

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М. В. Ломоносова

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

УДК 547.992.2

Данченко Наталья Николаевна

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СОСТАВ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ:
ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ВЗАИМОСВЯЗЬ С РЕАКЦИОННОЙ
СПОСОБНОСТЬЮ**

02.00.03 – Органическая химия

11.00.11 – Охрана окружающей среды и рациональное
использование природных ресурсов

Научные руководители:

доктор химических наук, профессор

В. С. Петросян

кандидат химических наук

И. В. Перминова

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва-1997

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Гумусовые кислоты представляют собой наиболее обширный и реакционноспособный класс природных соединений, входящих в состав органического вещества почв, природных вод и твердых горючих ископаемых. Наличие в молекулах гумусовых кислот широкого спектра кислородсодержащих функциональных групп, таких как карбоксильные, гидроксильные, карбонильные и др. в сочетании с присутствием ароматических фрагментов обуславливает их способность вступать в ионные и донорно-акцепторные взаимодействия, образовывать водородные связи, активно участвовать в сорбционных процессах.

В силу указанных свойств гумусовые кислоты играют исключительно важную роль в процессах миграции тяжелых металлов, контролируя их геохимические потоки в окружающей среде. Следовательно, создание моделей биогеохимических циклов тяжелых металлов в окружающей среде невозможно без учета взаимодействия с гумусовыми кислотами.

Данное обстоятельство определяет важность и актуальность изучения функционального состава гумусовых кислот как основы их реакционной способности в отношении тяжелых металлов и установления количественных взаимосвязей между структурой и свойствами гумусовых кислот. При этом, вследствие нестехиометричности состава и нерегулярности строения макромолекул гумусовых кислот, до сих пор не разработаны надежные методы получения количественных данных об их функциональном составе. Кроме того, отсутствуют способы характеристики реакционной способности гумусовых кислот, которые бы учитывали присущую им неоднородность свойств. Особую сложность представляет разработка данных подходов для анализа структуры и реакционной способности нефракционированных препаратов гумусовых кислот, представляющих собой природную смесь сходных по строению, но различных по молекулярно-массовому составу гуминовых и фульвокислот.

Цель работы: определение основных функциональных групп (карбоксильных и гидроксильных) в нефракционированных препаратах гумусовых кислот и установление количественных взаимосвязей между функциональным составом гумусовых кислот и их протолитическими и комплексообразующими свойствами.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- Осуществить количественное определение основных функциональных групп, обуславливающих реакционную способность гумусовых кислот в отношении ионов металлов.
- Охарактеризовать протолитические и комплексообразующие свойства гумусовых кислот с учетом неоднородности химического окружения функциональных групп.
- Разработать способы получения структурных дескрипторов на основе данных элементного и функционального состава гумусовых кислот с целью их дальнейшего использования для корреляционно-регрессионного анализа.

- Осуществить корреляционно-регрессионный анализ блока данных по содержанию функциональных групп, протолитическим и комплексообразующим свойствам гумусовых кислот для установления количественных взаимосвязей между функциональным составом и реакционной способностью гумусовых кислот.

Научная новизна. На основании систематического исследования реакций нефракционированных препаратов гумусовых кислот и их низкомолекулярных аналогов с ацетатом кальция впервые найдены условия, обеспечивающие количественность определения карбоксильных групп ГФК.

На основании сопоставления результатов метода рК-спектроскопии с данными Са-ацетатного метода впервые показано, что суммарное содержание групп с $pK < 8$, определяемое методом рК-спектроскопии, соответствует содержанию карбоксильных групп в препаратах ГФК. На основании данного факта впервые предложено использовать средневзвешенные рК диссоциации кислотных групп в качестве характеристик реакционной способности гумусовых кислот.

С помощью корреляционно-регрессионного анализа блока данных по элементному и функциональному составу для обширной выборки модельных соединений (ароматических и алифатических карбоновых кислот) впервые показана применимость структурных дескрипторов, рассчитанных из элементного и функционального состава, для установления количественных соотношений между структурой и протолитическими свойствами данных соединений.

С помощью корреляционно-регрессионного анализа блока данных по элементному и функциональному составу, протолитическим и комплексообразующим свойствам выделенных препаратов гумусовых кислот впервые установлены количественные соотношения между структурой и реакционной способностью гумусовых кислот на примере реакций кислотной диссоциации и комплексообразования.

Практическая значимость работы. Найденные условия количественного определения карбоксильных и фенольных гидроксильных групп в нефракционированных препаратах гумусовых кислот могут быть рекомендованы для внедрения в практику почвенно-химических лабораторий.

Использованный в работе метод описания протолитических свойств гумусовых кислот может быть рекомендован к применению в расчетах распределения металлов по формам существования в природных средах.

Установленные количественные соотношения “структура-свойство” могут быть использованы для учета влияния гумусовых кислот на формы существования металлов в природных средах.

Полученные результаты по иммобилизации подвижных форм тяжелых металлов в загрязненной почве с помощью препаратов гумусовых кислот могут быть использованы для разработки нового способа рекультивации почв.

Апробация работы. Отдельные части работы были доложены на Международном конгрессе "Вода: Экология и технология" (Москва, 1994), Всероссийской конференции по

Анализу объектов окружающей среды “Экоаналитика-96” (Краснодар, 1996), Международном симпозиуме “Тяжелые металлы в окружающей среде” (Пушино, 1996 г), VII и VIII Конференциях Международного общества по изучению гумусовых веществ (IHSS) (Тринидад и Тобаго, 1994; Вроцлав, Польша, 1996) и Международном конгрессе по аналитической химии (Москва, 1997).

Публикации. По материалам работы опубликовано 6 статей и 4 тезисов докладов.

Структура диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, литературного обзора по методам элементного и группового функционального анализа гумусовых кислот, а также способам описания их протолитических и комплексообразующих свойств, обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы и приложений с данными некоторых экспериментов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Краткая характеристика объекта исследования

Гумусовые кислоты (ГФК^{*}) образуются в природных средах в результате химического и биологического разложения растительных и животных остатков. В основе данного процесса лежит отбор наиболее биотермодинамически устойчивых структур и соединение их в макромолекулы случайным образом.

По своему химическому строению ГФК представляют собой нерегулярные полимеры ароматических полиоксикарбоновых кислот с включениями азотсодержащих фрагментов. Для них характерно наличие ароматического углеродного скелета, замещенного алкильными и функциональными группами, а также периферических полисахаридных и полипептидных фрагментов (рис. 1).

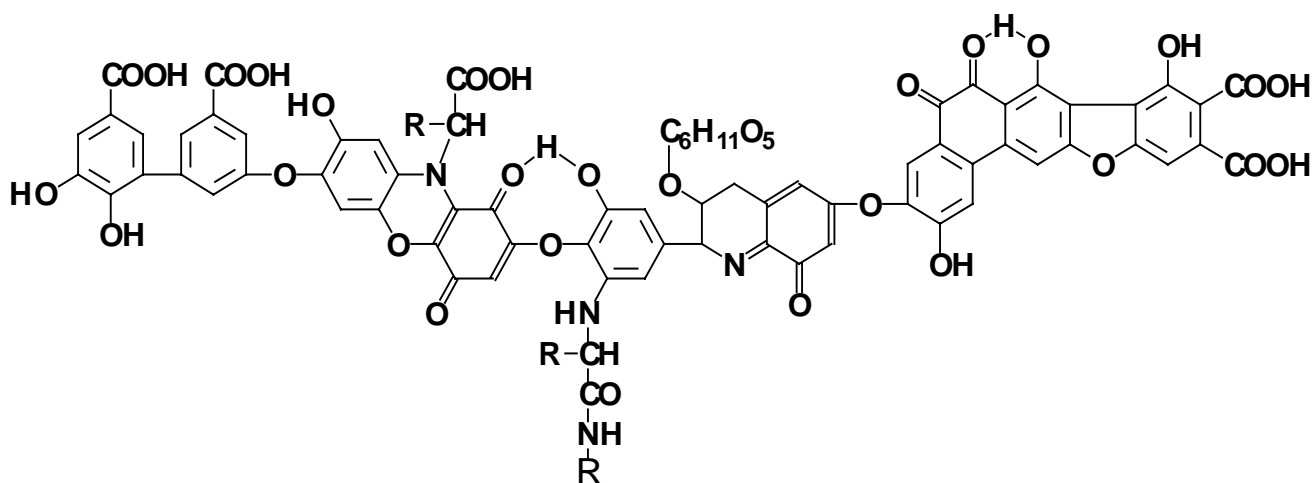


Рис. 1. Гипотетический средний структурный фрагмент гумусовых кислот почв (Stevenson, 1982). (R-алкильный заместитель).

