продуктов с добавленной стоимостью на основе леонардита и других низкокалорийных углей может быть решением как экологических, так и экономических проблем угледобывающих регионов России.

Таким образом, целью данной работы было создание препаратов по коррекции железодефицитного состояния растений на основе доступного отечественного сырья — гуминовых веществ бурого угля, оценка их биологической активности и сопоставление данных о формах существования железа и результатов биологического тестирования.

## Материалы и методы

**Синтез гуматов железа.** В качестве исходных веществ для синтеза гумата железа использовали гумат калия в виде коммерческого препарата "Сахалинский гумат", производимого из бурого угля Солнцевского месторождения острова Сахалин компанией

Данная работа была проведена при финансовой поддержке Фонда содействия развития малых форм предприятий в научно-технической сфере, "У.М.Н.И.К.-09", проект № 6381p/8989.

"Биомир 2000", сульфат железа(II) —  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  и аскорбиновую кислоту. Синтез проводили по усовершенствованной методике (Пат. РСТ WO 2005/042551 A1). Гумат калия растворяли в дистиллированной воде, отделяли нерастворимую часть на центрифуге и добавляли 20 %-ный раствор сульфата железа(II), контролируя pH. В работе было синтезировано два гумата железа, один из которых был получен с использованием аскорбиновой кислоты для стабилизации железа(II). Для этого готовили раствор, содержащий 20 % железного купороса и 2 % аскорбиновой кислоты. После внесения всего сульфата железа раствор перемешивали еще в течение часа. Далее полученный раствор сушили под вакуумом и досушивали в эксикаторе над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Препаратам, полученным с использованием и без использования аскорбиновой кислоты, были присвоены шифры Fe-Sh-9-AK и Fe-Sh-9 соответственно.

**Химический анализ препаратов.** Элементный состав препаратов определяли на элементном C, H, N анализаторе фирмы Carlo Erba Strumentazione 1106 (Италия) по методике, разработанной для гуминовых веществ [5].

Для определения содержания железа в сухих препаратах и в биологических объектах требуется окислительное разложение органической части образцов. Разложение органической части в сухих препаратах осуществлялось с помощью титанового автоклава. Для этого четыре навески препарата по 30 мг помещали в тефлоновые ёмкости автоклава, вносили по 300 мг  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  и по 1 мл  $\text{HNO}_3$ . Автоклав помещали в сушильный шкаф на 3 ч при температуре 200 °С. Полученные растворы переносили в мерные колбы объемом 100 мл, выдерживали в ультразвуковой бане в течение 15 мин и определяли содержание железа в полученном растворе.

Разложение органической части растительных образцов проводили по усовершенствованной методике мокрого озоления [6] с использованием дигестора Foss Tecator DS8. Масса навески растительного образца для озоления составляла около 500 мг.

Содержание железа в пробах определяли спектрофотометрическим методом в виде комплекса с о-фенантролином на приборе Varian Cary 50 согласно [7]. Для этого в мерные колбы объемом 10 мл вносили по 1 мл 0,1 %-ного раствора о-фенантролина, 7 мл анализируемой пробы и 1 мл гидроксиламинового буфера, доводили до метки и инкубировали 3 мин. В полученных растворах измеряли оптическую плотность при длине волны 512 нм.

Мёссбауэровские спектры регистрировали на экспрессном мёссбауэровском спектрометре электродинамического типа с равноускоренным режимом работы вибратора МС1101-Э (производства "MosTec", г. Ростов-на-Дону). Мёссбауэровские спектры измеряли при комнатной температуре. Источником гамма-излучения служил стандартный источник  $^{57}\text{Co}/\text{Rh}$  производства ЗАО "Циклотрон", (г. Обнинск) активностью 0,6 ГБк. Полученные спектры обрабатывали с помощью соответствующего программного обеспечения (Univem MS 4.02b, НИИ физики РГУ, Ростов-на-Дону) методом наименьших квадратов. Параметры мёссбауэровских спектров установлены относительно  $\alpha$ -железа.

**Биологическое тестирование.** Для оценки эффективности полученных препаратов были проведены вегетационные эксперименты. В качестве тест-объектов использованы растения мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта "Крестьянка".

