

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КРИОСФЕРЫ

УДК 551.345:631.417:535.372

DOI: 10.21782/KZ1560-7496-2017-2(70-79)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИАГРАММ ОПТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ
МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

Л.Т. Ширшова, Д.А. Гиличинский, Н.В. Остроумова, А.М. Ермолаев

*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
142290, Пушкино, Московская обл., Россия; lt_shirshova@list.ru*

Гуминовые вещества многолетнемерзлых отложений выделены с помощью последовательной катионит-щелочной экстракции и исследованы методами электронной абсорбционной и флуоресцентной спектроскопии. Результаты спектрального анализа представлены в виде диаграмм оптических параметров, позволяющих диагностировать гуминовые фракции различной химической зрелости и отслеживать изменения их состояния при оттаивании отложений.

Многолетнемерзлые отложения, Арктика, гуминовые вещества, электронная спектроскопия, оптические параметры, диаграммы

INVESTIGATION OF HUMIC SUBSTANCES FROM PERMAFROST SEDIMENTS
USING DIAGRAMS OF OPTICAL PARAMETERS

L.T. Shirshova, D.A. Gilichinsky, N.V. Ostroumova, A.M. Yermolayev

*Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS,
Moscow region, Pushchino, 142290, Russia; lt_shirshova@list.ru*

Humic substances of permafrost sediments have been isolated using sequential resin-alkali extraction and investigated by the electron absorption and fluorescence spectroscopy methods. The results of spectral analysis are presented in the form of diagrams of optical parameters, allowing humic fractions of different degrees of chemical maturity to be identified and changes in their state at thawing of sediments to be traced.

Permafrost, sediments, Arctic, humic substances, electron spectroscopy, optical parameters, diagrams

ВВЕДЕНИЕ

Устойчивые фракции природного органического вещества, называемые гуминовыми веществами (ГВ), являются результатом биохимической трансформации органических остатков и присутствуют во всех объектах биосферы. Они регулируют процессы массо- и энергообмена в наземных и водных экосистемах, обеспечивая их стабильное функционирование. Ввиду исключительной сложности структурной организации ГВ их описание в строгих химических терминах до сих пор отсутствует. Согласно наиболее общей концепции, ГВ представляют собой систему полифенольных полимеров, включающую компоненты различной химической зрелости (степени гумификации) – от лабильных слабогумифицированных соединений с относительно простой ароматической структурой до сформированных устойчивых форм с высокосопрежженными ароматическими системами.

Относятся ГВ к классу полифункциональных полиэлектролитов, где определяющими являются кислотные функциональные группы (карбоксильные, фенольные). Концентрация кислотных групп меняется в процессе биохимической трансформации гуминовых соединений, что влияет на характер их фиксации на органоминеральной матрице и поведение в водной среде. В зависимости от степени гумификации компоненты ГВ выступают материальными носителями аккумулятивных либо транспортных функций в биогеоценозах, имеют разную устойчивость к биодеградации [Кононова, 1963; Орлов, 1990; Humic..., 1985, 1989; Stevenson, 1994; Swift, 1999].

В последние десятилетия для оценки химической зрелости ГВ природного и антропогенного происхождения широко используются различные

варианты электронной спектроскопии. Существенное преимущество данной техники анализа – минимальная подготовка образцов, относительная доступность оборудования и простота его эксплуатации. Моделями гуминового материала различной химической зрелости традиционно служат фракции гуминовых кислот (ГК) и фульвокислот (ФК), выделяемые в стандартных условиях: осаждаемые в кислой среде ГК включают химически зрелые формы, обогащенные высокосопряженными ароматическими структурами, тогда как растворимые во всей области рН ФК объединяют слабогумифицированные компоненты с более простой ароматической системой [Ширшова и др., 2004, 2013; Bloom, Leenheer, 1989; Senesi et al., 1991; Korshin et al., 1997; Abbt-Braun, Frimmel, 1999; Milori et al., 2002; Chen et al., 2003; Del Vecchio, Blough, 2004; Domeizel et al., 2004; Fuentes et al., 2006; Shirshova et al., 2009; Birdwell, Engel, 2010].

