

УДК 543.38+542.67+548.53

Изучение фотохимической активности водных растворов гуминовых кислот, выделенных из почв в пределах горизонта А, методом люминесценции

Н. Л. ЛАВРИК¹, М. И. ДЕРГАЧЕВА²

¹Институт химической кинетики и горения Сибирского отделения РАН,
ул. Институтская, 3, Новосибирск 630090 (Россия)

E-mail: lavrik@ns.kinetics.nsc.ru

²Институт почвоведения и агрохимии Сибирского отделения РАН,
ул. Советская, 18, Новосибирск 630055 (Россия)

(Поступила 28.08.03)

Аннотация

С помощью метода люминесценции впервые изучена фотостабильность водных растворов гуминовых кислот (ГК), выделенных из чернозема и солонцевой почвы с разной глубины R . Показано, что фотохимическая активность обоих образцов ГК, выделенных из приповерхностных слоев почвы, более высока. Делается вывод о преимуществе метода фотохимического зондирования перед другими для дискриминации сортов молекул ГК.

ВВЕДЕНИЕ

Гумус и, в частности, гуминовые кислоты (ГК) играют решающую роль в образовании агрохимически важной структуры почвы и во многом определяют ее физические и химические свойства. Почвы, находящиеся в сельскохозяйственном использовании, всегда подвержены прямому воздействию солнечного света, поэтому как компоненты почв ГК должны и действительно претерпевают заметные фотохимические превращения [1, 2]. Фотохимическая активность ГК заметным образом зависит от типа почв, из которых они были выделены [1, 2]. Актуальность изучения фотохимической активности ГК особенно выросла в последнее время в связи с проблемой деградации почв под действием различных загрязняющих факторов [3]. Вопросы фотохимической активности непосредственно связаны с проблемами перераспределения энергии в возбужденной молекуле. В связи с этим изучение закономерностей перераспределения энергии фотовозбуждения в молекулах ГК –

одна из важнейших фундаментальных задач, поскольку вопрос о перераспределении энергии фотовозбуждения между различными группами флуорофоров в молекулах ГК выходит за рамки рассмотрения только этих объектов, а является одним из центральных при изучении многочисленных фотохимических и фотофизических процессов, имеющих место в сложных молекулярных ансамблях (зрительные пигменты, лазерные среды, фотосинтезирующие молекулы и т. д.) [4]. Наконец, самостоятельной задачей и, соответственно, объектом отдельного изучения является фотохимия водных растворов ГК в связи с трансформациями органических молекул под действием солнечного света в природной воде [5, 6].

Как правило, фотохимическая активность ГК изучалась для образцов, выделенных из горизонта А (глубина $R = 0–15$ см), а в качестве методов исследования применялась абсорбционная спектроскопия (электронная [1], ИК [5], импульсный фотолит [6]), либо хроматография [7]). При этом всегда подразумевалось,

что по всей глубине R горизонта А химические свойства почвы неизменны. Однако в последнее время появились сообщения о том, что в пределах этого горизонта электронные свойства молекул ГК претерпевают заметные изменения [8, 9]. Из этих результатов, в принципе, следует, что фотохимическая активность молекул ГК также может претерпевать изменения в пределах горизонта А. Однако информация об изучении фотохимической активности ГК, выделенных из одной почвы с “шагом” в несколько сантиметров, отсутствует.

Цель настоящей работы – изучение фотохимической активности водных растворов ГК, выделенных из горизонта А одной почвы, но с разной глубины R с “шагом” 2–3 см. Анализ фотохимической активности проводился методом люминесценции – одним из наиболее чувствительных и интенсивно применяемых в последнее время методов для изучения химической структуры молекул ГК [3, 9–11]. Источником света служила естественная солнечная радиация. В результате установлено, что фотохимическая активность ГК уменьшается с увеличением R .

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследуемыми объектами ГК были образцы, выделенные из почв слабовыщелоченного чернозема, сформированного под луговой степью целинной лесостепной зоны Алтайского края, и солонца среднестолбчатого лугово-степного, развитого под солонцеватой разнотравно-типчачково-пырейной степью Барабинской низменности.

Способы выделения ГК стандартны и ранее описаны в [9]. Концентрация водных растворов ГК составляла 100 мг/л. Для лучшей растворимости и увеличения фотохимической активности использовали щелочную среду (рН 12.3) [1]. Растворы выдерживались на свету в течение 3 сут. Время проведения экспериментов – март, апрель 2002 г. Контрольные образцы хранились в темноте. Спектры флуоресценции были получены на N_2 -лазерном спектрометре [12] в стандартных кварцевых кюветах вместимостью 4 см³. Воздух из образцов не удалялся. Спектры поглощения были получены на спектрометре Bruker.

