



Нечаев Лев Владимирович

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ВЕРХОВОГО ТОРФА
И ИХ ФРАКЦИЙ С НАФТАЛИНОМ В ВОДНЫХ СРЕДАХ**

02.00.04 – Физическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», на кафедре физической и коллоидной химии химического факультета, в лаборатории фотофизики и фотохимии молекул физического факультета и в отделении фотоники молекул Сибирского физико-технического института имени академика В.Д. Кузнецова.

Научный руководитель: доктор физико-математических наук,
доцент **Чайковская Ольга Николаевна**

Официальные оппоненты:

Короткова Елена Ивановна, доктор химических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», заместитель директора по научной работе и инновационному развитию; кафедра физической и аналитической химии, профессор

Шведова Людмила Александровна, кандидат физико-математических наук, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, лаборатория физико-химических основ регуляции биологических систем, старший научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, г. Москва

Защита состоится 16 сентября 2014 г. в 14.30 часов на заседании диссертационного совета Д 212.267.06, созданного на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36 (корпус № 6, ауд. 212).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на официальном сайте федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» www.tsu.ru.

Материалы по защите диссертации размещены на официальном сайте ТГУ: http://www.tsu.ru/content/news/announcement_of_the_dissertations_in_the_tsu.php

Автореферат разослан «___» июля 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат химических наук



Мальков
Виктор Сергеевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Фундаментальной задачей физической химии является изучение межмолекулярных взаимодействий в растворах, влияния внешних полей на структуру и физико-химические свойства вещества.

Полициклические ароматические углеводороды – класс органических веществ, молекулы которых содержат конденсированные бензольные кольца. Яркими представителями этого класса являются такие вещества как нафталин, фенантрен, антрацен, пирен, а также бенз(а)пирен, многие из которых известны как опаснейшие токсиканты, обладающие канцерогенными, мутагенными и тератогенными свойствами¹. Эти соединения выделяются в окружающую среду при неполном сгорании каменного угля на теплоэлектростанциях, присутствуют в выхлопных газах автомобильных двигателей, являются отходами коксохимической промышленности и сжигания промышленного и бытового мусора. Вследствие малой растворимости в воде полициклические ароматические углеводороды накапливаются в почве, донных отложениях, а также в тканях рыб, ведущих придонный образ жизни.

Гуминовые кислоты – фракция гумусовых веществ – макромолекулы нерегулярной структуры природного происхождения, которые содержатся в почвах, торфах, каменном угле, природных водах. Эти вещества способны связывать ионы тяжёлых металлов, а также органические соединения. Взаимодействие полициклических ароматических углеводородов с гуминовыми кислотами изменяет некоторые свойства этих веществ, такие как токсичность и способность к фото- и биодеградации, существенно влияет на биоаккумуляцию полициклических ароматических углеводородов водными организмами². Перенос энергии между ароматическими фрагментами гуминовых кислот и связанными с ними молекулами полициклических ароматических углеводородов способствует фотохимической конверсии токсикантов. Таким образом, гуминовые кислоты оказывают детоксицирующее воздействие на полициклические ароматические углеводороды и регулируют содержание этих токсикантов в природных объектах. Изучение процессов взаимодействия гуминовых кислот с полициклическими ароматическими углеводородами позволит использовать результаты исследований в создании технологий очистки природных систем от данных загрязнителей.

Обработка гуминовых кислот органическими растворителями (этанол, ацетон) позволяет выделить ряд фракций, важнейшей из которых является гиматоме-

¹ Manoli E., Samara C. The removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in the wastewater treatment process: experimental calculations and model predictions // *Environmental Pollution*. 2008. Vol. 151. P. 477.

² Люминесцентный анализ фотоиндуцированной детоксикации фенола в присутствии гуминовых кислот / О.Н. Чайковская и др. // *Журнал прикладной спектроскопии*. 2006. Т. 73, № 6. С. 735.

лановая кислота. Фракции гуминовых кислот различаются по элементному составу, содержанию функциональных групп, молекулярным массам, а также спектрально-люминесцентным свойствам. Вопрос о природе взаимодействия полициклических ароматических углеводородов с отдельными фракциями гуминовых кислот далёк от окончательного решения и представляет значительный научный и практический интерес.

Способность гуминовых кислот связывать полициклические ароматические углеводороды изменяется при модификации их функционального состава и физико-химических свойств. Модификацию гуминовых кислот можно осуществить различными способами: облучением видимым или УФ-светом [5], механоактивацией. Влияние различных типов модификации на степень взаимодействия полициклических ароматических углеводородов с гуминовыми кислотами также изучено недостаточно.

В связи со сказанным выше **целью** настоящей работы является исследование природы взаимодействия нафталина с гуминовыми кислотами верхового торфа и отдельными их фракциями после облучения видимым и УФ-светом.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

- исследовать элементный и структурно-групповой состав гуминовых кислот верхового торфа и их фракций, определить средние значения молекулярных масс;
- найти закономерности изменения спектрально-люминесцентных свойств гуминовых кислот верхового торфа и их фракций после облучения;
- определить константы взаимодействия нафталина с исходными и облучёнными гуминовыми кислотами верхового торфа и их фракциями;
- исследовать межмолекулярные взаимодействия нафталина с исходными и облучёнными гуминовыми кислотами верхового торфа и их фракциями.

Научная новизна работы:

- Проведён сравнительный анализ элементного, структурно-группового состава ГК верхового торфа и их важнейших фракций, определены средние молекулярные массы.
- Определены константы взаимодействия нафталина с отдельными фракциями ГК верхового торфа после облучения.
- Установлена природа межмолекулярных взаимодействий нафталина с ГК верхового торфа и их фракциями после облучения.

Практическая значимость полученных результатов. Результаты работы могут быть использованы при:

- построении моделей миграции и фотохимической трансформации нафталина в природных системах;
- разработке технологий ремедиации почв и водных осадков, загрязнённых нафталином.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Особенности элементного, структурно-группового состава гуминовых кислот верхового торфа и их важнейших фракций.
2. Изменения констант взаимодействия нафталина с гуминовыми кислотами и их фракциями после облучения видимым и УФ-светом.
3. Полярность микроокружения нафталина в среде гуминовых кислот верхового торфа и их важнейших фракций до и после облучения.