Определение гуминовых компонентов различной химической зрелости в терминах молекулярных фракций весьма проблематично. Несмотря на длительную историю изучения молекулярной организации ГВ, единого мнения по этому вопросу среди ученых так и не сложилось. В работах [Ширшова, 1991; Ширшова, Ермолаева, 2001; Ширшова, Ермолаев, 2002] показано: 1) в водной среде ГВ представлены сложными макроагрегатами, способными диссоциировать на ряд субъединиц различного размера; 2) изолированные субъединицы также способны к диссоциации – и так вплоть до низкомолекулярных компонентов; 3) все выделенные субъединицы, включая низкомолекулярные, подвержены агрегации. Что касается ГК и ФК, то в составе обеих фракций обнаружены низкомолекулярные субъединицы, которые различаются условиями агрегации. Полученные результаты дают основание полагать, что агрегация является фундаментальным свойством гуминового материала и в зависимости от условий ее драйверами могут выступать как слабогумифицированные, так и химически зрелые формы. Вследствие статистического характера процесса в состав гуминовых агрегатов могут включаться фрагменты биомолекул и неорганические соединения. Агрегатные структуры ГВ – динамичные образования, их перестройка с изменением условий окружающей среды сопряжена с высвобождением – связыванием органических и неорганических соединений. Для северных территорий важным природным фактором является промерзание – оттаивание.

В предыдущих исследованиях ГВ многолетнемерзлых отложений методами электронной спектроскопии: предложен ряд оптических параметров для характеристики количества и качества гуминового материала; установлены существен-

ные различия параметров ГВ, экстрагированных из свежеразмороженных и воздушно-сухих образцов отложений [Ширшова и др., 2013, 2015; Shirshova et al., 2009]. Настоящая работа сфокусирована на систематизации результатов исследования гуминовых веществ методами абсорбционной и флюоресцентной спектроскопии.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объектами изучения послужили образцы многолетнемерзлых отложений тундровой зоны восточного сектора Арктики (см. таблицу). Криолитологические характеристики отложений, подробное описание места и способа отбора образцов, а также условий их хранения представлены в работах [Куницкий, 1989; Холодов и др., 2003; Gilichinsky et al., 2005]. Каждый образец был разделен на две части: одна содержалась в течение всего времени в морозильной камере и обозначена М (мерзлый); другая высушена на воздухе и выдержана при комнатной температуре в течение двух месяцев, обозначена Т (талый). Содержание органического углерода ($C_{орг}$) в воздушно-сухих образцах отложений определено на экспресс-анализаторе на углерод АН-7529.

Выделение ГВ и подготовка образцов к анализу

Гуминовые вещества были выделены из образцов отложений *методом последовательной катионит-щелочной экстракции* в три этапа [Shirshova et al., 2009]: 1) сначала в дистиллированной воде с помощью ионообменного Na^+ -сульфокатионита (RSO_3Na) экстрагирована наиболее подвижная фракция ГВ-S; 2) затем с помощью комплексообразующего Na^+ -карбоксилатного катионита (RCO_2Na) – фракция ГВ-C, прочно связанная с катионами металлов; 3) после чего проведена обработка остатка 0.1 М NaOH для извлечения свободной фракции ГВ-A, связанной с органическими компонентами, в том числе в составе сложных полимерных комплексов. По стандартной методике из каждого полученного экстракта ГВ были выделены фракции ГК-S, С, А и ФК-S, С, А. Для сравнения использованы гуминовые фракции, исследованные ранее: 1) ГК и ФК из воздушно-су-

Характеристика исследуемых многолетнемерзлых отложений

Номер образца	Тип отложений	$C_{орг}$, г/кг
1	Голоцен Q_{IV} , оторфованный суглинок	54.5
2	Поздний плейстоцен Q_{III} , суглинок	3.6
3	Поздний плиоцен – ранний плейстоцен N_2-Q_I , песчано-суглинистые	4.9

Примечание. $C_{орг}$ – содержание органического углерода.

хих образцов многолетнемерзлых отложений, современных почв и водного происхождения [Ширшова и др., 2013, 2015]; 2) ГК, изолированные из фракций ГВ-S, С, А после дополнительного их центрифугирования при 30000g в течение 1.5 ч (ГКg-S, С, А) [Shirshova et al., 2009]; 3) образцы ГК, очищенные от минеральных примесей (ГК-С2, ГК-А2), минеральных и органических примесей (ГК-С3, ГК-А3) [Shirshova et al., 2006].

Спектральный анализ образцов гуминового материала

Спектрофотометрические измерения проводили на спектрофотометре НІТАСНІ 557 при комнатной температуре с использованием кварцевой кюветы (1 см × 1 см). По методике [Ширшова и др., 2015] определено содержание в исследуемых отложениях хромофорного гуминового материала (ХГВ): в растворах исходных экстрактов ГВ-S, ГВ-С, ГВ-А измерена оптическая плотность при длине волны $\lambda = 337$ нм (A_{337} , см⁻¹). Полученные значения оптической плотности были нормализованы к 1 г образца отложения путем умножения на объем выделенного экстракта ГВ (мл) и деления на навеску образца (г) в расчете на сухой вес; полученные значения ХГВ представлены в условных единицах (у.е./г): A_{337} , см⁻¹·мл/г.