За величину коэффициента фотохимической активности κ_R образца ГК с глубины R принимали величину

$$\kappa_R = (\alpha_{\text{св, обл}}^{\text{экс}} / \alpha_{\text{св, исз}}^{\text{экс}}) (K_{\text{ОП}}^R)^{-1} \quad (1)$$

Здесь $\alpha_{\text{св, обл}}^{\text{экс}} = (I_{\lambda = 450 \text{ нм}} / I_{\lambda = 490 \text{ нм}})_{\text{обл}}$; $\alpha_{\text{св, исз}}^{\text{экс}} = (I_{\lambda = 450 \text{ нм}} / I_{\lambda = 490 \text{ нм}})_{\text{исх}}$, где $(I_{\lambda = 450 \text{ нм}})_{\text{обл}}$, $(I_{\lambda = 490 \text{ нм}})_{\text{обл}}$, $(I_{\lambda = 450 \text{ нм}})_{\text{исх}}$, $(I_{\lambda = 490 \text{ нм}})_{\text{исх}}$ – экспериментально наблюдаемые интенсивности при λ , равных 450 и 490 нм, в спектрах флуоресценции облученного и исходного образцов соответственно;

$$K_{\text{ОП}}^R = (\text{ОП}_{\lambda_i})_R / (\text{ОП}_{\lambda_i})_0 \quad (2)$$

где $(\text{ОП}_{\lambda_i})_R$ и $(\text{ОП}_{\lambda_i})_0$ – коэффициенты поглощения при $\lambda = \lambda_i$ для исходных образцов ГК, выделенных с глубины $R = 6-9, 14-17$ см и $R = 0-3$ см соответственно. Параметр формы контура $\alpha_{\text{с,з}}$ в спектрах флуоресценции можно рассматривать как аналог общепринятого параметра E4/E6 для характеристики спектров поглощения ГК [2] (отношение коэффициентов поглощения на длинах волн 450 и 650 нм соответственно). Принципиальное преимущество введения параметра $\alpha_{\text{с,з}}$ заключается в том, что его применение для вычисления величины κ_R не требует учета спектральной чувствительности спектрометра и перепоглощения света флуоресценции (см. Приложение).

Представляемые контуры спектров флуоресценции получены делением экспериментально наблюдаемых интенсивностей в спектрах флуоресценции при $\lambda = \lambda_i$ на интенсивность линии спектра КР воды (внутренний стандарт, с учетом поглощения света на $\lambda = 381.6$ нм).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За время хранения в течение 3 сут изменений в спектрах флуоресценции контрольных образцов не наблюдалось. На рис. 1 представлены спектры флуоресценции исходных и облученных водных растворов ГК, выделенных из чернозема и солонца при $R = 1-3$ и $0-3$ см соответственно. Видно, что для обоих образцов облучение приводит к заметному изменению формы контура флуоресценции. Изменения величины κ_R в зависимости от R представлены на рис. 2. Из представленных данных следует, что для ГК, выделенных из обоих типов

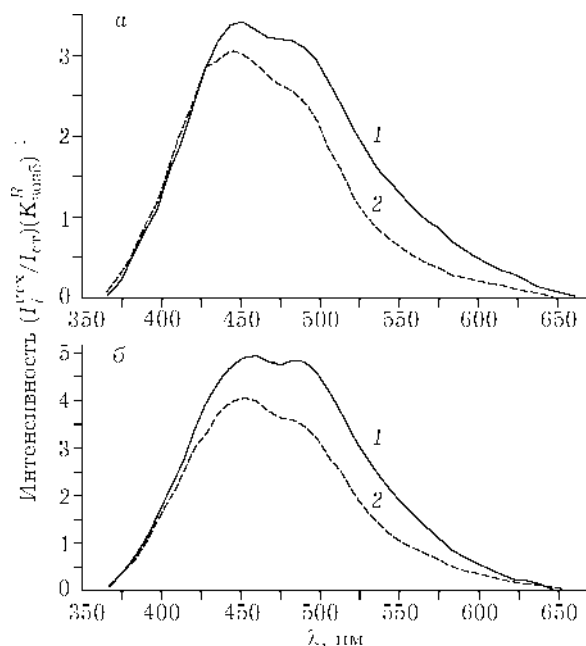


Рис. 1. Зависимость спектров флуоресценции водных растворов ГК от облучения: а - чернозем, $R = 1-3$ см, б - солонец, $R = 0-3$ см; 1 - флуоресценция исходного раствора, 2 - флуоресценция раствора, облученного в течение 3 сут.