Связь с плановыми работами и возможность внедрения результатов. Работа выполнялась в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2011 годы, мероприятие 1.2.1, ГК от 27.08.2009 г. № П1128, грантов Президента РФ на поддержку НИИ № 4297.2010.2, 512.2012.2 и 1305.2014.2, гранта РФФИ № 10-08-90706-моб_ст. Полученные результаты могут быть использованы в организациях и учреждениях, занимающихся исследованиями и разработками в области молекулярной спектроскопии природных объектов: Сибирском физико-техническом институте, Институте химии нефти СО РАН; а также в учебном процессе на химическом и физическом факультетах Томского государственного университета³.

Личный вклад автора. Обзор литературы по теме диссертации, выбор методов исследования, обработка данных элементного анализа, ИК- и ЯМР-спектроскопии. Проведение экспериментов по определению средневесовых молекулярных масс, спектральных измерений, обработка и анализ полученных данных. Расчёт констант взаимодействия, обобщение результатов, выводы. Подготовка публикаций по теме исследования. Неоценимую помощь в получении экспериментальных данных и интерпретации результатов исследования оказала к.х.н., н.с. ИХН СО РАН Е.В. Мальцева.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на следующих конференциях: Всероссийская научно-практическая конференция студентов и аспирантов «Химия и химическая технология в 21 веке». ТПУ, Томск, 2008, 2010 г.; 14 Международная экологическая студенческая конференция МЭСК-2009 «Экология России и сопредельных территорий. Проблема изучения состояния биосистем, методы биоэкологических исследований». НГУ, Новосибирск, 2009 г.; Юбилейная конференция, посвящённая 80-летию ХФ МГУ «Химия и общество. Грани взаимодействия: вчера, сегодня, завтра». МГУ, Москва, 2009 г.; 6 Всероссийская конференция молодых учёных «Физика и химия высокоэнергетических систем». ТГУ, Томск, 2010 г.; Всероссийская с международным участием 7 научная школа молодых учёных «Болота и биосфера». ТГПУ, Томск, 2010 г.; Всероссийская научная

³ Чайковская О.Н., Нечаев Л.В. Оценка антирадикальной активности гуминовых кислот хемиллюминесцентным методом. Методическое пособие. Изд-во ТГУ, Томск, 2011.

конференция с международным участием «Проблемы гидрогеологии, инженерной геологии и геоэкологии». ТПУ, Томск, 2010 г.; Молодёжная школа-конференция с международным участием «Лазеры и лазерные технологии», посвящённая 50-летию первого в мире лазера. ТГУ, Томск, 2010 г.; I Международная Российско-Казахстанская конференция по химии и химической технологии, посвящённая 30-летию пуска производства полипропилена ООО «Томскнефтехим» и 110-летию химико-технологического образования в Сибири. Томск, 2011 г.; 8 Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2011», посвящённая 300-летию со дня рождения М. В. Ломоносова. Архангельск, 2011 г.; Международная научная студенческая конференция «Студент и научно-технический прогресс». НГУ, Новосибирск, 2009, 2013 г.

Публикации. По результатам выполненных исследований опубликовано 5 статей, входящих в перечень ВАК РФ, 30 публикаций в материалах конференций.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 111 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, списка литературы из 127 наименований, содержит 12 таблиц и 36 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, сформулированы её цель и основные задачи. Показана научная новизна работы, обоснована её практическая ценность, изложены защищаемые автором положения.

В первой главе представлен обзор литературных данных по теме диссертации: даны определения основных понятий химии гуминовых веществ; описаны важнейшие фракции гуминовых веществ и способы их получения; охарактеризованы физико-химические свойства, приведены структурные формулы; представлены исследования о природных и антропогенных источниках загрязнения окружающей среды нафталином и взаимодействии с почвами и водными осадками; охарактеризованы важнейшие модели и концепции, претендующие на объяснение механизмов происходящих явлений.

Во второй главе описаны объекты исследования, способы выделения ГК из торфа и разделения их на фракции, методы определения элементного состава и структурно-группового анализа ГК. Описаны методы исследования (ИК-, ЯМР-спектроскопия, спектроскопия электронного поглощения и флуоресценции, гель-хроматография) и методики облучения ГК, технические параметры источников облучения. Приведены формулы расчёта констант взаимодействия нафталина с ГК. Описана методика получения данных о микроокружении нафталина, связанного с ГК, на основании спектральных характеристик растворов.

В качестве объектов исследования использовали ГК, выделенные из верхового сфагнового торфа месторождения «Тёмное» Томской области. Для получения ГК использовали стандартную методику⁴. Осадок ГК разделили на две части, одну из которых отмыли дистиллированной водой до pH = 7 и высушили в чашке Петри в вакуумном шкафу до постоянного веса. Эта часть осадка представляет собой препарат исходных гуминовых кислот верхового торфа (ГКВ). Другую часть осадка ГК три раза промыли в стакане дистиллированной водой. Затем к влажному осадку добавили этанол и оставили при периодическом перемешивании на 2-3 часа. Полученный при этом осадок, нерастворимый в этаноле, отмыли дистиллированной водой до pH = 7 и высушили в чашке Петри в вакуумном шкафу до постоянного веса. Этот осадок представляет собой фракцию ГК, нерастворимую в этаноле – так называемые прогуминовые кислоты (ПГК). Этанольный раствор ГМК, отделённый от осадка ПГК, использовали для получения сухого препарата гиматомелановых кислот (ГМК). В работе использованы стандартные образцы гуминовых кислот *Aldrich* (ГКА) и нафталин фирмы *Aldrich* (химическая чистота 99,9 %).

Содержание углерода, водорода, азота и серы определяли методом автоматического полумикроанализа на приборе *Vario el cube* (Германия). Содержание кислорода рассчитывали по разности скорректированных на зольность и влажность значений процентного содержания С, Н, N и S. Регистрацию ИК-спектров осуществляли на ИК-Фурье спектрометре *Vector 22* фирмы *Bruker*. Препараты предварительно переводили в кислотную форму. Для количественной оценки интенсивности полос поглощения применяли метод базовых линий и относительных оптических плотностей. Регистрацию ЯМР-спектров осуществляли на радиоспектрометре ЯМР *DPX-250* фирмы *Bruker*. В качестве внешнего стандарта использовали тетраметилсилан. Обработку спектров проводили с использованием программы *WINNMR* фирмы *Bruker*.