Содержание кислорода в ГФК составляет от 30 до 40%, азота и серы – на порядок ниже. Поэтому основой их реакционной способности по отношению к тяжелым металлам являются кислородсодержащие функциональные группы, в особенности, карбоксильные и фенольные гидроксильные. В связи с этим при изучении функционального состава ГФК основное внимание было сосредоточено на количественном определении данных типов функциональных групп.

Функциональный состав, кислотно-основные и комплексообразующие свойства ГФК изучаются различными методами уже несколько десятилетий. Однако до сих пор не предпринималось попыток установить количественные соотношения между функциональным составом и указанными фундаментальными свойствами гумусовых кислот.

*Сумма высокомолекулярных гуминовых (ГК) и низкомолекулярных фульвокислот (ФК).

Выделение и общая характеристика препаратов гумусовых кислот

Для проведения исследований по стандартным методикам были выделены в препаративных количествах 12 образцов ГФК из различных торфов (Т1-Т8), черноземной почвы (П) и природных вод (В1-В3).

Препараты ГФК представляли собой аморфные порошки от темно-желтого до коричневого цвета, более светлая окраска была характерна для образцов водного происхождения. Полученные препараты оказались практически нерастворимы в большинстве органических растворителей, ограниченно растворимы в полярных апротонных растворителях (ДМСО и ДМФА) и дистиллированной воде, но обладали значительной растворимостью в растворах щелочей (до 20 г/л). Препараты не имели точки плавления и разлагались при нагревании выше 150⁰С.

Средние молекулярные массы образцов ГФК, определенные гель-хромато-графически, составили для торфяных ~ 18000; почвенных ~ 13500, водных ~ 6300 г/моль.

Элементный анализ. Все выделенные препараты ГФК были охарактеризованы методом элементного анализа. При этом особое внимание было уделено преодолению двух основных проблем: гигроскопичности твердых препаратов и зольности, обусловленной присутствием Na, Ca, Mg, Fe, K, SiO₂, Al₂O₃ и др. Поэтому для правильного определения элементного состава использовали воздушно-сухие образцы и корректировали полученные данные на влажность и зольность (несгораемый остаток) исходных препаратов. Для различных образцов влажность составила 6-9%, зольность – 1-12%. Содержание кислорода в препаратах ГФК определяли двумя способами – прямым определением и по разности.

Элементный состав выделенных препаратов ГФК в расчете на безводную, беззольную пробу приведен в Табл. 1.

Таблица 1.

Элементный состав выделенных препаратов ГФК

| Препарат | Содержание элементов, % (масс.) | | | | | Ат. отношения | |
|-------------------|---------------------------------|-----|-----|------|-----|---------------|------|
| | С | Н | N | О | S | О/С | Н/С |
| Т о р ф я н ы е | | | | | | | |
| Т1 | 52.3 | 4.5 | 2.0 | 37.2 | 3.1 | 0.52 | 1.03 |
| Т2 | 52.6 | 4.5 | 2.6 | 39.1 | 1.2 | 0.56 | 1.03 |
| Т3 | 53.8 | 4.4 | 2.5 | 38.2 | 1.1 | 0.53 | 0.98 |
| Т4 | 54.3 | 4.2 | 1.3 | 38.1 | 2.1 | 0.53 | 0.93 |
| Т5 | 53.9 | 4.2 | 2.0 | 36.8 | 3.1 | 0.51 | 0.93 |
| Т6 | 54.0 | 4.0 | 2.3 | 38.1 | 1.5 | 0.53 | 0.89 |
| Т7 | 55.4 | 4.1 | 2.7 | 36.1 | 1.7 | 0.49 | 0.89 |
| Т8 | 55.3 | 4.1 | 2.3 | 36.8 | 1.5 | 0.50 | 0.89 |
| П о ч в е н н ы й | | | | | | | |
| П | 48.5 | 4.5 | 3.5 | 40.7 | 2.8 | 0.63 | 1.1 |
| В о д н ы е | | | | | | | |
| В1 | 45.7 | 4.0 | 2.4 | 45.4 | 2.5 | 0.79 | 1.04 |
| В2 | 43.8 | 4.2 | 1.6 | 48.5 | 1.8 | 0.85 | 1.14 |
| В3 | 43.2 | 3.1 | 3.0 | 48.6 | 2.0 | 0.83 | 1.21 |

Как видно из таблицы, элементный состав ГФК варьирует в зависимости от источника происхождения: для образцов водного происхождения характерно более высокое содержание кислорода.

ИК-спектры. Выделенные препараты ГФК были охарактеризованы методом спектроскопии ИК-Фурье. Типичные спектры приведены на рис. 2.

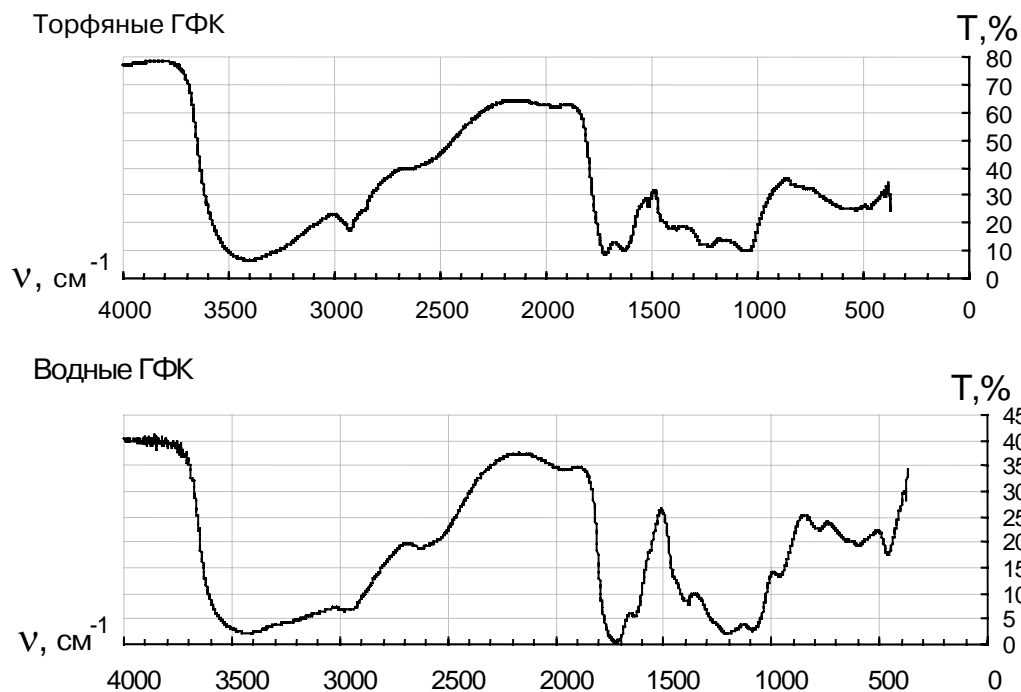


Рис. 2. Типичные ИК-спектры выделенных препаратов гумусовых кислот.