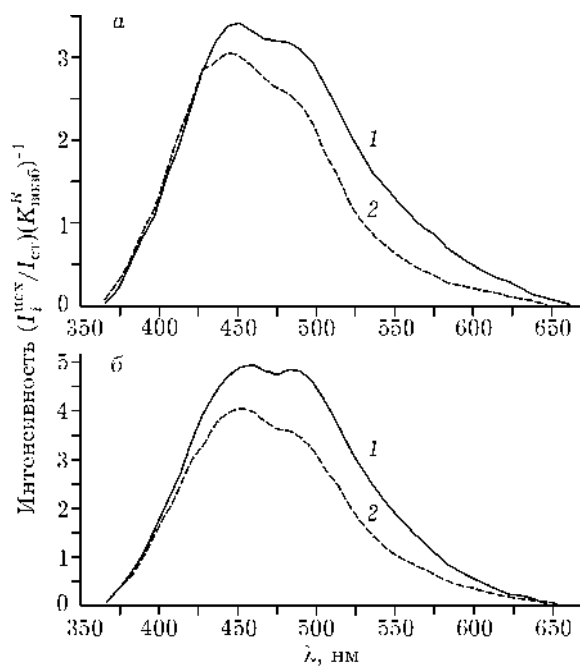


Рис. 2. Зависимость коэффициентов фотохимической активности водных растворов ГК, выделенных из почв с разной глубины: 1 - чернозем, 2 - солонец. На оси абсцисс "усы" показывают размер "шага" забора пробы почвы.

почв, значения K_R уменьшаются с ростом R . Большая степень трансформации спектров флуоресценции образцов ГК, выделенных из приповерхностных горизонтов, относительно более глубоких горизонтов означает большую фотохимическую активность этих образцов и, соответственно, большую фотостабильность образцов ГК, выделенных из более глубоких слоев почвы.

Спектры поглощения исходных растворов ГК (рис. 3), выделенных из чернозема и солонца, представляют собой монотонно уменьшающиеся с увеличением длины волны функции. При этом с ростом R форма спектра не меняется, а возрастает лишь величина поглощения. За время облучения изменений в спектрах поглощения установлено не было. Изменения в спектре поглощения (уменьшение) становятся заметными лишь через 7 сут облучения.

Квантовый выход любой фотохимической реакции $\Phi_{хим}$ можно представить в виде [13]

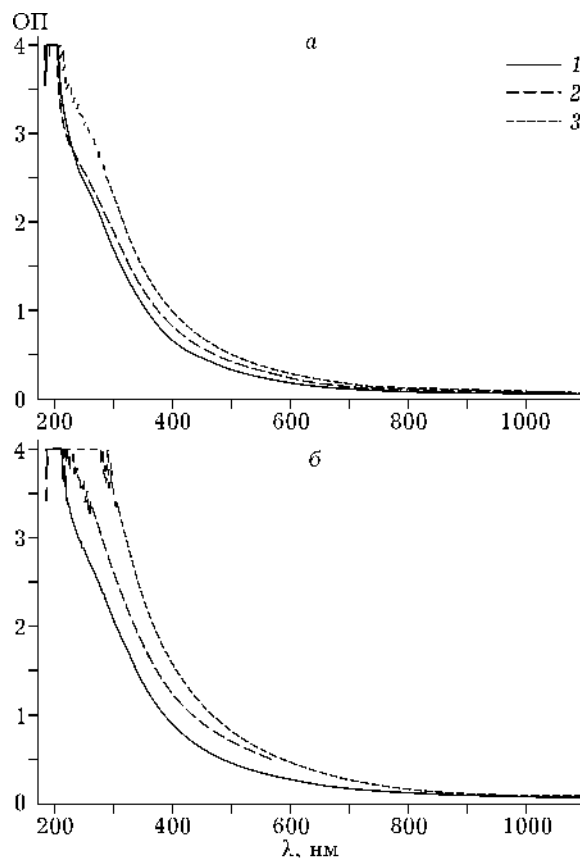
$$\Phi_{хим} = K_{хим} / (K_{хим} + K_{н/хим}) \quad (3)$$


Рис. 3. Спектры поглощения водных растворов ГК в зависимости от R : а - чернозем, б - солонец; R , см: 0-3 (1), 6-9 (2), 14-17 (3).