Для оценки средних молекулярных масс ГК применяли гель-хроматографию на *Sephadex G75*. В качестве растворителя использовали 2 М раствор мочевины. Элюат собирали в пробирке и регистрировали оптическую плотность раствора на длине волны 465 нм. Среднюю молекулярную массу каждой фракции рассчитали с помощью формулы⁵:

$$\lg M = 5,624 - 0,752((V_e + V_0)/V_0),$$

где M – средняя молекулярная масса, дальтон;

V_e – объём элюата, соответствующий максимуму оптической плотности, мл;

V_0 – объём растворителя между гранулами («свободный» растворитель), мл.

⁴ Кононова М.М. Органическое вещество почвы. М., 1963. 314 с.

⁵ Орлов Д.С., Гришина Л.А. Практикум по химии гумуса: учебное пособие. М., 1981. 272 с.

Матричные растворы ГК с концентрацией 1 г/л были приготовлены путём смешения навески сухого препарата с рассчитанным объёмом 0,1 н. раствора NaOH и дальнейшим выдерживанием смеси в течение 30 минут в ультразвуковой ванне с подогревом до 45°C, а затем в течение суток в темноте при комнатной температуре. Из матричных растворов путём разбавления фосфатным буфером приготовили три серии растворов ГК в диапазоне концентраций 10^{-6} - 10^{-2} г/л с pH = 6,86. Одну серию растворов использовали в качестве контрольных образцов. Вторую серию облучали гелиевой лампой «Solar» с фильтром СЗС-24 ($\lambda_{\text{изл}} \div 300$ -800 нм, $W_{\text{ник}}$ до 160 мВт·см⁻²), третью серию – KrCl-эксилампой ($\lambda_{\text{изл}} \sim 222$ нм, $\Delta\lambda = 5$ -10 нм, $W_{\text{ник}} = 18$ мВт·см⁻², $f = 200$ кГц, длительность импульса 1 мкс), разработаны в ИСЭ СО РАН (г. Томск) [1]. Облучение обеих серий растворов происходило на расстоянии 10 см от источника излучения в течение 32 минут при постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки. За это время вкачанная в раствор энергия не превышала 1 Дж/см³, интенсивность облучения не превышала $2 \cdot 10^{15}$ фотон/с·см². Спектры поглощения и флуоресценции всех растворов регистрировали по стандартной методике на спектрофотофлуориметре SM2203 (Беларусь).

В данной работе был проведён сравнительный анализ антирадикальной активности ГКА и ГКВ до и после УФ-облучения в реакции хемилюминесценции люминола при окислении H₂O₂ на сканирующем спектрофлуориметре «Cary Eclipse» («Varian», Австралия) по стандартной методике в режиме «Хемилюминесценция» и «Кинетика».

Окислительно-восстановительную активность (ОВА) ГКА и ГКВ определяли на анализаторе «Антиоксидант»⁶. В электрохимическую ячейку помещали 10 мл раствора фонового электролита. В качестве фонового электролита использовали фосфатный буфер с pH = 6.86. Использовали постоянно-токовый режим катодной вольтамперометрии, скорость развертки потенциала варьировали от 10 до 100 мВ/с. В ходе выполнения анализа снимали вольтамперограммы тока электровосстановления O₂ в фоновом электролите, а затем с добавкой исследуемого образца. По результатам вольтамперограмм построили графики зависимости функции $(1 - I / I_0)$ от времени протекания процесса в присутствии одной концентрации антиоксиданта. По линейной части графика и по тангенсу угла наклона касательной к данному участку кривой рассчитали кинетический критерий ОВА. Построили графики зависимости кинетического критерия ОВА от времени облучения растворов лампами KrCl и «Solar». По величине кинетического критерия оценили величину ОВА ГК, а также её изменение после облучения.

⁶ Короткова Е.И. Вольтамперометрический метод определения суммарной активности антиоксидантов в объектах искусственного и природного происхождения : автореф. дис. ... д-ра хим. наук. Томск, 2009. 44 с.

Для исследования взаимодействия нафталина с ГК смешивали равные объёмы водного раствора нафталина с концентрацией $2 \cdot 10^{-4}$ М и раствора ГК с концентрацией $2 \cdot 10^{-n}$ г/л ($n \div 2-6$), выдерживали 3 мин до установления равновесия и затем регистрировали спектры поглощения и флуоресценции.

Константы взаимодействия K_b ГК и нафталина были рассчитаны с помощью уравнения Штерна-Фольмера:

$$F_0 / F = 1 + K_b[\text{ГК}],$$

где F_0 – интенсивность флуоресценции нафталина в максимуме излучения, F – интенсивность флуоресценции нафталина в максимуме излучения при добавлении ГК, $[\text{ГК}]$ – концентрация ГК [3]. Были построены графики зависимости отношения F_0 / F от концентрации ГК, выраженной в кгС/л (килограмм углерода на литр раствора). Затем графики аппроксимировали до прямых и определили тангенс угла наклона каждой из этих прямых к оси абсцисс. Полученные значения численно равны константам взаимодействия ГК и нафталина.

Для оценки микроокружения нафталина в растворах ГК использовали параметр R_{pv} , чувствительный к полярности среды:

$$R_{pv} = I_p / I_v,$$

где I_p – интенсивность поглощения в длинноволновом максимуме, I_v – поглощение в прилегающем минимуме. Для оценки микроокружения нафталина в растворах ГК находили значения R_{pv} нафталина в различных растворителях и растворах ГК. Затем по калибровочной кривой определяли полярность микроокружения нафталина и оценивали локализацию молекул нафталина, связанных с ГК.

В третьей главе представлены результаты исследования физико-химических свойств ГКВ, ПГК и ГМК. Данные элементного анализа препаратов гумусовых кислот, выраженные в атомных процентах, приведены в табл. 1. Содержание углерода в ГМК оказалось завышенным не только в массовых, но и в атомных процентах.

Таблица 1 – Элементный состав ГК, % (ат.)

ГК	Содержание элемента, % (ат.)					Атомное отношение		
	С	Н	О	N	S	Н / С	О / С	N / С
ГКВ	32,3	46,4	19,6	1,6	0,1	1,44	0,61	0,05
ПГК	30,0	48,1	20,1	1,7	0,1	1,60	0,67	0,06
ГМК	35,2	45,6	18,4	0,7	0,1	1,30	0,52	0,02

Содержание водорода, напротив, уменьшилось по сравнению с исходным образцом ГКВ. Содержание кислорода, серы и азота также уменьшилось (при пересчёте в атомные проценты изменение содержания серы оказалось меньше возможной погрешности, и не было отражено в таблице). Анализ атомных отношений позволя-

ет прийти к заключению о высокой степени ароматичности ГМК и снижению (по сравнению с исходными ГКВ) количества кислородсодержащих функциональных групп, углеводных и полипептидных фрагментов.