В ИК-спектрах можно выделить полосы поглощения, характерные для связанных водородной связью фенольных, спиртовых и хинонных групп, карбоксильных и карбонильных групп, скелетных связей ароматического кольца, алифатических и ароматических С-Н связей. При этом во всех спектрах водных препаратов полоса при $\nu=1720\text{ см}^{-1}$, соответствующая колебаниям $>\text{C}=\text{O}$ в составе карбоксильных групп, имеет большую интенсивность по сравнению с торфяными ГФК.

Таким образом, элементный состав и ИК-спектры выделенных препаратов указывают на преобладание кислородсодержащих функциональных групп в структуре препаратов ГФК. Следующим этапом исследования было определение основных кислородсодержащих групп в выделенных образцах.

Количественное определение карбоксильных и гидроксильных групп гумусовых кислот путем их химической модификации

Для повышения надежности количественного определения функциональных групп в выделенных препаратах необходимо было использовать набор принципиально различных методов анализа, позволяющий преодолеть ограничения и неточности отдельных методов. Для этих целей нами была выбрана схема, сочетающая методы химической модификации (с исследованием продуктов физико-химическими методами) и методы, основанные на реакциях солеобразования.

Химическая модификация

Для исчерпывающего анализа всех типов карбоксильных и гидроксильных групп в препаратах гумусовых кислот была опробована схема исследования, основанная на их модификации реагентами, которые действуют в мягких условиях и вводят в структуру группировки, имеющие характерные химические сдвиги в ^1H и ^{19}F ЯМР-спектрах. Это позволяет регистрировать продукты методом спектроскопии ЯМР:

| Тип модификации | | Определяемые группы |
|--|---|-----------------------------------|
| 1) силилирование Me_3SiCl или $\text{Et}_2\text{N-SiMe}_3$ | – | $\Sigma(\text{OH}+\text{COOH})$ |
| 2) метилирование CH_2N_2 | – | $\Sigma(\text{ArOH}+\text{COOH})$ |
| 3) метилирование $\text{BF}_3\cdot\text{CH}_3\text{OH}$ | – | ΣCOOH |
| 4) ацилирование Ac_2O или трифторацетилимидазолом– | | $\Sigma(\text{ArOH}+\text{ROH})$ |

Применение большинства из перечисленных реагентов было описано для фульвокислот (низкомолекулярной фракции ГФК). Специфика нашего исследования состояла в том, чтобы охарактеризовать с их помощью нефракционированные образцы.

После проверки корректности схемы эксперимента на гидроксibenзойных кислотах и циклогексаноле, обработке различными агентами были подвергнуты в общей сложности 15 проб разных препаратов ГФК. Образцы метилированных препаратов характеризовали методом элементного анализа, остальные производные получали непосредственно в ампулах для ЯМР-спектроскопии и не выделяли.

Однако все полученные производные имели настолько низкую растворимость в органических растворителях (включая ДМСО), что в спектрах присутствовали практически только сигналы растворителя и следов реагентов.

В связи с изложенным схема исследования была изменена. Для определения суммарного содержания гидроксильных групп был использован метод, позволяющий детектировать количество прореагировавших групп в нерастворимом продукте. Он основан на переэтерификации ацилированных образцов с последующим ГЖХ-определением низкомолекулярного продукта. Метод включает три последовательные стадии ($\text{R} = \text{Alk}$ или Ar):

- 1) Ацилирование в пиридине:
$$\text{ROH} + (\text{Ac})_2\text{O} \xrightarrow{\text{Py}} \text{ROAc} + \text{AcOH}$$
- 2) Переэтерификация бутанолом:
$$\text{ROAc} + n\text{-BuOH} \xrightarrow{\text{H}^+} \text{ROH} + n\text{-BuOAc}$$
- 3) Экстракция и хроматографическое определение бутилацетата.

В литературе описано использование данного метода для фульвокислот. Нам удалось адаптировать его для нефракционированных препаратов, изменив аппаратное оформление, что позволило проводить обе синтетические стадии в одной ампуле.

Содержание гидроксильных групп в исследуемых препаратах ГФК, определенное описанным методом, приведено в Табл. 2.

Таблица 2.

Содержание гидроксильных групп в выделенных образцах ГФК.

| Препарат | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | П | B1 | B2 | B3 |
|----------|----|----|----|----|----|----|----|----|---|----|----|----|
|----------|----|----|----|----|----|----|----|----|---|----|----|----|

| | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| ОН-групп, ммоль/г* | 2.4± | 4.4± | 5.0± | 3.4± | 9.5± | 2.7± | 6.4± | 6.9± | 3.4± | 6.1± | 4.2± | 3.7± |
| | 0.1 | 0.8 | 1.0 | 0.6 | 0.8 | 0.5 | 0.6 | 0.8 | 0.7 | 0.7 | 0.8 | 0.6 |

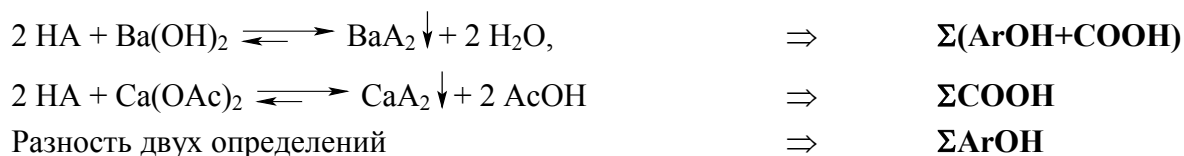
*n=3, доверительная вероятность P=95%.

Полученные данные не позволяют проследить зависимости суммарного содержания гидроксильных групп от источника происхождения ГФК. Возможно, это связано с неполнотой протекания реакции ацилирования, подтвержденной результатами ИК-спектроскопического исследования ацилированных препаратов ГФК.

Определение фенольных и карбоксильных групп в гумусовых кислотах с помощью реакций с гидроксидом бария и ацетатом кальция

Поиск условий количественного анализа нефракционированных препаратов ГФК

Благодаря кислотным свойствам фенольных и карбоксильных групп, их содержание в ГФК можно определить в водных растворах с помощью следующих реакций (А – кислотный остаток ГФК):



Для оценки числа прореагировавших групп в баритовом методе избыток $\text{Ba}(\text{OH})_2$ титруется HCl , в Са-ацетатном – определяется количество уксусной кислоты, высвободившейся в результате реакции. Несмотря на образование малорастворимых соединений, обе реакции в значительной степени обратимы. В связи с этим в обоих случаях реагент берется в избытке. Однако систематические исследования, направленные на обоснование оптимальных соотношений реагент/субстрат при анализе ГФК почвенного и водного происхождения, отсутствуют. Кроме того, часто ставится под сомнение применимость данных реакций для анализа препаратов ГФК, образующих растворимые соединения с Са и Ва (фульвокислоты). Отдельной проблемой является определение точки эквивалентности при титровании избытка $\text{Ba}(\text{OH})_2$ в баритовом методе и выделившейся уксусной кислоты – в Са-ацетатном.

В связи с этим нами было исследовано влияние на количество определяемых по данным реакциям групп трех основных факторов:

- 1) количественные соотношения реагент/субстрат;
- 2) образование растворимых гуматов бария и кальция;
- 3) способ определения точки эквивалентности.