где $K_{\text{хим}}$ и $K_{\text{н/хим}}$ – вероятность (константы) возбужденной молекулы претерпеть химические и нехимические превращения соответственно. Под $K_{\text{н/хим}}$ обычно подразумевается сумма нескольких релаксационных процессов. К таковым относятся флуоресценция $K_{\text{фл}}$ (радиационный переход $S_1 \rightarrow S_0$), интеркомбинационный переход $K_{\text{и/к}}$ ($S_1 \rightarrow T_1$), внутренняя конверсия $K_{\text{в/к}}$ ($S_1 \rightarrow S_0$, нерадиационный переход). Таким образом,

$$K_{\text{н/хим}} = K_{\text{фл}} + K_{\text{и/к}} + K_{\text{в/к}} \quad (4)$$

Эти возможные (конкурирующие) переходы представлены для случая, когда химический процесс происходит из синглетного возбужденного состояния.

Для обоих образцов ГК с ростом R имеет место возрастание величины первого момента спектра флуоресценции M_1 [9]. Это означает, что молекулы ГК, выделенные из более глубокого горизонта, имеют более низкий первый возбужденный электронный уровень S_1 и, соответственно, меньшую величину энергетического зазора $\Delta = S_1 - S_0$. Экспериментально для простых молекул установлено, что для ненасыщенных связей (если считать, что люминесценция молекул ГК обусловлена именно таким типом флуорофоров) с уменьшением энергетического зазора ($S_1 - S_0$) величина $K_{\text{фл}}$ возрастает (квантовый выход флуоресценции растет) [13]. Если принять, что для молекул ГК имеют место такие же закономерности, то из имеющихся данных по изменению величины M_1 следует, что с ростом R величина $K_{\text{фл}}$ должна возрастать. Действительно, наши предварительные данные по прямому наблюдению $K_{\text{фл}}$ (измерение квантовых выходов) показали, что она растет с увеличением R .

Дополнительным подтверждением могут также служить данные по зависимости величины поглощения ОП от R (см. рис. 3). Для простых молекул ОП $\sim \tau^{-1}$ (τ – радиационное время жизни) [14]. Считая это соотношение справедливым и для молекул ГК и учитывая, что $\tau^{-1} \sim K_{\text{фл}}$ [13, 14]), окончательно заключаем, что с увеличением R величина $K_{\text{фл}}$ возрастает.

При уменьшении Δ величина энергетического зазора $\Delta_1 = S_1 - T_1$ также уменьшается

[15]. Величина $K_{\text{и/к}} \sim \exp(-\Delta_1/(kT))$ [15]. Таким образом, с увеличением R (уменьшение Δ_1) величина $K_{\text{и/к}}$ растет.

Величина $K_{\text{в/к}}$ определяется плотностью колебательных уровней ρ состояния S_0 на “высоте” S_1 ($K_{\text{в/к}} \sim \rho$ [15]). Величина ρ для сложных молекул, к которым без сомнения относятся молекулы ГК, на “высоте” S_1 представляет собой квазиконтинуум [15] и практически не зависит от изменения положения S_1 , которое в нашем случае меняется очень незначительно ($\sim 2\%$). Следовательно, можно считать, что величина $K_{\text{в/к}}$ с уменьшением S_1 практически не меняется.

Таким образом, $K_{\text{н/хим}}$ в знаменателе формулы (3) с увеличением R возрастает. Отсюда следует, что κ_R (аналог $\phi_{\text{хим}}$ в (3)) с ростом R должен уменьшаться, что и наблюдается экспериментально. В принципе, именно такого результата априори можно было ожидать: чем для молекулы больше вероятность принять участие в фотохимических реакциях, тем меньше вероятность ее участия в радиационных переходах (уменьшается квантовый выход флуоресценции) [13]. Таким образом, фотохимическая активность ГК описывается в рамках общепринятых представлений для простых молекул о соотношении квантовых выходов фотохимического распада и флуоресценции.

Метод фотохимического зондирования может оказаться полезным для дифференциации ГК количественно. Например, если данные рис. 2 аппроксимировать функцией типа $y = a + bx$, то каждый образец ГК может быть охарактеризован индивидуальными параметрами a и b . Следует также заметить, что чувствительность метода фотохимического зондирования можно сделать сколь угодно высокой, поскольку можно варьировать глубину превращения исходного раствора за счет изменения интенсивности возбуждающего света и времени облучения. Это обстоятельство с точки зрения дифференциации видов (сортов) ГК несомненно обуславливает преимущество данного метода перед другими, чувствительность которых всегда постоянна и которой при малых различиях в свойствах ГК может оказаться недостаточно для их выявления.

ВЫВОДЫ

1. Предложено характеризовать величину фотохимической активности образцов ГК изменением отношения интенсивностей в их спектрах флуоресценции на λ , равных 450 и 490 нм (I_c/I_a).