Спектры поглощения гуминовых фракций (ГВ-S, С, А и изолированных из них ГК-S, С, А и ФК-S, С, А) были записаны в области 200–600 нм; при записи спектров использованы образцы гуминовых фракций, приготовленные для флуоресцентного анализа (см. ниже). Отдельно в тех же образцах гуминовых фракций были измерены оптические плотности при длине волны $\lambda = 254$ и 436 нм; для каждой фракции рассчитано отношение оптической плотности при $\lambda = 254$ нм к таковой при $\lambda = 436$ нм: A_{254}/A_{436} .

Спектры возбуждения и испускания флуоресценции гуминовых фракций получены на флуоресцентном спектрофотометре НІТАСНІ 850. Измерения проводили с использованием кварцевой кюветы (1 см × 1 см) при комнатной температуре. Спектры возбуждения записаны в диапазоне длин волн $\lambda = 200$ –550 нм при длине волны испускания флуоресценции $\lambda_{ис} = 450$ нм; спектры испускания записаны в диапазоне длин волн $\lambda_{ис} = 350$ –600 нм при длине волны возбуждения флуоресценции $\lambda_{воз} = 337$ нм. Оптическая плотность анализируемых растворов при 337 нм составляла ≤ 0.15 ед., рН 7.5–8.0. Подробное описание условий подготовки образцов к анализу и режима записи спектров представлено в [Ширшова и др., 2013; Shirshova et al., 2009]. Для каждой гуминовой фракции были рассчитаны следующие флуоресцентные параметры: $I_{x_{254}}/I_{x_{305}}$ – отношение между интенсивностью в максимуме возбуждения флуоресценции в области 244–260 нм и таковой в области

300–310 нм (при отсутствии какого-либо из максимумов измеряли интенсивность при длине волны $\lambda = 254$ и 305 нм соответственно); F_{eff} – отношение интенсивности в максимуме испускания флуоресценции к оптической плотности анализируемого раствора при длине волны возбуждения флуоресценции $\lambda_{воз} = 337$ нм.

Относительное стандартное отклонение, связанное с определением указанных оптических параметров в трех повторностях, не превышало 6 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1, 2 представлены электронные абсорбционные и флуоресцентные спектры фракций ГВ, ФК и ГК, выделенных из отложений, максимально различающихся по возрасту: **1** (Q_{IV}) и **3** (N_2-Q_I). Общий вид полученных спектров типичен для гуминового материала. При этом наблюдаются определенные различия в спектрах пар ГВ (Т) и ГВ (М) каждого отложения (см. рис. 1). Одной из причин может быть различный выход материала гуминовых фракций из образцов Т и М (рис. 3) и, как следствие, различие в составе анализируемых ГВ. Согласно исследованиям [Полубесова и др., 1994; Ширшова и др., 2006, 2013, 2015; Polubesova, Shirshova, 1997], влияние оттаивания промерзших образцов отложений/почв на экстракционную лабильность гуминовых фракций зависит от характера фиксации последних на органо-минеральной матрице, длительности пребывания в мерзлом состоянии, а также возможных изменений состояния гуминового материала в ходе анализа в стандартных лабораторных условиях. Наиболее существенные различия отмечаются в спектрах пары ГВ-S (Т) и ГВ-S (М), что позволяет рассматривать фракцию ГВ-S в качестве индикатора состояния гуминового материала многолетнемерзлых отложений.

Абсорбционные спектры

Спектры поглощения фракций ГВ (см. рис. 1, а) и изолированных из них ФК и ГК (см. рис. 2, а) представляют собой плавную кривую снижения интенсивности при переходе из ультрафиолетовой (УФ) в видимую область с небольшим максимумом/плечом в коротковолновой области спектра. Для описания спектров поглощения гуминовых фракций используется отношение оптической плотности при длине волны $\lambda = 254$ нм к таковой при $\lambda = 436$ нм (A_{254}/A_{436}), апробированное в работе [Shirshova et al., 2006]. Величина A_{254}/A_{436} дает количественную оценку соотношения в анализируемом гуминовом образце хромофоров, поглощающих в УФ и видимой областях спектра. Поглощение при длине волны $\lambda = 254$ нм связывают с наличием в гуминовых соединениях “карбоксифенолов”, по терминологии [Bloom, Leenheer, 1989]. Характерное для ФК интенсивное