Путем исследования зависимостей количества определяемых кислотных групп от концентрации реагента ($\text{Ba}(\text{OH})_2$ или $\text{Ca}(\text{OAc})_2$) в реакционной смеси найдены оптимальные соотношения реагент/субстрат: 30-60 ммоль $\text{Ba}(\text{OH})_2$ на 1 г ГФК, что соответствует 6-кратному избытку и выше, и 250-400 ммоль $\text{Ca}(\text{OAc})_2$ на 1 г ГФК (~100-кратный избыток).

Определения в тех же условиях для модельных органических кислот, образующих растворимые соли с Ва и Са, показали, что при использовании оптимальных соотношений реагент/субстрат образование растворимых солей не влияет на правильность определения

содержания карбоксильных групп Са-ацетатным методом, однако, в случае баритового метода может приводить к неполному определению фенольных групп. Максимальная степень недоопределения фенольных групп для препаратов ГФК может составить ~10%.

Исследование кривых потенциометрического титрования избытка Ва(ОН)₂ в баритовом методе и выделившейся уксусной кислоты в Са-ацетатном методе для образцов ГФК и модельных гидроксibenзойных кислот позволило установить следующее. Выбор точки эквивалентности не вносит существенных ошибок в определение баритовым методом и здесь можно использовать как титрование по индикатору, так и титрование до фиксированных значений рН. Для Са-ацетатного метода, наоборот, результат сильно зависит от способа определения точки эквивалентности и правильные данные можно получить лишь при точном определении точки эквивалентности по точке перегиба, найденной расчетными методами.

Содержание карбоксильных и фенольных групп в выделенных препаратах гумусовых кислот и распределение кислорода по основным структурным фрагментам

Результаты определения в препаратах ГФК карбоксильных групп Са-ацетатным методом, фенольных – по разности определений баритовым и Са-ацетатным методами приведены в табл. 3.

Как видно из таблицы, среднее содержание карбоксильных групп для образцов, выделенных из водных сред, выше, чем для торфяных и почвенных. Это согласуется с более высоким отношением О/С, рассчитанным для них из данных элементного анализа. Для фенольных групп, как и для гидроксильных групп, определенных ацилированием, не прослеживается зависимости их содержания от источника происхождения препарата ГФК.

Таблица 3.

Содержание карбоксильных и фенольных групп в исследуемых препаратах гумусовых кислот.

| Препарат | COOH-групп, ммоль/г | ArOH-групп, ммоль/г (по разности) |
|-------------------|---------------------|--------------------------------------|
| Т о р ф я н ы е | | |
| T1 | 7.1±0.3 | 2.8±0.8 |
| T2 | 2.7±0.2 | 3.9±0.6 |
| T3 | 3.1±0.3 | 5.9±1.3 |
| T4 | 3.1±0.1 | 3.9±0.7 |
| T5 | 2.9±0.1 | 5.3±0.7 |
| T6 | 3.1±0.2 | 5.9±1.2 |
| T7 | 4.0±0.2 | 3.9±0.6 |
| T8 | 4.0±0.4 | 5.4±0.9 |
| П о ч в е н н ы й | | |
| П | 3.9±0.3 | 5.1±0.7 |
| В о д н ы е | | |
| B1 | 7.6±0.6 | 3.3±1.2 |
| B2 | 7.7±0.8 | 1.9±2.2 |
| B3 | 5.0±0.6 | 7.4±1.3 |

Сравнение Табл. 2 и 3 показывает, что содержание фенольных групп, рассчитанных по разности определений баритовым и Са-ацетатным методами, как правило, превышает суммарное содержание гидроксильных групп (ArOH+ROH), определенное методом ацилирования. Данный факт подтверждает вывод о неполном ацилировании гидроксильных групп ГФК, сделанный ранее на основе ИК-спектроскопического исследования ацилированных ГФК. По-видимому, это связано с пространственной затрудненностью фенольных групп в высокозамещенных ароматических кольцах ГФК, что заставляет предположить протекание реакции ацетилирования, в основном, по спиртовым группам ГФК.

Для проверки правильности полученные данные о количестве основных кислородсодержащих групп сравнивали с имеющимися в нашем распоряжении результатами, полученными методами ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии (Рис. 3).

Как видно из рисунка, для большинства образцов наблюдается хорошее соответствие результатов определения карбоксильных групп тремя методами, что свидетельствует об их правильности.

В то же время результаты определения фенольных групп плохо согласуются между собой. Возможными причинами этому могут служить ненадежность определения фенольных групп из ^{13}C ЯМР-спектров и наложение ошибок при определении фенольных групп по разности между баритовым и Са-ацетатным методами. Тем не менее, для семи из двенадцати препаратов содержания фенольных групп, рассчитанные из данных функционального анализа и ЯМР, оказались довольно близкими.

Сравнение результатов ацетилирования и имеющихся в нашем распоряжении данных по содержанию спиртовых групп, рассчитанных из ПМР-спектров для семи препаратов, подтвердило наше предположение о том, что ацилированию подвергаются, в основном, спиртовые группы ГФК.