2. Фотохимическая активность ГК, выделенных из горизонта А, уменьшается с увеличением глубины забора пробы и ростом эффективности поглощения.

Работа частично поддержана РФФИ (гранты № 01-03-32448 и № 01-04-49513).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Н. П. Ильин, Роль фотохимических реакций в образовании гумуса: Автореф. дис. ... канд. биол. наук, Изд-во МГУ, 1975.
 2 Д. С. Орлов, Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации, Изд-во МГУ, Москва, 1990, с. 325.
 3 О. Trubetskaya, O. Trubetskoj, G. Guyot *et al.*, *Org. Geochemistry*, 33, 3 (2002) 213.
 4 В. А. Морозов, *ЖФХ*, 75, 2 (2001) 303.
 5 J.-H. Aguer, C. Richard, *J. Photochem. Photobiol.*, A, 93 (1996) 193.
 6 J. F. Power, D. K. Sharma, C. H. Langford *et al.*, *Ibid.*, 44, 1 (1986) 11.
 7 J.-H. Aguer, C. Richard, *Chemosphere*, 38, 10 (1999) 2293.
 8 И. М. Гаджиев, М. И. Дергачева, *Почвоведение*, 3 (1995) 277.
 9 Н. Л. Лаврик, А. Сагдиев, М. И. Дергачева, *Химия в интересах устойчивого развития*, 12 (2004) 451.
 10 N. Senesi, T. M. Miamo, M. Provenzano, G. Brunetti, *Soil Sci.*, 152, 4 (1991) 259.
 11 Н. Л. Лаврик, М. И. Дергачева, Е. И. Ковалева, *Химия в интересах устойчивого развития*, 8 (2000) 815.
 12 Н. Л. Лаврик, И. А. Августиневич, *ЖФХ*, 54, 6 (1986) 1216.

13 J. G. Calvert, J. N. Pitts, *Photochemistry*, J. Wiley & Sons Inc., New York *etc.*, 1966.
 14 П. Паркер, Введение в фотолуминесценцию растворов, Изд-во иностр. лит., Москва, 1968, 156 с.
 15 Э. С. Медведев, В. И. Ошеров, Теория безизлучательных переходов в многоатомных молекулах, Наука, Москва, 1983, 280 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ

В уравнении (1) при определении величин κ_R отсутствуют поправки на поглощение света люминесценции $K_{\text{полгл}}$ и коэффициент спектральной чувствительности $K_{c/\text{ч}}$. Эти поправки вносить для определения величины κ_R не следует в связи со следующим. Действительно, значения истинной интенсивности $I_{\text{ист}}$ флуоресценции на определенной длине волны должны быть получены умножением величины наблюдаемой экспериментально интенсивности $I_{\text{экс}}$ на поправочные коэффициенты $K_{\text{полгл}}$ и $K_{c/\text{ч}}$:

$$I_{\text{ист}}^{450} = I_{\text{экс}}^{450} K_{\text{полгл}}^{450} K_{c/\text{ч}}^{450}, I_{\text{ист}}^{490} = I_{\text{экс}}^{490} K_{\text{полгл}}^{490} K_{c/\text{ч}}^{490} \tag{5}$$

По определению для $\alpha_{c,з \text{ ист}}$ имеем

$$\alpha_{c,з \text{ ист}} = \frac{I_{\text{ист}}^{450}}{I_{\text{ист}}^{490}} = \frac{I_{\text{экс}}^{450} K_{\text{полгл}}^{450} K_{c/\text{ч}}^{450}}{I_{\text{экс}}^{490} K_{\text{полгл}}^{490} K_{c/\text{ч}}^{490}} \tag{6}$$

И, соответственно, для величины κ_R получаем

$$\kappa_R = \frac{\alpha_{\text{св обл}}^{\text{ист}}}{\alpha_{\text{св ист}}^{\text{экс}}} = \frac{(I_{\text{экс}}^{450} K_{\text{полгл}}^{450} K_{c/\text{ч}}^{450})_{\text{обл}}}{(I_{\text{экс}}^{490} K_{\text{полгл}}^{490} K_{c/\text{ч}}^{490})_{\text{обл}}} \frac{(I_{\text{экс}}^{490} K_{\text{полгл}}^{490} K_{c/\text{ч}}^{490})_{\text{исх}}}{(I_{\text{экс}}^{450} K_{\text{полгл}}^{450} K_{c/\text{ч}}^{450})_{\text{исх}}} = \frac{\alpha_{\text{св обл}}^{\text{экс}}}{\alpha_{\text{св исх}}^{\text{экс}}} \tag{7}$$