Содержание углерода в ПГК меньше, чем в ГКВ. Количество остальных элементов, напротив, увеличивается при переходе от ГКВ к ПГК. Сравнение атомных отношений ГКВ и ПГК наводит на мысль об уменьшении степени ароматичности ПГК и увеличении доли углеводородных цепей, кислородсодержащих функциональных групп и пептидных фрагментов.

ИК-спектр ГКВ характеризуется интенсивной полосой в области 3380 см^{-1} , что свидетельствует о наличии в составе ГКВ значительного числа гидроксильных групп $-\text{OH}$, связанных межмолекулярными водородными связями. К особенностям этого спектра также относится полоса средней интенсивности в области 2900 см^{-1} , обусловленная валентными колебаниями алкильных групп: $-\text{CH}_3$ и $-\text{CH}_2-$ цепочек. Полоса средней интенсивности в области 1650 см^{-1} характерна для амидной группы, её присутствие позволяет говорить о наличии в составе ГКВ протеиновых фрагментов. Высокую степень замещения бензольных колец подтверждает отсутствие выраженной полосы в области 3030 см^{-1} . ИК-спектр ПГК в целом похож на ИК-спектр ГКВ. Почти все его полосы имеют аналоги на предыдущем спектре. Однако есть и исключения. На ИК-спектре ПГК не обнаружена полоса средней интенсивности, соответствующая карбоксильным группам (в области 1710 см^{-1}), а также слабые полосы, отвечающие ароматическим $\text{C}=\text{C}$ связям (в области 1510 см^{-1}) и гидроксильным группам, связанным с третичным атомом углерода (в области 1150 см^{-1}). ИК-спектра ГМК обнаруживает гораздо большее сходство с ИК-спектром ГКВ. Существенным отличием является отсутствие полос в области 1650 см^{-1} (амидные группы) и 1170 см^{-1} (гидроксильные группы, связанные с третичным атомом углерода). ГМК отличаются также появлением в ИК-спектре дополнительной полосы в области 1610 см^{-1} . Она имеет среднюю интенсивность и характеризует ароматические $\text{C}=\text{C}$ связи.

Количественная оценка содержания отдельных функциональных групп получена с помощью отношений оптических плотностей полос поглощения (табл. 2). В области 2000 см^{-1} ГК характеризуются минимальным поглощением.

Таблица 2 – Отношения оптических плотностей полос поглощения некоторых функциональных групп ГК

ГК	Отношения оптических плотностей			
	D_{3300}/D_{2000}	D_{2900}/D_{2000}	D_{1700}/D_{2000}	D_{1650}/D_{2000}
ГКВ	0,33	0,43	0,43	0,40
ПГК	0,23	0,34	0,36	0,30
ГМК	0,29	0,33	0,24	-

Таким образом, данные ИК-спектроскопии позволяют сделать следующие выводы. В ряду ГКВ – ПГК – ГМК снижается количество алкильных радикалов, метиленовых цепочек и карбонильных групп. В ряду ГКВ – ГМК – ПГК снижается количество гидроксильных групп. ПГК содержат меньшее количество амидных групп, чем ГКВ. В составе ГМК этих групп вообще нет.

Одной из основных особенностей ЯМР-спектров ГК является наличие широких полос поглощения, обусловленных перекрыванием большого количества сигналов. Общий подход к анализу таких спектров заключается в соотношении спектральных интервалов атомам углерода со сходным химическим окружением. Количественные данные о содержании углерода с различным химическим окружением приведены в табл. 3.

Таблица 3 – Фрагментный состав ГК

ГК	Содержание атома углерода в структурных фрагментах, %					
	CH – H, C	CH ₃ – O	CH _n – O, N	O – CH – O, N	Ar – H, C	Ar – O, N
ГКВ	21,53	11,65	10,72	20,04	15,26	5,79
ПГК	22,43	9,44	14,00	19,71	19,89	
ГМК	23,47	10,45	9,85	16,27	11,60	

На основании полученных данных можно сделать выводы о структурно-групповых изменениях при переходе от ГКВ к ПГК и далее к ГМК. В отличие от ГКВ, ПГК характеризуются повышенным содержанием алифатических фрагментов, замещённых углеродом и водородом (алкильные цепи), а также кислородом и азотом («карбогидратные» цепи). При переходе от ГКВ к ПГК снижается доля метоксильных и ароматических фрагментов, а также карбоксильных групп. ГМК обнаруживают повышенное содержание алкильных цепей, ароматических фрагментов и карбоксильных групп. С другой стороны, они характеризуются понижением доли «карбогидратных» цепей и метоксильных фрагментов.

На рис. 1 приведена зависимость интенсивности поглощения раствора ГК на длине волны $\lambda = 465$ нм от объёма элюата. Интенсивность поглощения убывает в ряду ГКВ > ПГК > ГМК для всех фракций препарата. Этот факт согласуется с визу-

альными наблюдениями интенсивности окраски образцов ГК. На кривой элюирования ГКВ отчётливо различимы два максимума: первый соответствует объёму 14 мл, второй – 46 мл. Также два максимума имеет кривая элюирования ПГК: на объёмах 16 и 40 мл (второй из них несколько размыт). Кривая элюирования ГМК обладает только одним чётко выраженным максимумом – он соответствует объёму 14 мл. Таким образом, можно говорить о двух фракциях ГКВ, двух фракциях ПГК, и только об одной фракции ГМК.