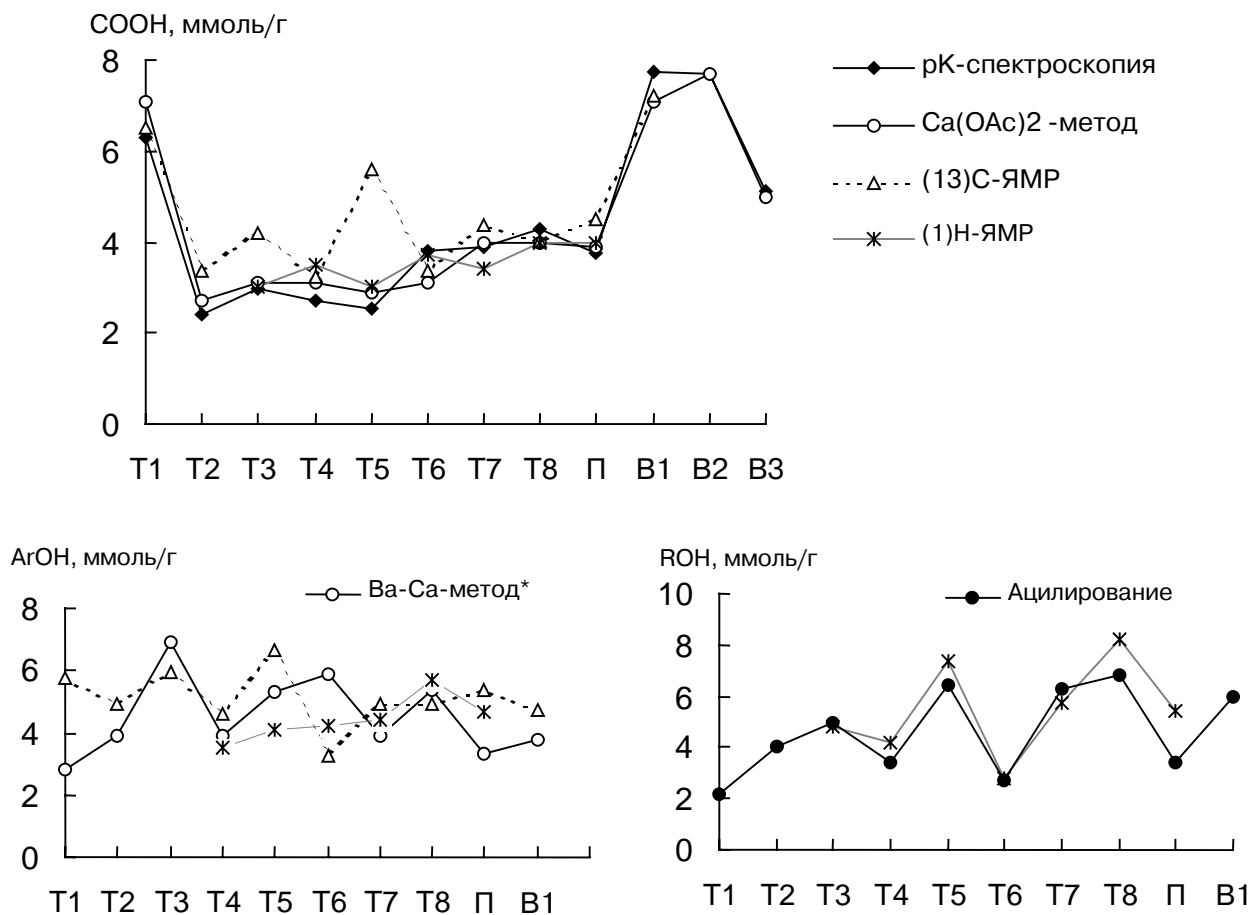


Рис. 3. Сопоставление результатов определения карбоксильных и гидроксильных групп в образцах ГФК различными методами. (Серия данных, полученных методом рК-спектроскопии – см. след. раздел).

Совместный анализ данных по элементному и функциональному составу исследуемых препаратов ГФК позволил рассчитать распределение кислорода по основным структурным фрагментам. Согласно полученным результатам, в структуре ГФК в состав карбоксильных и гидроксильных (фенольные + спиртовые) групп входит 75-85% кислорода, что подтверждает определяющую роль данных типов групп для проявляемых химических свойств ГФК. 15-25% кислорода использованными методами не определялись. По-видимому, они содержатся в виде метоксильных, сложноэфирных, пептидных и карбонильных групп.

Данные по распределению кислорода, усредненные по образцам одинакового происхождения, приведены в виде диаграммы на Рис. 4.

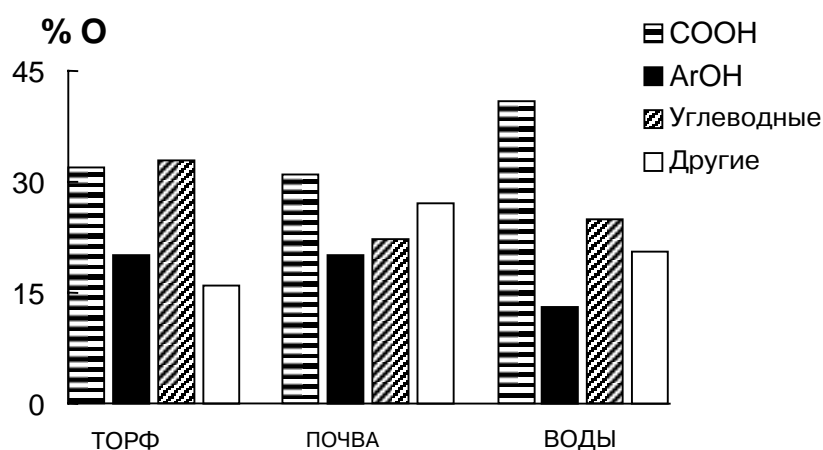


Рис. 4. Распределение кислорода по основным структурным фрагментам ГФК различного происхождения.

Приведенная диаграмма наглядно демонстрирует различия в распределении кислорода по перечисленным фрагментам для ГФК различного происхождения. Торфяные ГФК отличаются наиболее высоким вкладом углеводных фрагментов, водные - доминированием карбоксильных групп, почвенные - более равномерным распределением кислорода между рассматриваемыми фрагментами.

Определение характеристик реакционной способности гумусовых кислот

Химическая гетерогенность (присутствие в структуре различных по химическому окружению карбоксильных и гидроксильных групп) и полиэлектролитная природа ГФК приводит к тому, что функциональные группы одного типа проявляют различную способность к кислотной диссоциации и комплексообразованию с переходными металлами. Поэтому наиболее адекватно протолитические и комплексообразующие свойства ГФК описываются распределениями ионогенных групп и комплексообразующих центров по проявляемой реакционной способности. В связи с этим нами был использован именно такой подход для характеристики реакционной способности.

Кислотная диссоциация

Для расчета распределений ионогенных групп препаратов ГФК по рК кислотной диссоциации (pK_a) – так называемых рК-спектров, были получены кривые прямого потенциометрического титрования ГФК в бессолевых растворах. С помощью оригинальной компьютерной программы из титриметрических данных были рассчитаны рК-спектры (Рис. 5).

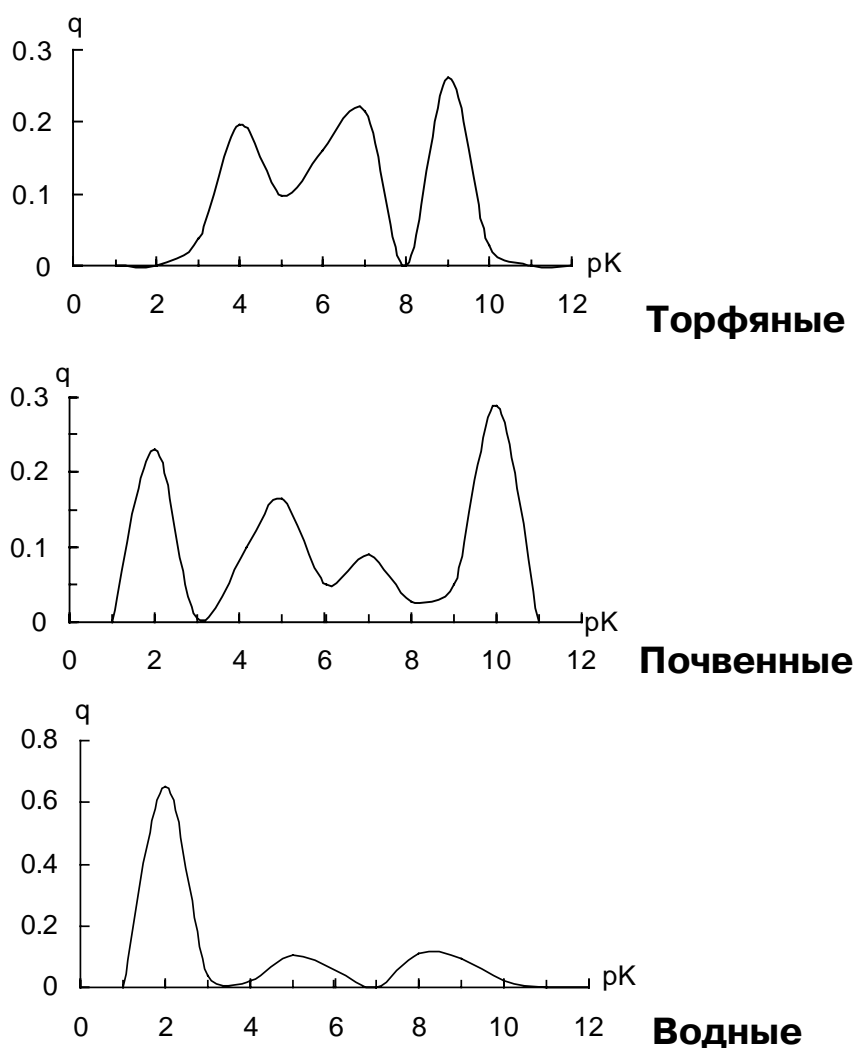


Рис. 5. Типичные рК-спектры ГФК различного происхождения (q- мольная доля групп с данным рК).