Биологическое тестирование проводили методом гидропоники, растения выращивали на питательных средах, содержащих все необходимые минеральные компоненты питания растений, в том числе железо в виде исследуемых препаратов. Для обеспечения поступления железа только из исследуемых препаратов, при приготовлении питательных сред использовали воду высокой степени очистки, полученную с помощью установки Millipore Simplicity 185. Препараты железа вносили в питательные среды так, чтобы концентрация железа составляла 25 мкмоль/л, а содержание ГВ в растворах гуматов — 15 мг/л.

После окончания эксперимента спектрофотометрическим

методом определяли массу корней и побегов растений, а также содержание железа в листьях после разложения органической части.

В работе были исследованы пять видов питательных составов на основе среды Кноппа: 1) без железа (контроль); 2) с железом в виде хелата Секвестрена; 3) с железом в виде гумата железа с аскорбиновой кислотой Fe Sh 9 AK; 4) с гуматом железа без аскорбиновой кислоты Fe Sh 9; 5) с гуматом калия K-Sh. Коммерческий хелат железа(III) Секвестрен Fe ЭДГФА (этилендиамин N,N'-ди (2 гидроксифенилацетат)) использован в качестве образца для сравнения.

Биологическое тестирование проводили на растениях пшеницы. Семена пшеницы помещали в термостат при температуре 25 °С на три дня, после чего их переносили в вегетационные сосуды с питательной средой Кноппа (pH = 5,5). В сосудах объемом 500 мл размещали по 15 проростков пшеницы (по три сосуда на каждый вид питательной среды) и переносили в климатическую камеру с температурой 25 °С и фотопериодом 12 ч, в которой выдерживали их в течение семи дней. Далее побеги извлекали из вегетационных сосудов и проводили учет длины и биомассы, а также содержание железа в листьях растений.

Содержание хлорофилла в листьях растений определяли спектрофотометрическим методом после экстракции ацетоном из свежих растительных образцов при длине волны 644 и 662 нм согласно [8].

### Результаты и их обсуждение

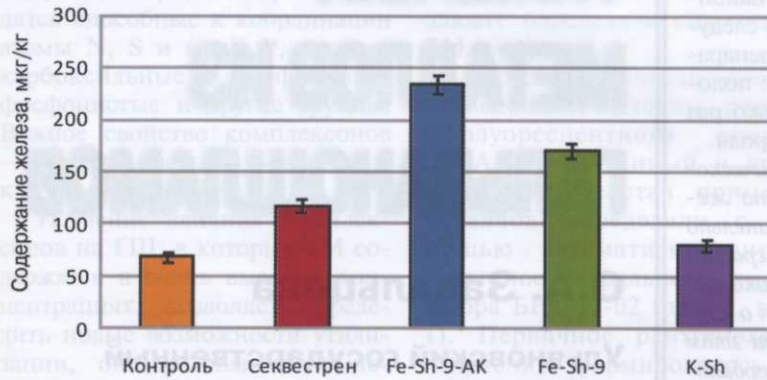
**Элементный анализ.** Элементный состав исследуемых препаратов (см. таблицу) является типичным для гуминовых веществ. Отличительной особенностью данных препаратов является высокая зольность, которая объясняется повышенным содержанием минеральных компонентов, в том числе соединений железа.

**Определение железа в сухих препаратах.** Содержание железа в полученных препаратах составляет  $8,8 \pm 0,1$  % и более, что удовлетворяет требованиям, предъявляемым к микроудобрениям (содержание железа должно быть не

**Элементный состав исследуемых препаратов гуминовых веществ**

Препарат	Зольность, % по массе	Содержание элементов *, % по массе			Атомное соотношение	
		C	H	O	H/C	O/C
Fe Sh 9 AK	50,1	51,8	3,1	42,4	0,71	0,62
Fe Sh 9	49,1	57,1	2,9	36,9	0,62	0,49
K-Sh	33,7	53,5	4,3	40,5	0,96	0,57

\*Содержание элементов приведено в расчете на сухую и обеззоленную пробу.



**Влияние различных железосодержащих препаратов на содержание железа в растениях пшеницы**

ниже 5 % по массе). Содержание железа в исходном гумате калия составляет  $1,0 \pm 0,1$  %, что свидетельствует о наличии в составе природных гуминовых веществ железа, которое химически связано с ГВ и не удаляется в процессе выделения препарата. Распределение железа по формам существования определялось методом мёссбауэровской спектроскопии.