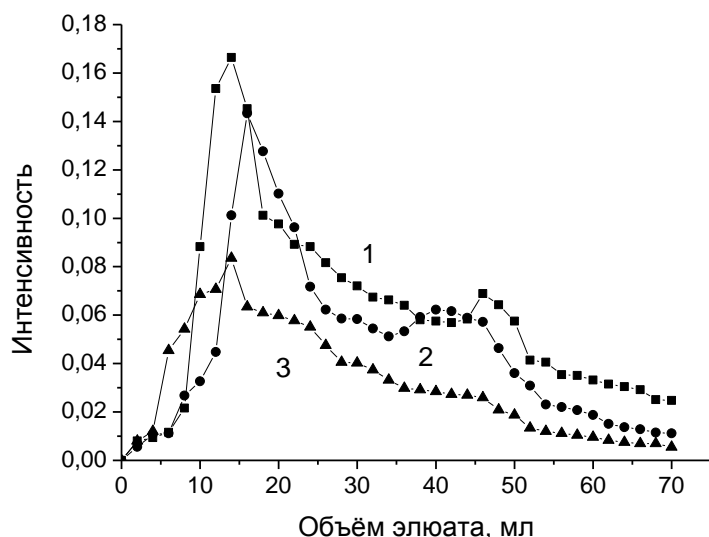


Рисунок 1 – Зависимость интенсивности поглощения раствора ГК на длине волны $\lambda = 465$ нм от объема элюата: 1 – ГКВ; 2 – ПГК; 3 – ГМК

Расчёты средних молекулярных масс приводят к следующим значениям этих величин: 31332 и 4330 а. е. м. для двух фракций ГКВ, 22329 и 3665 а. е. м. для двух фракций ПГК и 28240 а. е. м. для фракции ГМК. Таким образом, при переходе от ГКВ к ПГК и ГМК происходит снижение средней молекулярной массы основной фракции, причём в наибольшей степени оно выражено для ПГК.

Сопоставляя данные молекулярно-массового распределения с результатами, полученными с помощью ИК- и ЯМР-спектроскопии, можно выдвинуть следующую гипотезу. Высокомолекулярная фракция ГК представляет собой ароматические фрагменты, замещённые кислородсодержащими функциональными группами. Наименьшее значение средней молекулярной массы этой фракции ПГК соответствует минимальному количеству ароматических фрагментов в составе ПГК по сравнению с ГКВ и ГМК. Низкомолекулярная фракция ГК представляет собой углеводные и полипептидные фрагменты. Они характерны для ГКВ и ПГК, но отсутствуют в ГМК, чем и обусловлено исчезновение соответствующего пика на гель-хроматограмме ГМК.

В интервале концентраций 10^{-6} - 10^{-3} г/л значения оптической плотности растворов ГК слишком малы для объективного суждения о свойствах препаратов. Концентрированные растворы (10^{-1} г/л и выше) также непригодны вследствие поглощения практически 100 % падающего излучения. Поэтому мы проанализировали спектры поглощения растворов с концентрацией ГК 10^{-2} г/л. Спектры поглощения необ-

лученных растворов ГК представлены на рис. 2. Интенсивность поглощения монотонно убывает по мере увеличения длины волны. Величина интенсивности поглощения снижается при переходе от ГКВ к ПГК и ГМК. На спектрах выражен максимум в области 280 нм, связанный с наличием ароматических структур в составе ГК.

Облучение лампой «Solar» и KrCl-эксилампой одинаковым образом действует на растворы ГК и приводит к снижению интенсивности поглощения по всему спектру. Максимум в области 280 нм сглаживается, что свидетельствует о фотохимической деградации ароматических фрагментов после облучения.

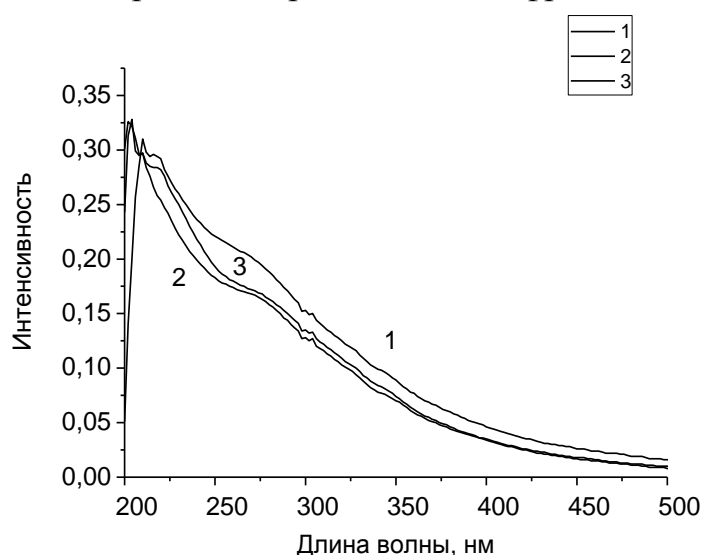


Рисунок 2 – Спектры поглощения растворов ГК с концентрацией 10^{-2} г/л: 1 – ГКВ; 2 – ПГК; 3 – ГМК. pH = 6,86

Облучение лампой «Solar» приводит к более заметному снижению интенсивности поглощения для растворов ПГК, чем облучение KrCl-эксилампой. Однако максимум на длине волны 280 нм после облучения KrCl-эксилампой практически исчезает, в то время как облучение лампой «Solar» не изменяет его формы. Следовательно, фотохимическое разрушение ароматических компонентов ПГК происходит более эффективно при облучении УФ-светом. Стоит отметить, что облучение лампой «Solar», так же как облучение KrCl-эксилампой, не оказывает воздействия на растворы ГМК. Спектры поглощения облучённых растворов ГМК идентичны спектрам контрольного раствора. Максимум в области 280 нм сохраняется, что свидетельствует о неизменности ароматических структур в составе ГМК после облучения. Численные значения величины интенсивности поглощения на длине волны 280 нм для всех растворов ГК приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Интенсивность поглощения на длине волны 280 нм после облучения

Облучение	Гуминовая кислота		
	ГКВ	ПГК	ГМК
Контрольный раствор	0,188 ± 0,002	0,158 ± 0,003	0,163 ± 0,001
«Solar»	0,164 ± 0,001	0,142 ± 0,001	0,165 ± 0,003
KrCl-эксилампа	0,164 ± 0,001	0,152 ± 0,002	0,163 ± 0,001

*± доверительный интервал для $n = 3$, $P = 0,95$

Таким образом, ароматические фрагменты ГМК обладают максимальной устойчивостью к облучению модельным солнечным и УФ-светом. Можно предположить, что ароматические фрагменты ПГК представляют собой замещённые фенолы, в то время как соответствующие фрагменты ГМК – конденсированные ароматические структуры.

По степени замедления или ускорения реакции окисления люминола судили об антирадикальной активности ГК. Окислительно-восстановительную активность ГК оценивали по кинетическому критерию ОВА. При добавлении ГК зафиксировано падение интенсивности хемилюминесценции люминола (рис. 3) и появление в системе второй долгоживущей специи (табл. 5).