Алгоритм расчета основан на численном решении относительно q_i (мольная доля групп с константой диссоциации K_i) системы уравнений вида:

$$\frac{[\text{H}^+] - [\text{OH}^-]}{c_0 V_0} (V_0 + V_T) + \frac{c_T V_T}{c_0 V_0} = \sum_{i=1}^N q_i \frac{K_i}{K_i + [\text{H}^+]},$$

записанных для каждой точки кривой титрования. Здесь c_0 и V_0 – концентрация и начальный объем титруемого раствора, c_T и V_T – концентрация и добавленный объем титранта. Решение системы находили линейным МНК с ограничениями на неотрицательность получаемых значений q_i .

Полученные рК-спектры торфяных и почвенных ГФК характеризовались наличием 3-4 максимумов, тогда как для всех водных образцов наблюдалось три максимума с большим вкладом сильноокислых групп.

Особо следует отметить, что в рК-спектрах практически всех исследованных препаратов ГФК наблюдался минимум при $\text{p}K_a \sim 7-8$. Это позволило отнести все пики при $\text{p}K \leq 8$ к карбоксильным группам, а пик при $\text{p}K \geq 8$ – к фенольным. Суммированием долей всех

групп, входящих в указанные интервалы, были рассчитаны содержания карбоксильных и фенольных групп, а также их средневзвешенные pK_a (Табл. 4).

Таблица 4.

Содержание карбоксильных и фенольных групп в ГФК, определенное методом рК-спектроскопии, и их средние pK_a

| Препарат ГФК | ммоль/г | | Средневзвешенные pK_a | | |
|-------------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|---------------------|
| | COOH- групп | ArOH- групп | COOH- групп | ArOH- групп | по всему спектру |
| Т о р ф я н ы е | | | | | |
| T1 | 6.3 | 1.2 | 4.6 | 8.2 | 5.5 |
| T2 | 2.4 | 0.9 | 4.9 | 9.2 | 6.0 |
| T3 | 3.0 | 2.1 | 4.8 | 9.6 | 6.6 |
| T4 | 2.7 | 1.3 | 4.3 | 9.5 | 5.9 |
| T5 | 2.5 | 1.1 | 5.5 | 9.1 | 6.5 |
| T6 | 6.0 | 0.9 | 4.9 | 9.0 | 5.3 |
| T7 | 3.9 | 2.1 | 4.8 | 10.3 | 6.5 |
| T8 | 4.3 | 0.9 | 4.6 | 9.0 | 5.2 |
| П о ч в е н н ы й | | | | | |
| П | 3.8 | 2.1 | 4.3 | 9.9 | 5.9 |
| В о д н ы е | | | | | |
| B1 | 7.7 | 2.2 | 2.7 | 8.6 | 3.4 |
| B2 | 7.7 | 1.9 | 3.4 | 8.4 | 3.9 |
| B3 | 5.1 | 6.5 | 2.7 | 9.9 | 6.3 |

Как видно из Табл. 4, средневзвешенные pK_a карбоксильных и фенольных групп существенно варьируют для различных образцов ГФК. При этом образцы водного происхождения отличаются более низкими значениями pK_a^{COOH} . Данная тенденция, вероятно, обусловлена значительным полиэлектролитным эффектом, присущим более высокомолекулярным ГФК торфа и приводящим к снижению эффективной константы диссоциации кислотных групп.

Суммарное содержание кислотных групп, рассчитанное из рК-спектров, оказалось существенно ниже определяемого баритовым методом. По-видимому, это связано с невозможностью определения методом рК-спектроскопии групп с $pK_a \geq 11$, в то время как баритовым методом такие группы определяются благодаря образованию нерастворимого осадка и более высокого рН реакционной среды.

Для большинства образцов ГФК найдено хорошее совпадение результатов определения карбоксильных групп Са-ацетатным методом и рассчитанных из рК-спектров. Расхождения лежат в пределах 3-10%. Данный факт служит подтверждением адекватности полученных рК-спектров реальному распределению кислотных групп, и позволяет рекомендовать их для расчета характеристик протолитических свойств ГФК.

Исследование связывания ионов меди(II) гумусовыми кислотами.

Наиболее интересными с точки зрения приложения к прогностическим моделям поведения экотоксикантов в окружающей среде являются характеристики комплексообразующей способности ГФК с металлами в условиях близких к природным, когда лиганд (ГФК) содержится в значительном избытке по отношению к связываемому металлу. Определить такие характеристики позволяет ионообменный метод Шуберта, основанный на измерении коэффициентов распределения металла между фазами раствора и катионита в присутствии различных концентраций лиганда и в его отсутствие. При этом на величины констант устойчивости комплексов $\beta_n = \frac{[CuL_n]}{[Cu][L]^n}$, определяемые из экспериментальных зависимостей, влияют все реализуемые в исследуемых условиях типы связывания металла с ГФК. То есть такие константы являются средневзвешенными по всем связывающим центрам и могут, как и средневзвешенные pK_a , служить интегральной характеристикой реакционной способности препаратов ГФК.

В связи с вышесказанным данный метод был использован для характеристики комплексообразующей способности ГФК по отношению к ионам меди(II). Определены константы $lg\beta_1$ и $lg\beta_2$ – для комплексов состава 1:1 и 1:2. Для их расчета использовали два способа выражения концентрации лиганда: через массовую концентрацию ГФК и мольную концентрацию карбоксильных групп в растворе, поскольку известно, что именно карбоксильные группы вносят наибольший вклад в комплексообразование ГФК. Результаты определений приведены в Табл. 5.

Таблица 5.

Значения условных констант устойчивости комплексов меди(II) с препаратами ГФК при pH 5 и ионной силе 0.01 М ($n = 3$, $P = 95\%$).

| Препарат | $lg\beta_1^*$ | $\pm\Delta$ | $lg\beta_2^*$ | $\pm\Delta$ | $lg\beta_1(\text{COOH})^*$ |
|-------------------|---------------|-------------|---------------|-------------|----------------------------|
| Т о р ф я н ы е | | | | | |
| T1 | 4.2 | 0.4 | 5.3 | 1.5 | 6.3 |
| T2 | 4.5 | 0.5 | 4.9 | 0.9 | 7.0 |
| T3 | 3.9 | 0.2 | 4.8 | 1.2 | 6.4 |
| T4 | 4.6 | 0.2 | 5.3 | 0.4 | 7.1 |
| T5 | 4.5 | 0.6 | 5.4 | 1.5 | 7.0 |
| T6 | 4.4 | 0.3 | 6.1 | 0.4 | 6.9 |
| T7 | 4.2 | 0.2 | 4.5 | 0.7 | 6.6 |
| T8 | 4.4 | 0.2 | 4.8 | 0.7 | 6.8 |
| П о ч в е н н ы е | | | | | |
| П | 4.0 | 0.3 | 5.2 | 0.7 | 6.4 |
| В о д н ы е | | | | | |
| B1 | 4.2 | 0.3 | 4.9 | 0.9 | 6.4 |
| B2 | 3.8 | 1.5 | 5.4 | 0.4 | 5.4 |
| B3 | 4.2 | 0.6 | 5.5 | 0.6 | 6.5 |

*В расчете на массовую концентрацию ГФК.

** В расчете на молярную концентрацию карбоксильных групп

Как видно из таблицы, константы устойчивости комплексов меди(II) с гумусовыми кислотами, определенные в расчете на концентрацию карбоксильных групп, оказались

сравнимыми, и в некоторых случаях выше таковых для салициловой кислоты ($\lg\beta_1 = 6$). Следовательно, независимо от источника происхождения ГФК обладают сильными хелатирующими свойствами и могут быть использованы для закрепления либо мобилизации металлов в почве.