**Мёссбауэровская спектроскопия.** По данным мёссбауэровской спектроскопии синтезированные препараты гумата железа содержат в основном соединения железа в состоянии окисления (+3). Полученные мёссбауэровские спектры для образцов гумата железа, синтезированного без использования аскорбиновой кислоты, удовлетворительно описываются суперпозицией двух дублетов с соотношением площадей 1:3 и параметрами, соответственно  $\delta = 0,35 \pm 0,01$  мм/с;  $\Delta = 0,54 \pm 0,01$  мм/с,  $\Gamma_{exp} = 0,30 \pm 0,01$  мм/с и  $\delta = 0,35 \pm 0,01$  мм/с;  $\Delta = 0,85 \pm 0,01$  мм/с,  $\Gamma_{exp} = 0,50 \pm 0,01$  мм/с, где  $\delta$  — изомерный сдвиг, характеризующий степень окисления и электроотрицательность лиганда;  $\Delta$  — квадрупольное расщепление, характеризующее симметрию молекулы и тип связи;  $\Gamma_{exp}$  — магнитное дипольное расщепление, характеризующее магнитные параметры. Вероятно, что данные

параметры соответствуют атомам железа в одинаковых или близких по составу соединениях, но различающихся своей морфологией (степень кристалличности, доля поверхностных атомов кристаллитов и т.п.). В образцах же, полученных в присутствии аскорбиновой кислоты, кроме того, дополнительно наблюдается дублет, соответствующий соединению железа(II) с параметрами —  $\delta = 1,05 \pm 0,01$  мм/с;  $\Delta = 2,51 \pm 0,01$  мм/с,  $\Gamma_{exp} = 0,54 \pm 0,01$  мм/с, относительная площадь которого (в общем случае пропорциональна содержанию данной формы железа в соединении) составляет 6 %.

Мёссбауэровские спектры исходного гумата калия также описываются суперпозицией двух дублетов соответствующих соединениям железа в состоянии окисления как (+3) — 95 %, так и (+2) — 5 %, причем мёссбауэровские параметры первого дублета ( $\delta = 0,34 \pm 0,01$  мм/с;  $\Delta = 0,63 \pm 0,01$  мм/с,  $\Gamma_{exp} = 0,53 \pm 0,01$  мм/с) близки к соответствующим параметрам для синтезированных в работе препаратов. Возможно, именно эта форма соединений железа соответствует биологически доступному железу, так как присутствует и в природных гуминовых веществах.

Полученные результаты показывают, что применение аскорби-

новой кислоты в процессе синтеза позволяет частично стабилизировать железо в составе гуматов железа в состоянии окисления (+2).

Для оценки эффективности полученных соединений было проведено биологическое тестирование на растениях пшеницы.

**Биологическое тестирование.** Накопление биомассы является прямым показателем функционального состояния растений. Оценку образцов пшеницы проводили по сравнению с растениями, выращенными на питательной среде Кноппа, не содержащей железа, испытывавшими железodefицитный хлороз (контроль). Накопление массы побегов для всех исследованных препаратов оставалось на уровне контроля, в то время как на массу побегов исследованные препараты оказывали стимулирующее действие. Применение гумата железа Fe Sh 9 AK оказывало наиболее выраженное воздействие на массу корней ( $112 \pm 3$  % от контроля). Значительным эффектом также обладал препарат Fe-Sh-9 ( $109 \pm 2$  % от контроля), в то время как коммерческий хелат Секвестрен оказывал менее выраженное стимулирующее воздействие ( $106 \pm 4$  % от контроля). Таким образом, все железосодержащие препараты оказывали положительное воздействие на накопление биомассы корнями пшеницы по сравнению с контролем, причем особо можно выделить препарат Fe-Sh-9-AK, синтезированный в присутствии аскорбиновой кислоты.

Железodefицитное состояние растений проявляется в первую очередь в пожелтении листьев, которое связано с нарушением выработки хлорофилла. Поэтому содержание хлорофилла в листьях является основным параметром, указывающим на наличие или отсутствие железodefицитного хлороза. Наиболее высокий уровень хлорофилла был определен в растениях, выращенных с использованием коммерческого хелата Секвестрена ( $115 \pm 5$  % от контроля), оба гумата железа проявили стимулирующее воздействие на одном уровне ( $112 \pm 5$  % от контроля), кроме того, гумат калия также оказал положительное действие на растения пшеницы ( $105 \pm 5$  % от контроля). Действие

гумата калия объясняется как наличием в его составе 1 % железа, так и биологической активностью самих гуминовых веществ.