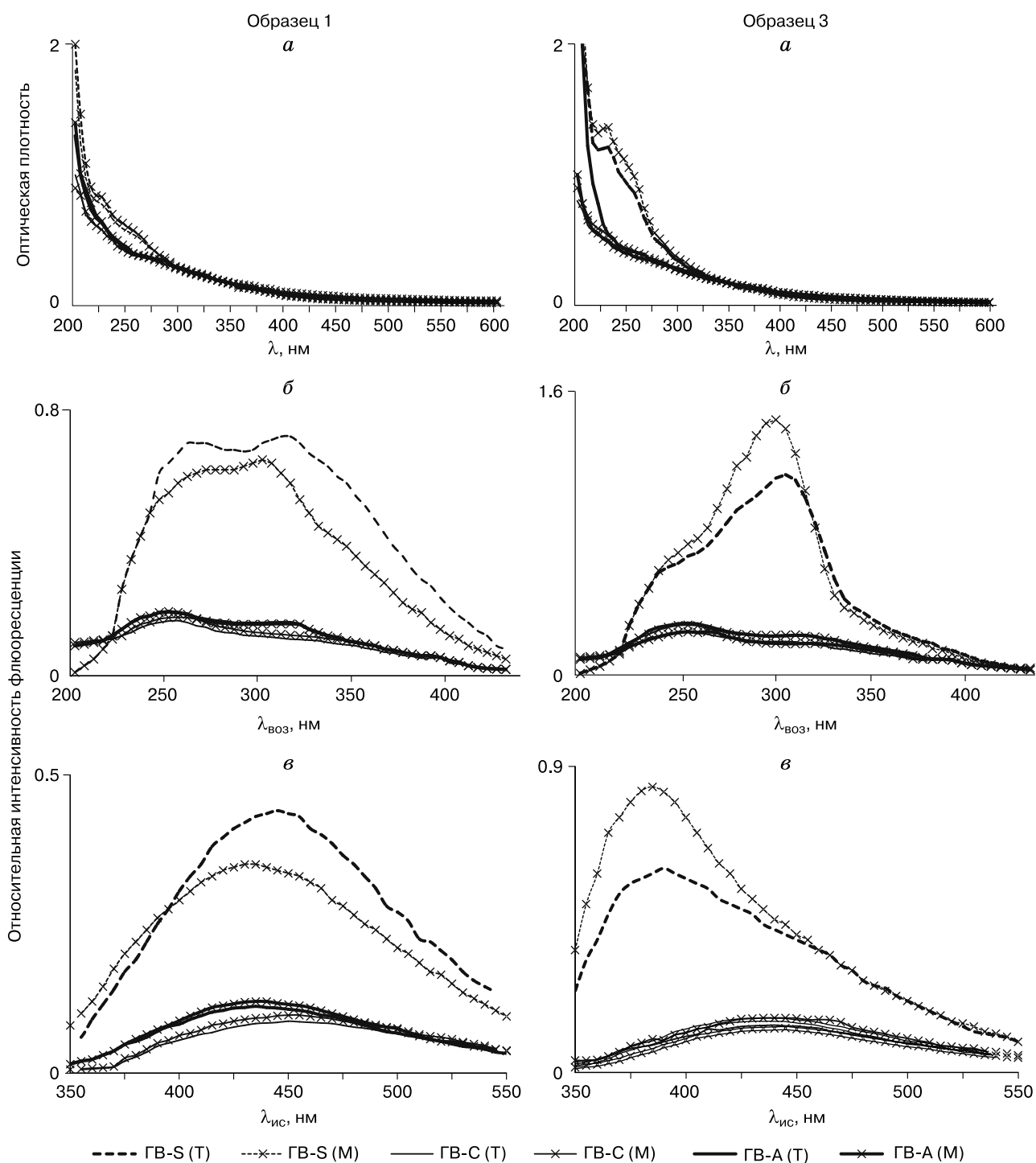


Рис. 1. Электронные спектры гуминовых веществ, экстрагированных из образцов 1 и 3:

a – спектры поглощения; *б* – спектры возбуждения флюоресценции; *в* – спектры испускания флюоресценции. Гуминовые вещества экстрагированы последовательно сульфосмоллой (фракция ГВ-S), карбоксилатной смолой (фракция ГВ-C) и 0.1 М NaOH (фракция ГВ-A). М – естественно-мерзлые образцы; Т – оттаявшие воздушно-сухие образцы, выдержанные при положительной температуре в течение двух месяцев.

Длина волны, нм: поглощения λ (*a*), возбуждения $\lambda_{\text{воз}}$ (*б*) и испускания $\lambda_{\text{ис}}$ (*в*) флюоресценции.