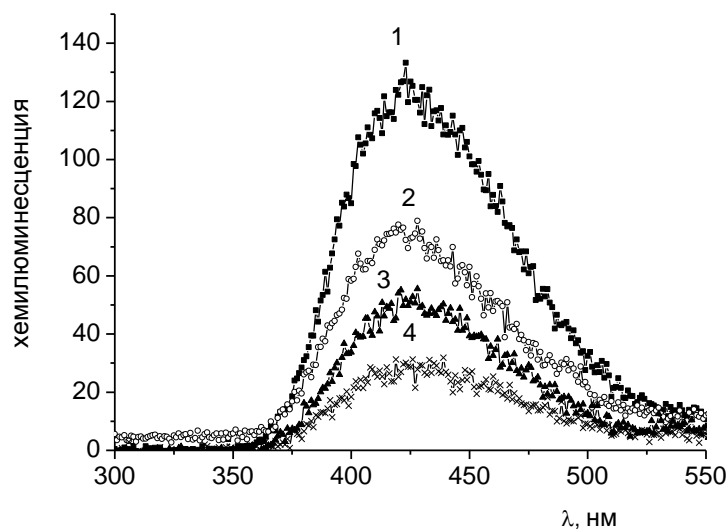


Рис. 3. Спектры хемилюминесценции 3 мМ люминола (1) в присутствии необлученных (2) ГК и облученных в течение 2 мин (3) и 32 мин (4) КrCl-эксилампой

Это указывает на то, что меняется механизм окисления люминола в системе, а именно, происходит разветвление цепи окисления. При УФ-облучении скорость образования продуктов окисления люминола увеличивается. Исчезновение короткоживущей специи в системе с увеличением времени облучения говорит о том, что ГК вступает в реакции с активными формами кислорода или свободными радикалами в системе.

Таблица 5 – Зависимость времени хемилюминесценции люминола (Л) от состава реакционной смеси и УФ-облучения (погрешность измерения составляет $\pm 0,09$)

№	Состав реакционной смеси	Время свечения, мин			
		ГКА		ГКВ	
		KrCl	«Solar»	KrCl	«Solar»
1	Л	0,6			
2	Л+необлученная ГК	0,7 1,5		0,3 1,6	
3	Л+ГК + 32 мин УФ	0,1 2	0,6 1,2	- 1,6	- 1,4

Характер изменения окислительно-восстановительных свойств ГКВ и ГКА от времени воздействия излучением «Solar» одинаков для обоих образцов (рис. 4 б). Максимальное увеличение кинетического критерия ОВА для них отмечено при облучении лампой, моделирующей солнечное излучение, в течение 3-7 мин.

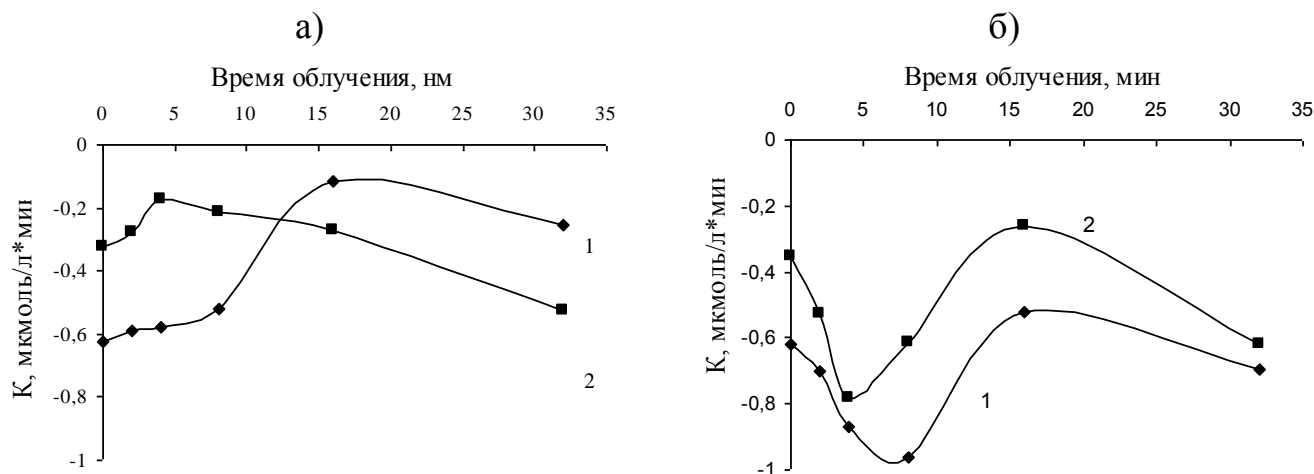


Рис. 4. Влияние длины волны и времени облучения на критерий ОВА ГКА (1) и ГКВ (2): а) KrCl-эксилампа, б) «Solar»

Облучение светом с $\lambda \sim 222$ нм ГКА приводит к увеличению величины кинетического критерия ОВА, по сравнению с ГКВ. В отличие от KrCl-эксилампы, облучение растворов гуминовых кислот излучением «Solar» сначала приводит к резкому падению ОВА, а при дальнейшем облучении восстановлению до первоначального значения.

В четвёртой главе рассчитаны константы взаимодействия ГК с нафталином и определена полярность микроокружения нафталина, связанного с ГК. Спектры поглощения нафталина в присутствии ГК свидетельствуют об образовании комплекса нафталина и ГК. Спектры флуоресценции обнаруживают сложную природу взаимодействия ГК с нафталином. С одной стороны, имеет место процесс тушения, который проявляется в снижении интенсивности флуоресценции нафталина в присутствии ГК различной концентрации. Учитывая характер спектров поглощения нафталина в присутствии ГК, можно предположить статическую природу тушения флуоресценции. С другой стороны, добавление образцов ГК, облученных лампой «Solar», приводит к разгоранию флуоресценции – факт, не получивший убедительной интерпретации в рамках нашего исследования.

Максимальным тушащим действием обладают растворы гуминовых кислот с концентрацией 10^{-2} г/л. На рис. 5 представлены спектры флуоресценции чистого нафталина и спектры флуоресценции нафталина в присутствии ГК. Необлученные препараты ГК тушат флуоресценцию нафталина, снижая её интенсивность в последовательности ПГК > ГМК > ГКВ. Образцы ГК, облученные лампой «Solar»,

усиливают флуоресценцию нафталина. Интенсивность флуоресценции в этом случае практически не зависит от природы ГК. С другой стороны, препараты ГК, облученные KrCl-эксилампой, эффективно тушат флуоресценцию нафталина, снижая её интенсивность в последовательности ГКВ > ПГК > ГМК. На основании полученных экспериментальных данных можно сделать вывод о более эффективном тушении флуоресценции нафталина препаратами ГМК по сравнению с ПГК.