Основная часть физиологических процессов с участием ионов железа происходит в побегах растений, и непосредственным показателем поступления железа в растения является его накопление в побегах. Результаты влияния различных препаратов на накопление железа в побегах пшеницы приведены на рисунке. Все исследованные препараты способствовали накоплению железа в побегах пшеницы. Особо следует отметить наиболее высокий эффект препарата Fe-Sh-9-AK с аскорбиновой кислотой: положительное действие препарата в несколько раз выше обнаруженного для растений контроля.

Таким образом, по результатам биологического тестирования показано, что оба гумата железа Fe-Sh-9-AK и Fe-Sh-9 положительно воздействуют на проростки пшеницы по сравнению с контролем. Увеличение биомассы, накопление железа и хлорофилла свидетельствуют о коррекции железодефицитного состояния. При этом препарат, полученный с применением аскорбиновой кислоты, способствует накоплению железа в побегах пшеницы. Также необходимо отметить, что использование гумата калия также способствует улучшению функционального состояния растений пшеницы.

В работе синтезированы железосодержащие препараты на основе гуминовых кислот с содержанием биологически доступного железа до 9%. Химическими и биологическими методами показано, что гуматы железа, синтезированные по предложенной в настоящей работе методике, способствуют коррекции железодефицитного состояния у растений пшеницы. Причем стимулирующий эффект наиболее выражен для препарата, содержащего соединения железа(II), стабилизация которых наблюдается в присутствии аскорбиновой кислоты.

Полученные на основе гуминовых веществ бурого угля препараты являются натуральными, доступными и эффективными корректорами железодефицитного хлороза у растений и могут быть использованы в сельском хозяйстве для получения высококачественной и наиболее чистой продукции.

**Литература**

1. Дятлова Н.М., Темкина В.Я., Попов К.И. Комплексоны и комплексонаты металлов. М.: Химия, 1988.
2. Островская Л.К. Железо в растительном мире и карбонатный хлороз. Киев: Наукова думка, 1993.
3. Спицын В.И., Мартыненко Л.И. Неорганическая химия. М.: Изд-во МГУ, 1994.
4. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: Изд-во МГУ, 1990.
5. Perminova I.V., Frimmel F.H., Kovalevskii D.V. et al. // Wat. Res. 1998. № 32.
6. Минеев В.Г. Практикум по агрохимии. М.: Изд-во МГУ, 1989.
7. Марченко З., Бальцежак М. Методы спектрофотометрии в УФ и видимой областях в неорганическом анализе. М.: БИНОМ, 2007. ■
8. Малый практикум по физиологии растений / Под ред. А.Т. Мокроносова. МГУ, 1994. ■

# КОМПЛЕКСОНЫ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ ГАЛЬВАНОШЛАМОВ

**О.А. Завальцева**

**Ульяновский государственный университет**



Большинство способов утилизации гальванических шламов (ГШ) не рационально, поскольку происходит безвозвратная потеря таких ценных металлов, как никель, хром, медь, цинк и др., относящихся к исчерпаемым природным ресурсам, к тому же многие способы экологически небезопасны. Одновременно из-за истощения запасов минерального сырья следует решать задачи ресурсосбережения [1, 2].

Целесообразно вместо уменьшающихся запасов руд использовать обогащенные металлами промышленные отходы, но в настоящее время нет приемлемых промышленных технологий их переработки. Их использование затруднено высокой дисперсностью частиц и присутствием "летучих" металлов [3]. Следовательно, извлечение цветных металлов из отходов гальванических производств в настоящее время является актуальной задачей.

Суть большинства способов извлечения ионов тяжелых металлов (ТМ) из ГШ заключается в кислотном или щелочном вскрытии с последующим концентрированием и выделением ТМ [4]. При переработке смешанных шламов удается получить металл довольно низкого качества, обычно это многокомпонентные системы. К тому же извлечение ТМ из сложных по составу смешанных шламов приводит к значительному удорожанию процесса и он становится экономически нецелесообразным.