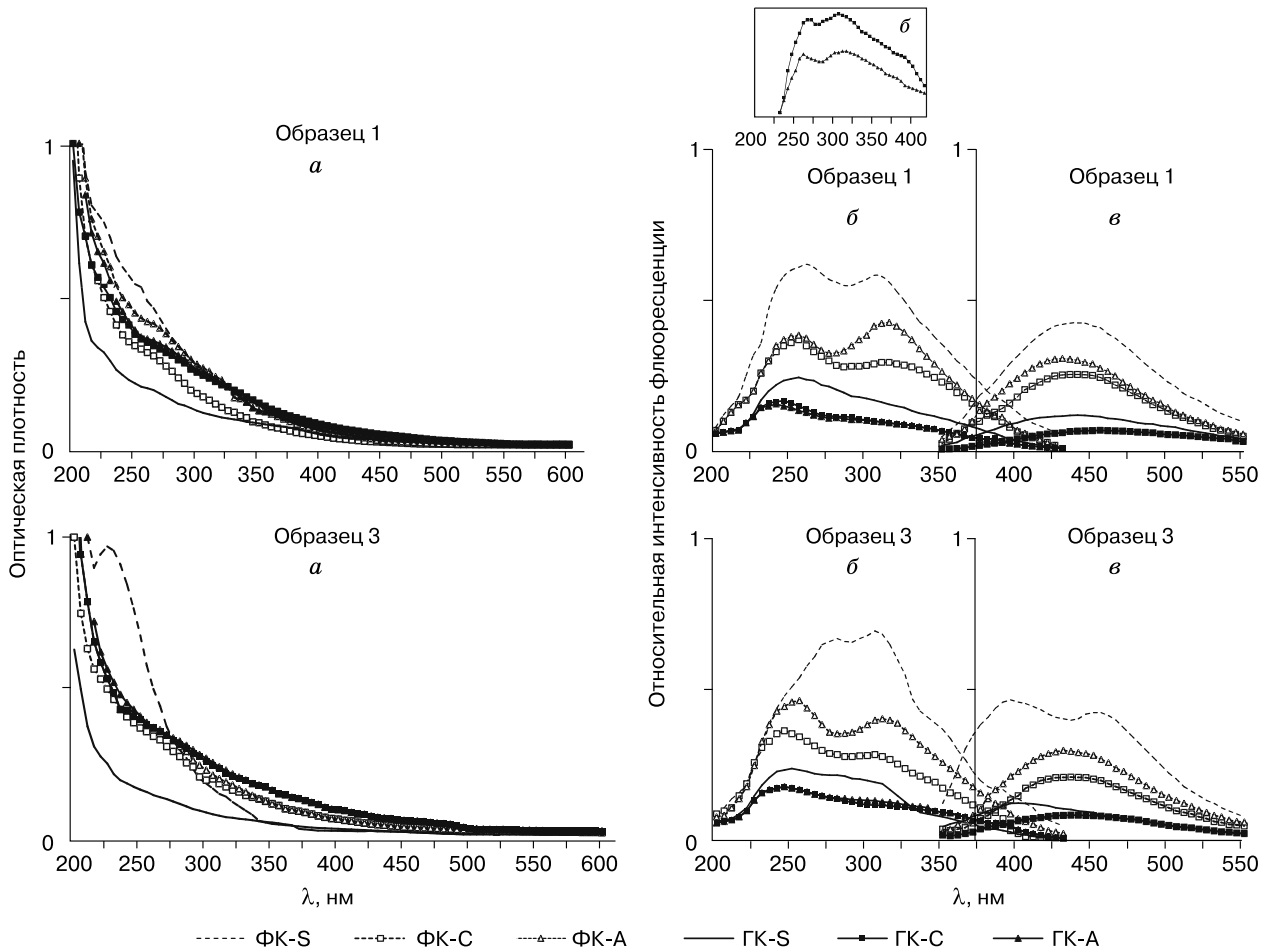


Рис. 2. Электронные спектры гуминовых кислот (ГК) и фульвокислот (ФК) из образцов 1 (Т) и 3 (Т):
a – спектры поглощения; *б* – спектры возбуждения флуоресценции; *в* – спектры испускания флуоресценции. ГК-S, С, А и ФК-S, С, А выделены из фракций гуминовых веществ, экстрагированных последовательно сульфосмоллой (ГВ-S), карбоксилатной смолой (ГВ-C) и 0.1 М NaOH (ГВ-A). На врезке: спектры возбуждения флуоресценции препаратов ГК-C2 и ГК-A2, очищенных от минеральных примесей. Обозначения и пояснения см. на рис. 1 и в тексте.