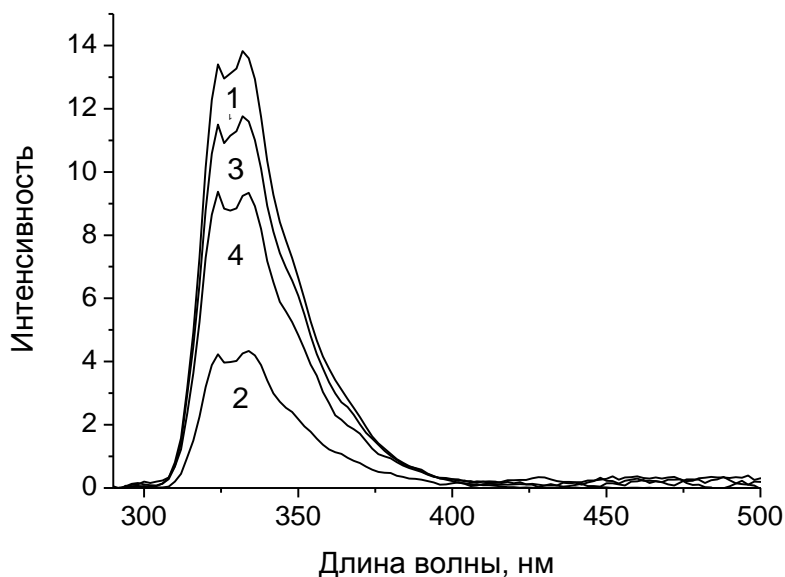


Рисунок 5. Спектры флуоресценции растворов ГК (10^{-2} г/л) + нафталин (10^{-4} М): 1 – нафталин без ГК; 2 – ГКВ; 3 – ПГК; 4 – ГМК. рН = 6,86. Длина волны возбуждения 270 нм

В таблице 6 представлены данные отношений F_0 / F для различных образцов ГК (как исходных, так и облучённых) в зависимости от концентрации ГК. При этом F_0 – интенсивность флуоресценции чистого нафталина, F – интенсивность флуоресценции нафталина в присутствии ГК.

Таблица 6 – Зависимость отношения F_0 / F от концентрации ГК

Гуминовая кислота	F_0 / F				
	10^{-6} г/л	10^{-5} г/л	10^{-4} г/л	10^{-3} г/л	10^{-2} г/л
ГКВ	1,51	1,50	1,92	1,50	3,30
ПГК	1,00	0,77	0,77	0,79	1,18
ГМК	1,00	0,91	1,00	0,92	1,50
ГКВ, «Solar»	0,58	0,61	0,61	0,60	0,70
ПГК, «Solar»	0,58	0,58	0,58	0,60	0,68
ГМК, «Solar»	0,57	0,56	0,55	0,60	0,67
ГКВ, KrCl	1,32	1,18	1,21	1,36	2,09
ПГК, KrCl	1,93	1,63	1,47	1,69	2,44
ГМК, KrCl	1,47	1,49	1,80	2,03	2,85

Значения отношения F_0 / F , приведённые в таблице 6, были использованы для определения констант взаимодействия нафталина с ГК. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Константы взаимодействия нафталина с ГК

Гуминовая кислота	$K_b \times 10^{-4}$, л/кгС		
	необлученные	облученные лампой «Solar»	облученные KrCl-эксилампой
ГКВ	46,00 ± 0,01	8,60 ± 0,02	21,80 ± 0,01
ПГК	43,73 ± 0,02	9,75 ± 0,03	29,88 ± 0,01
ГМК	47,16 ± 0,01	8,97 ± 0,01	33,88 ± 0,02

*± доверительный интервал для $n = 3$, $P = 0,95$

Исходные образцы ГК выстраиваются в следующий ряд по мере возрастания константы взаимодействия с нафталином: ПГК < ГКВ < ГМК. Облучение лампой «Solar» приводит к другой последовательности ГК: ГКВ < ГМК < ПГК. Константы взаимодействия нафталина с ГК, облучёнными лампой «Solar», в 5-7 раз меньше констант взаимодействия нафталина с необлученными образцами ГК. Наконец, облучённые KrCl-эксилампой образцы ГК образуют третий ряд: ГКВ < ПГК < ГМК. Соответствующие константы связывания в 2 раза меньше констант исходных ГК.

В таблице 8 представлены результаты расчёта отношений $R_{pv} = I_p / I_v$, где I_p – поглощение нафталина в длинноволновом максимуме, I_v – поглощение нафталина в прилегающем минимуме. На основании данных таблицы 8 можно сделать вывод о том, что микроокружение нафталина в растворах ГКВ и ГМК менее полярно, чем в ДМСО, но более полярно, чем в этаноле. Микроокружение нафталина в растворах ПГК менее полярно, чем в воде, но более полярно, чем в ДМСО.

Таблица 8 – Отношения интенсивностей поглощения нафталина в зависимости от природы растворителя

Гуминовая кислота	$R_{pv} = I_p / I_v$		
	необлученный образец	облучение лампой «Solar»	облучение KrCl-эксилампой
Гексан	4,3	–	–
Этанол	4,1	–	–
ГМК	3,9	3,9	3,8
ГКВ	3,7	3,6	3,7
ДМСО	3,6	–	–
ПГК	3,3	3,1	3,2
Вода	2,8	–	–

Наиболее полярное микроокружение имеет нафталин в растворах ПГК, наименее полярное – в растворах ГМК. Облучение ГК практически не влияет на полярность микроокружения нафталина, связанного с ними. Сопоставляя результаты исследований структуры ГК и взаимодействия с ГК нафталина, можно прийти к следующему выводу. ГМК представляют собой фракцию ГК, обогащённую ароматическими фрагментами – конденсированными бензольными кольцами. Нафталин

образует наиболее прочные связи с ароматическими фрагментами ГК по механизму π - π электронного взаимодействия с образованием комплексов с переносом заряда. Поэтому максимальная степень связывания с нафталином характерна для фракции ГМК. В меньшей степени нафталин взаимодействует с алифатическими фрагментами – молекулярной периферией ГК. Увеличение доли таких компонентов в составе ПГК приводит к снижению константы взаимодействия этой фракции с нафталином. Связывание нафталина с алифатическими фрагментами ГК происходит, вероятнее всего, за счёт сил Ван-дер-Ваальса.