Установление количественных соотношений между функциональным составом и реакционной способностью ГФК

Для получения зависимостей “структура-свойство” обычно применяют метод корреляционных соотношений. Данный метод основан на проведении корреляционно-регрессионного анализа между блоком параметров, описывающих структуру исследуемых соединений (так называемых структурных дескрипторов), и физико-химическими параметрами, характеризующими прогнозируемое свойство. Для этих целей используют дескрипторы состава (атомные отношения и молекулярные массы), химико-топографические (количества, длины и углы связей и др.) и квантово-механические. В связи с нестехиометричностью состава и нерегулярностью строения ГФК применение двух последних типов дескрипторов для описания их структуры практически невозможно. Нами было сделано предположение, что в этих целях могут быть использованы дескрипторы состава, расширенные за счет характеристик распределения элементов между основными функциональными группами.

Исходя из значимости исследованных функциональных групп для проявляемых ГФК свойств нами использовался следующий *набор дескрипторов*:

Атомные соотношения:

O/C, H/C и

U/C (ненасыщенность в расчете на один атом углерода) (доли кислорода в соответствующих группах)

Распределение кислорода:

COOH/O, ArOH/O и ROH/O

В качестве *прогнозируемых свойств* были использованы:

- а) средневзвешенные константы кислотной диссоциации карбоксильных групп, фенольных гидроксильных и всех ионогенных групп – $\overline{pK}_{\text{COOH}}$, $\overline{pK}_{\text{ArOH}}$, \overline{pK} ;
- б) константы устойчивости комплексов ГФК с медью – $\lg\beta_1$ и $\lg\beta_2$.

Применимость такого подхода для прогнозирования кислотно-основных свойств была проверена на наборе модельных карбоновых кислот, содержащих только алкильные и кислородсодержащие заместители (28 ароматических и 28 алифатических). Несмотря на высокую степень приближенности такого подхода была установлена значимая корреляция констант диссоциации, усредненных по различным изомерам и ступеням для многоосновных кислот, с параметрами описанного типа.

Для повышения значимости искомых корреляций набор образцов ГФК был расширен за счет фульвокислот (Ф1-Ф3) почвенного и водного происхождения, предоставленных кафедрой водной химии Университета Карлсруэ (ФРГ). Исходный массив данных подвергли корреляционному анализу, по результатам которого отбирали набор независимых параметров,

показавших наиболее высокую степень корреляции с величинами pK и $lg\beta$, и проводили линейный регрессионный анализ.

Характеристики полученных по данной процедуре корреляционных уравнений для $p\bar{K}_{COOH}$ и $lg\beta_2$ приведены в табл. 6.

Таблица 6.

Характеристики корреляционных уравнений для расчета $p\bar{K}_{COOH}$ и $lg\beta_2$ ГФК

| Прогнозируемая величина | Дескриптор | Коэффициент регрессии | $R^2_{\text{регрессии}}$ |
|-------------------------|----------------|-----------------------|--------------------------|
| $p\bar{K}_{COOH}$ | Свободный член | 6.0 ± 1.0 | 0.85 |
| | O/C | -6.2 ± 0.8 | |
| | U/C | 3.5 ± 1.7 | |
| $lg\beta_2$ | Свободный член | 5.4 ± 0.3 | 0.86 |
| | ОН/O | -3.3 ± 0.8 | |
| | COOH/O*ArOH/O | 9 ± 3 | |

На Рис. 6 приведены для сравнения экспериментальные и рассчитанные по приведенным уравнениям $p\bar{K}_{COOH}$ и $lg\beta_2$ исследуемых препаратов ГФК.

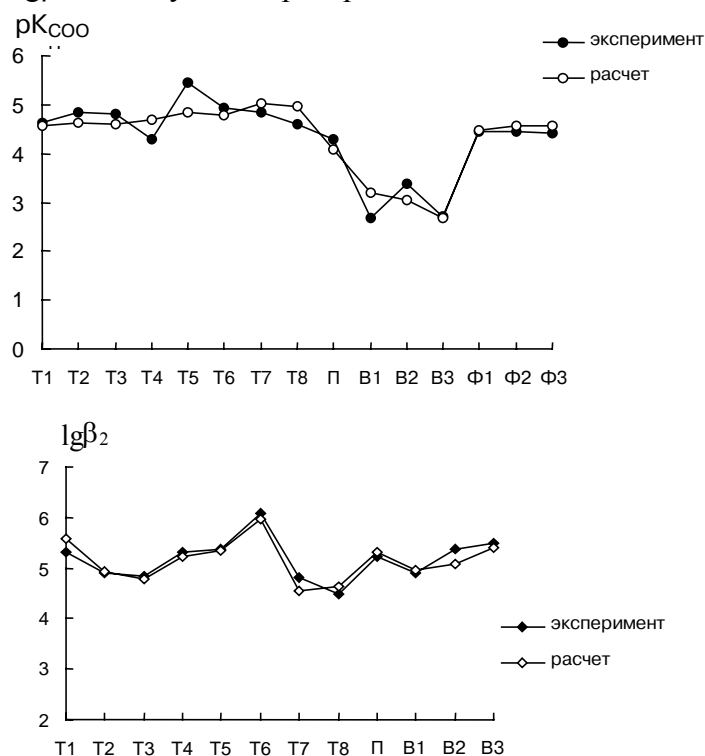


Рис. 6. Сопоставление экспериментальных и расчетных значений $p\bar{K}_{COOH}$ и $lg\beta_2$ выделенных препаратов ГФК ($\Delta pK = \pm 0.3$; $F_{\text{расч}} = 34 > F_{\text{табл}} = 3.3$; $\Delta lg\beta_2 = \pm 0.3$; $F_{\text{расч}} = 13.4 > F_{\text{табл}} = 5.2$).

Как видно из рисунка, найденные регрессионные уравнения правильно отражают основные тенденции зависимости $p\bar{K}_{COOH}$ и $lg\beta_2$ от элементного и функционального состава ГФК. В то же время для $p\bar{K}$, $p\bar{K}_{ArOH}$ и $lg\beta_1$ получить удовлетворительные корреляции не удалось. По-видимому, это связано с неполным определением фенольных гидроксидов методом pK -спектроскопии и малыми различиями в величинах $lg\beta_1$ для разных образцов.

Обобщая результаты, полученные в данной главе, можно сказать, что, несмотря на приближенность использованного метода построения зависимостей структура–свойство для ГФК на основе параметров состава, он позволяет правильно описать тенденции изменения протолитических и комплексообразующих свойств в зависимости от элементного и функционального состава. Следовательно, предложенный подход может оказаться перспективным для прогнозирования реакционной способности ГФК по отношению к тяжелым металлам на основании известных данных об элементном и функциональном составе препаратов ГФК.

Пример использования данного подхода в практических целях охраны окружающей среды приведен в заключительной главе диссертации.

Использование препаратов гумусовых кислот для иммобилизации тяжелых металлов в слое загрязненных почв

При постановке экспериментов по иммобилизации тяжелых металлов путем обогащения загрязненного слоя почв гумусовыми кислотами перед нами стояла задача выбора наиболее эффективных водорастворимых препаратов ГФК. Как следует из полученного регрессионного уравнения (Табл. 6), максимальной способностью к связыванию ионов меди(II) обладают гумусовые кислоты с минимальным содержанием углеводных фрагментов. В связи с этим в качестве природных концентратов водорастворимых препаратов ГФК нами были выбраны два типа болотных вод (БВ1 и БВ2), содержание углеводных фрагментов в ГФК которых существенно ниже по сравнению с торфяными, а также гуминовый препарат (ГП), представляющий собой продукт кислотного гидролиза торфа, практически не содержащий полисахаридов.