поглощение в УФ-диапазоне (см. рис. 2, *a*) объясняется тем, что составляющие их слабогумифицированные компоненты обогащены карбоксильными и фенольными группами. Поглощение при

длине волны $\lambda = 436$ нм относят к хромофорам, ответственным за окраску гуминовых веществ, в химически зрелом гуминовом материале их содержание выше и (или) они имеют здесь несколько

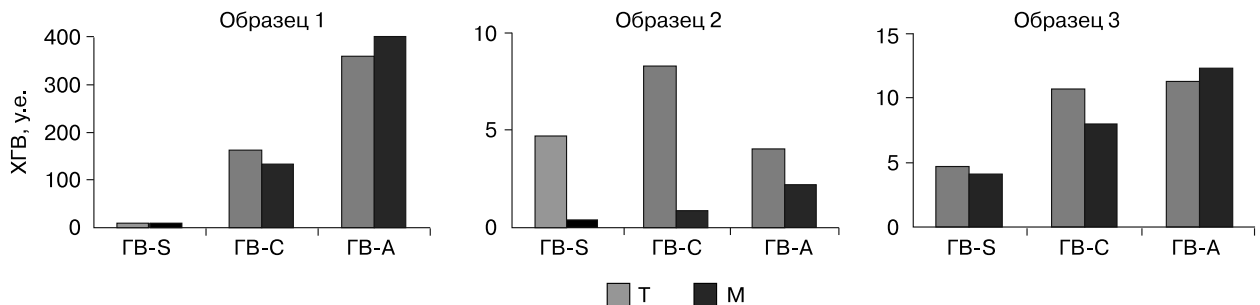


Рис. 3. Содержание в образцах многолетнемерзлых отложений хромофорных гуминовых веществ (ХГВ).

Обозначения см. на рис. 1 и в тексте.

иное качество либо химическое окружение [Bloom, Leenheer, 1989; Korshin et al., 1997; Gjessing et al., 1998; Abbt-Braun, Frimmel, 1999; Del Vecchio, Blough, 2004; Domeizel et al., 2004; Fuentes et al., 2006].

Спектры возбуждения флюоресценции

Спектры возбуждения флюоресценции позволяют получить дополнительную информацию о хромофорных и флюорофорных группах в составе ГВ. Теоретически спектры возбуждения флюоресценции представляют собой копии спектров поглощения флюорофоров [Паркер, 1972; MacCarthy, Rice, 1985; Bloom, Leenheer, 1989; Filippova et al., 2001]. Для спектров возбуждения исследованных гуминовых фракций (см. рис. 1, б, 2, б) характерно наличие двух пиков с максимумами около 254 нм (область 244–260 нм) и около 305 нм (область 300–310 нм). В спектрах ФК четко выражен максимум в области 305 нм, тогда как в спектре ГК главный максимум локализован около 254 нм. В УФ-спектре салициловой кислоты, которую используют в качестве модельного карбоксифенольного соединения [Bloom, Leenheer, 1989], имеются два пика в областях 230–242 и 296–306 нм; при ионизации кислотных групп наблюдается сглаживание максимума в области 230–242 нм и усиление пика при 296–306 нм. Логично предположить, что одной из причин наблюдаемых на рис. 2, б различий в спектрах возбуждения флюоресценции ФК и ГК является разная степень ионизации кислотных функциональных групп. В пользу этой гипотезы говорит то, что спектры возбуждения флюоресценции обеззоленных образцов ГК (см. врезку на рис. 2) близки по форме к спектрам ФК. Повидимому, удаление катионов металлов приводит к дополнительной ионизации кислотных функциональных групп и (или) их экспозиции на поверхность гуминовых частиц. Учитывая вышеизложенное, отношение между интенсивностью максимума/плеча в области 254 нм к таковой в области 305 нм в спектре возбуждения флюоресценции (величина $I_{x_{254}}/I_{x_{305}}$) можно использовать для сравнительной оценки ионизации кислотных функциональных групп в составе ГВ.

Спектры испускания флюоресценции

Спектры испускания флюоресценции гуминовых фракций (см. рис. 1, в, 2, в) подробно обсуждались ранее [Ширшова и др., 2013]. Как правило, спектры гуминовых фракций состоят из широкой бесструктурной полосы в области 420–520 нм, наиболее интенсивно флюоресцируют ФК, наименее интенсивно – ГК. В спектрах ГВ-S, ГК-S и ФК-S отложения 3 (N₂-Q₁) детектируются максимумы флюоресценции при 382–398 нм. Наблюдаемый синий сдвиг полосы за пределы области ФК указывает на наличие в анализируемом образце “экстраслабогумифицированных” соединений. Ин-

тенсивности в максимуме испускания флюоресценции используются для определения параметра F_{eff} , который характеризует химическую зрелость исследуемых гуминовых фракций.