Облучение лампой «Solar» приводит к увеличению средних молекулярных масс ГК. Можно предположить, что это происходит вследствие образования крупных молекулярных агрегатов в процессе межмолекулярного взаимодействия отдельных молекул ГК. Доступ к ароматическим фрагментам ГК для молекул нафталина оказывается при этом затруднённым, что приводит к уменьшению констант взаимодействия.

Облучение КrCl-эксилампой способствует фотохимической трансформации молекул ГК, их окислению с образованием хинонных структур. Несмотря на уменьшение средних молекулярных масс ГК после облучения УФ-светом, благоприятствующее взаимодействию с нафталином, константы взаимодействия оказываются заниженными по сравнению с исходными образцами ГК. Это снижение констант взаимодействия можно объяснить окислением ароматических фрагментов ГК с образованием хинонных структур, что приводит к уменьшению количества фрагментов молекул ГК, способных связываться с нафталином.

Облучение ГК модельным солнечным и УФ-светом снижает степень взаимодействия с нафталином исходных образцов и отдельных фракций ГК. Учитывая сказанное выше об изменениях структуры макромолекул ГК после облучения, данный факт можно считать доказательством гипотезы образования комплексов нафталина с ароматическими фрагментами ГК. Незначительное изменение полярности микроокружения нафталина после облучения ГК видимым и УФ-светом может служить дополнительным подтверждением данной гипотезы.

ВЫВОДЫ

1. ГМК по сравнению с ГКВ характеризуются высокой степенью ароматичности и снижением доли углеводных и пептидных фрагментов. ПГК по сравнению с ГКВ характеризуются слабой ароматичностью и повышенным содержанием алкильных цепей, углеводных и пептидных фрагментов. ГКВ и ПГК состоят из двух фракций – высокомолекулярной и низкомолекулярной. ГМК содержат только высокомолекулярную фракцию. Ароматические фрагменты ГМК более устойчивы к облучению видимым и ультрафиолетовым светом по сравнению с ароматическими фрагментами ГКВ и ПГК.

2. Увеличение константы взаимодействия образцов ГК с нафталином происходит в ряду: ПГК < ГКВ < ГМК; после облучения лампой «Solar»: ГКВ < ГМК < ПГК. Константы взаимодействия нафталина с образцами ГК, облучёнными лампой «Solar», в 5-7 раз меньше, чем с необлученными образцами ГК. После облучения KrCl-эксилампой образцы ГК установлена зависимость: ГКВ < ПГК < ГМК. При этом константы связывания примерно в 2 раза меньше констант необлученных образцов ГК. Сродство ГМК с нафталином максимально в случае необлученного образца и после облучения KrCl-эксилампой.

3. Микроокружение нафталина в растворах ГКВ и ГМК менее полярно, чем в ДМСО, но более полярно, чем в этаноле. Микроокружение нафталина в растворах ПГК менее полярно, чем в воде, но более полярно, чем в ДМСО. Наиболее полярное микроокружение имеет нафталин в растворах ПГК, наименее полярное – в растворах ГМК. Облучение ГК практически не влияет на полярность микроокружения нафталина, связанного с ними.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций, и в библиографические базы Web of Science:

1. Чайковская О.Н., Соколова И.В., Майер Г.В., Каретникова Е.А., **Нечаев Л.В.**, Тарасенко В.Ф., Соснин Э.А. Применение новых источников УФ-излучения для утилизации устойчивых токсичных соединений // Оптика атмосферы и океана. – 2009. – Т. 22, № 11. – С. 1042-1046. – 0,3 / 0,04 п.л.

2. Юдина Н.В., Чайковская О.Н., Соколова И.В., Мальцева Е.В., **Нечаев Л.В.** Окислительно-восстановительные свойства и антирадикальная активность гуминовых кислот при воздействии УФ и видимым излучением // Журнал прикладной химии. – 2011. – Т. 84, вып. 5. – С. 790-795. – 0,35 / 0,07 п.л.

переводная версия:

Yudina N.V., Tchaikovskaya O.N., Sokolova I.V., Maltseva E.V., **Nechaev L.V.** Redox properties and antiradical activity of humic acids under exposure to UV and visible light // Russian Journal of Applied Chemistry. – 2011. – V. 84, № 5. – С. 820-825. – 0,35 / 0,07 п.л. – DOI: 10.1134/S1070427211050144

3. Мальцева Е.В., Юдина Н.В., Чайковская О.Н., **Нечаев Л.В.** Константы ассоциации модифицированных гуминовых кислот с биоцидами ряда триазолов – ципроконазолом и тебуконазолом // Журнал физической химии. – 2011. – Т. 85, № 9. – С. 1676-1679. – 0,25 / 0,06 п.л.

переводная версия:

Maltseva E.V., Yudina N.V., Tchaikovskaya O.N., **Nechaev L.V.** Association constants of modified humic acids with biocides of the triazole series: cyproconazole and tebuconazole // Russian Journal of Physical Chemistry A. – 2011. – V. 85, № 9. – С. 1558-1561. – 0,25 / 0,06 п.л. – DOI: 10.1134/S0036024411090147

4. **Нечаев Л.В.**, Чайковская О.Н., Соколова И.В. К вопросу о воздействии излучения на антиоксидантную активность гуминовых кислот верхового торфяника Васюганского болота // Вестник Томского государственного педагогического университета. – 2011. – Вып. 5 (107). – С. 107-111. – 0,40 / 0,20 п.л.

5. **Нечаев Л.В.**, Чайковская О.Н., Соколова И.В., Савельева А.В., Юдина Н.В., Мальцева Е.В. Влияние модельного солнечного излучения на взаимодействие гуминовых кислот с нафталином // Журнал прикладной химии. – 2013. – Т. 84, № 4. – С. 547-551. – 0,30 / 0,15 п.л.

Переводная версия:

Nechaev L.V., Tchaikovskaya O.N., Sokolova I.V., Saveleva A.V., Yudina N.V., Maltseva E.V. Effect of simulated solar radiation on the interaction of humic acids with naphthalene // Russian Journal of Applied Chemistry. – 2013. – V. 86, № 4. – С. 510-514. – 0,30 / 0,15 п.л. – DOI: 10.1134/S1070427213040095