Все выбранные растворы ГФК использовали для промывания колонок, заполненных образцами загрязненной тяжелыми металлами почвы. Протекающие в ходе промывания процессы контролировали двумя путями:

- анализом фракций элюата на содержание Cu, Pb, Cd и Cr;
- анализом материала исходной и промытой почвенной колонки на содержание кислоторастворимых (в 0.1 М HNO₃) и подвижных форм тех же металлов (к числу подвижных, т.е. доступных растениям форм, относят все формы металлов, извлекаемые из почвы ацетатно-аммонийным буфером с pH 4.8).

В результате проведенного исследования было установлено, что все использованные растворы ГФК обладают очень низкой мобилизующей способностью по отношению к закрепленным на почве тяжелым металлам. Из почвы вымывается менее 0.1% от содержания кислоторастворимых форм (составляющих около 90% общего содержания металла) и около 5% подвижных форм. Промывание почвы не приводит к перераспределению металлов по почвенному профилю.

В то же время анализ промытой растворами ГФК почвы на содержание подвижных форм металлов показал, что все использованные растворы ГФК проявляли существенную иммобилизующую способность по отношению ко всем анализируемым ионам тяжелых

металлов (Рис. 7). Данное явление можно объяснить связыванием ионов металлов из почвенного раствора сильными хелатирующими группировками водорастворимых препаратов гумусовых кислот и последующей сорбцией образовавшихся комплексов на почве. Это подтверждается существенным ослаблением окраски раствора ГФК после прохождения почвенного слоя.

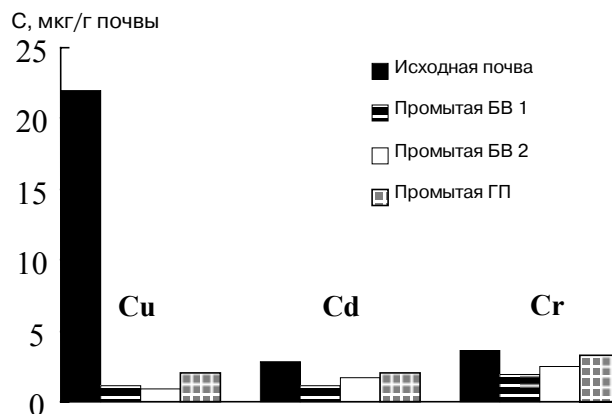


Рис. 7. Содержание подвижных форм ТМ в исходном и промытом разными элюентами образце почвы (по результатам анализа ацетатно-аммонийных вытяжек).

Полученные результаты могут быть использованы для разработки метода рекультивации загрязненных тяжелыми металлами почв, основанного на уменьшении концентрации свободной, наиболее токсичной для растений, формы металла. При этом для повышения эффективности использования ГФК можно рекомендовать предварительный отбор препаратов по их способности к связыванию тяжелых металлов, оцененной на основании известных данных об элементном и функциональном составе.

ВЫВОДЫ

1. Выделены и охарактеризованы 12 препаратов нефракционированных гумусовых кислот различного происхождения.
2. Исследован функциональный состав выделенных препаратов гумусовых кислот:
 - а) Показана неприменимость традиционных методов химической модификации для количественной характеристики функционального состава нефракционированных препаратов ГФК.
 - б) Найдены условия количественного определения кислотных групп в нефракционированных препаратах гумусовых кислот по реакциям солеобразования.
 - в) Определено содержание карбоксильных и гидроксильных групп в выделенных препаратах гумусовых кислот. Показано, что в состав данных групп входит 75-85% от общего содержания кислорода.
 - г) Осуществлена оценка количественности определения функциональных групп с помощью сопоставления результатов независимых методов анализа.
3. Охарактеризована реакционная способность выделенных препаратов гумусовых кислот:
 - а) Получены количественные характеристики протолитических свойств гумусовых кислот, в качестве которых впервые предложено использовать средневзвешенные pK кислотных групп, рассчитываемые из данных pK -спектроскопии.
 - б) Определены константы устойчивости комплексов гумусовых кислот с ионами меди(II) с использованием метода ионного обмена.
4. Установлены количественные соотношения между структурой и протолитическими и комплексообразующими свойствами выделенных препаратов гумусовых кислот. Для описания структуры гумусовых кислот впервые предложено использовать структурные дескрипторы состава и распределения элементов между функциональными группами.
5. Впервые показана принципиальная возможность использования водорастворимых препаратов гумусовых кислот природного и промышленного происхождения для иммобилизации подвижных форм тяжелых металлов в загрязненной почве.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

1. Петросян В.С., Перминова И.В., Ковалевский Д.В., Данченко Н.Н. и др. Детоксикация тяжелых металлов, ПАУ и пестицидов гумусовыми веществами в водах и почвах. Материалы международного конгресса "Вода: Экология и технология". Москва, 6-9 сентября 1994, том 4, 1136-1143.
2. Перминова И.В., Данченко Н.Н., Капланова Т.Г., Петросян В.С.. Определение общей кислотности баритовым методом - условия применимости для анализа гумусовых кислот. Экологическая химия, 1995, 4 (4), 313-317.
3. Perminova I. V., Kovalevskiy D. V., Yaschenko N. Yu., Danchenko N. N. et al. Humic substances as natural detoxicants. Proc. of 7th Conference of Int. Humic Subs. Soc., Trinidad and Tobago, 1996, 399-406.
4. Гармаш А.В., Воробьева О.Н., Кудрявцев А.В., Данченко Н.Н. Потенциометрический анализ гумусовых кислот методом рК-спектроскопии. Всероссийск. конф. по Анализу объектов окружающей среды "Экоаналитика -96 " Тез. докл., Краснодар, 29 сентября-4 октября 1996 г., 207-208.
5. Данченко Н.Н., Перминова И.В., Кудрявцев А.В., Петросян В.С. Влияние природных и промышленных водорастворимых гумусовых препаратов на миграционную способность тяжелых металлов в почвах. Межд. симпозиум "Тяжелые металлы в окружающей среде" Сб. тез., Пушино, 15-18 октября 1996 г., с. 160-161.
6. Perminova I. V., Yaschenko N. Yu., Danchenko N. N., Petrosyan V. S. Detoxifying properties of humic substances to fluoranthen in relationship with hydrofobicity and molecular weight of the humics. 8th Int. Meeting of Int. Humic Subs. Soc., 1996, Wroclaw, Poland, Abstr. book p.C27.
7. Danchenko N. N., Garmash A.V. Modelling of humic acids interaction with calcium acetate and determination of carboxyl acidity of humic acids by calcium-acetate method. Int. Congress Anal. Chem., 1997, Moscow, Abstr. book, N-110.
8. Данченко Н.Н., Перминова И.В., Капланова Т.Г., Петросян В.С. Определение общего содержания гидроксильных групп в нефракционированных гумусовых кислотах. Вестн. Моск. Ун-та, Сер. 2, Химия, 1997, N 2, с. 143-147.
9. Гармаш А.В., Воробьева О.Н., Кудрявцев А.В., Данченко Н.Н. Потенциометрический анализ полиэлектролитов методом рК-спектроскопии с использованием линейного регрессионного анализа с ограничениями на неотрицательность решений.. ЖАХ, 1997, (в печати).
10. Данченко Н.Н., Перминова И.В., Гармаш А.В, Кудрявцев А.В. Определение карбоксильной кислотности гумусовых кислот титриметрическими методами. Вестник Моск. Университета, 1997 (в печати).