Диаграммы оптических параметров

Для описания электронных абсорбционных и флюоресцентных спектров используются три параметра (A_{254}/A_{436} , $I_{x_{254}}/I_{x_{305}}$, F_{eff}), каждый из которых высвечивает специфическую информацию о структурной организации гуминовых фракций. Представление результатов спектрального анализа в виде диаграмм оптических параметров способствует суммированию получаемой информации. На рис. 4, а, б приведены диаграммы в координатах A_{254}/A_{436} и F_{eff} для фракций ГВ, ФК и ГК из образцов М и Т исследуемых отложений. Использование оптических параметров ГК и ФК позволяет выявить принцип распределения на диаграмме гуминовых компонентов различной химической зрелости. В соответствии с положениями фракций ФК и ГК в поле диаграммы можно выделить четыре области (см. рис. 4, а): I – химически зрелые ГК; II – промежуточные ФК–ГК-структуры (последние включают ГК с оптическими параметрами, близкими к таковым смежных ФК); III – слабогумифицированные ФК; диффузная область IV экстраслабогумифицированных компонентов. Как видно на рис. 4, разброс значений оптических параметров возрастает при переходе от области I к области IV. Самая узкая область I включает наиболее преобразованные гуминовые формы, которые имеют сходную молекулярную структуру.

На рис. 4, б приведены диаграммы оптических параметров фракций ГВ исследуемых отложений. Следует иметь в виду, что оптические свойства ГВ – это не сумма свойств ГК- и ФК-составляющих [Ширшова и др., 2004]. Не менее важными факторами являются характер связи и взаимное расположение ГК- и ФК-компонентов в составе исходной молекулярной структуры. Целесообразность исследования ГВ-фракций заключается в том, что их структура ближе к нативной, определяющей поведение гуминового материала в естественных условиях. Этому способствует сочетание мягкой катионит-щелочной процедуры выделения–фракционирования ГВ с чувствительным неразрушающим методом электронной спектроскопии. Все выделенные фракции ГВ, включая область I (см. врезку на рис. 4, б), дифференцированы в поле диаграммы, что является конструктивным достоинством последней при исследовании качества каждой фракции. Как видно на рис. 4, б, большая часть ГВ-С и ГВ-А из образцов М и Т располагается в области химически зрелых форм (I). Оптические свойства этих фракций близки и мало меняются при оттаивании исходных образ-

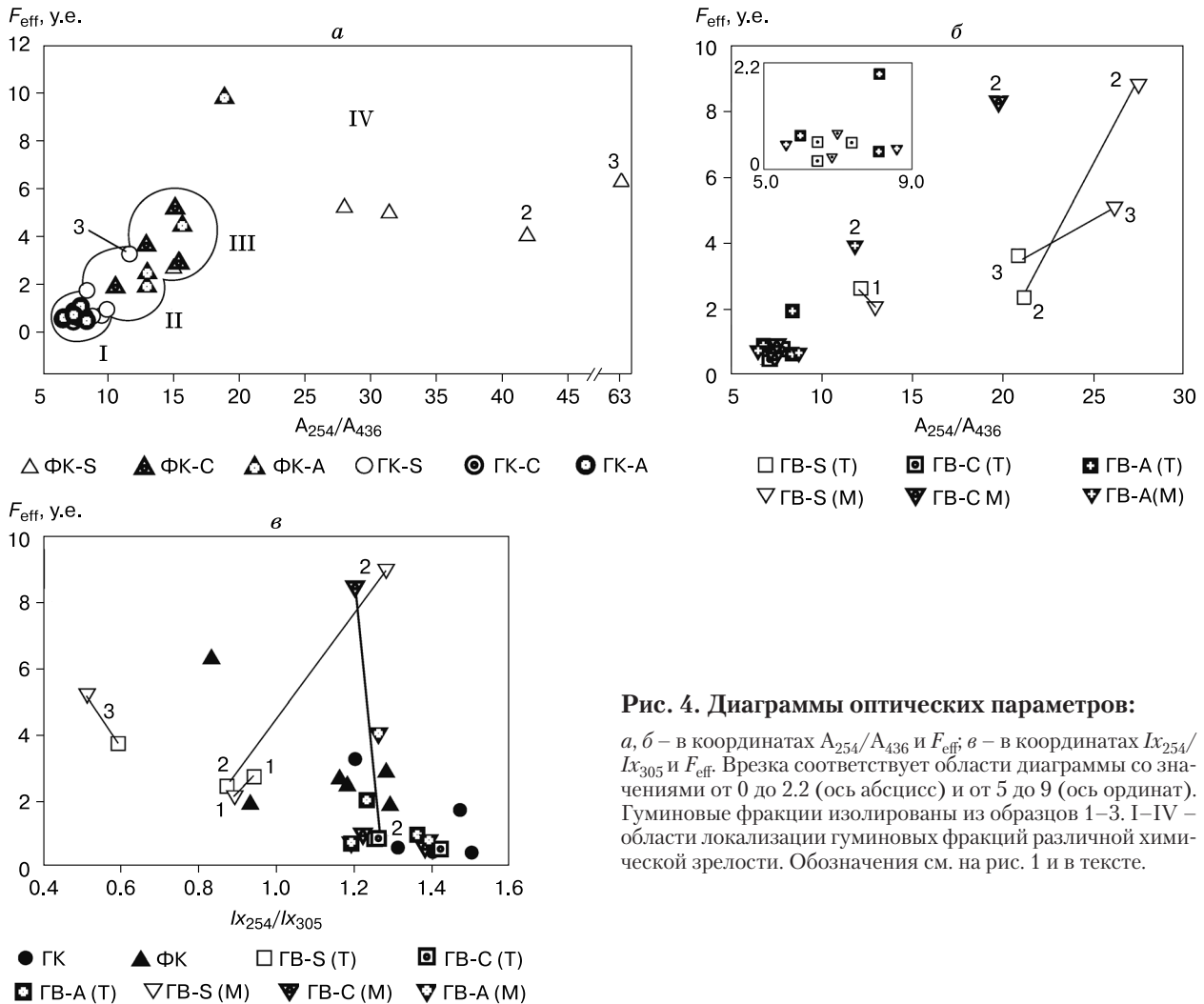


Рис. 4. Диаграммы оптических параметров:

a, б – в координатах A_{254}/A_{436} и F_{eff} ; *в* – в координатах $I_{x_{254}}/I_{x_{305}}$ и F_{eff} . Врезка соответствует области диаграммы со значениями от 0 до 2.2 (ось абсцисс) и от 5 до 9 (ось ординат). Гуминовые фракции изолированы из образцов 1–3. I–IV – области локализации гуминовых фракций различной химической зрелости. Обозначения см. на рис. 1 и в тексте.

цов. Существенная разница между ГВ исследованных отложений обнаруживается в области локализации мобильной ГВ-S. Здесь наблюдаются также различия в параметрах пар ГВ-S (Т) и ГВ-S (М) (на рис. 4, б, в они соединены линиями). Как правило, в ГВ-S (М) относительное содержание слабогумифицированных форм выше, чем в ГВ-S (Т), при этом в ГВ-S (М) отложений 2 (Q_{III}) и 3 (N_2-Q_I) преобладают экстраслабогумифицированные компоненты, локализованные в области IV. При деградации мерзлоты эти подвижные фотофизически активные органические соединения могут попадать в сопряженные водные экосистемы и влиять на экологические условия прилегающих территорий. Предложено следующее объяснение наблюдаемому феномену [Ширшова и др., 2013, 2015]. При оттаивании отложений в первую очередь происходит растворение – активация наименее зрелых форм (ФК-типа, растворимых как в щелочной, так и в кислой среде). Затем происходит их агрегация с последующим формировани-

ем–функционированием самостоятельных слабогумифицированных структур. В долговременном масштабе динамическое равновесие между агрегатными структурами, сформированными на основе химически зрелых и слабогумифицированных форм, сдвигается в сторону последних с вычлениением из них экстраслабогумифицированных компонентов. Что касается ГВ-C и ГВ-A, то они связаны на органоминеральной матрице образцов более прочно (комплексные соединения с металлами, сложноэфирные связи). В результате слабогумифицированные формы в составе ГВ-C и ГВ-A менее растворимы, чем в составе ГВ-S и, соответственно, менее подвержены изменениям. Кроме того, большую роль играет характер стабилизации гуминовых макроагрегатов: за счет слабых взаимодействий в ГВ-S, ГВ-C и сложноэфирного типа во фракции ГВ-A. Поэтому спектральные характеристики и поведение фракций ГВ многолетнемерзлых отложений сильно зависит от генезиса исследуемых образцов. Так, в ГВ-S (М) голоцено-

вого отложения 1 (Q_{IV}) отмечена лишь тенденция к возрастанию значения A_{254}/A_{436} в сравнении с таковой в ГВ-S (Т). Незначительное повышение в ГВ-S (Т) величины F_{eff} , скорее всего, связано с изменением состава и (или) состояния ГВ-S при стандартной подготовке исходного образца в лабораторных условиях. По-видимому, для накопления слабогумифицированных форм требуется более длительное время пребывания в мерзлом состоянии. Наиболее существенные различия в параметрах пар ГВ (Т) и ГВ (М) отмечены для отложения 2, где все фракции ГВ (М) локализованы в областях III–IV. Отличительной чертой данного отложения является низкий выход ГВ из образца М (см. рис. 3), что характерно для растворенных органических веществ (РОВ), растворимость которых значительно снижается в результате промерзания [Шурилова и др., 2013; Fellman et al., 2008]. В составе РОВ преобладают свободные гуминовые компоненты, которые слабо дифференцированы по формам связи на органоминеральной матрице. В результате фракции ГВ-S, С, А мало различаются по оптическим свойствам и поведению.

На рис. 4, в представлена диаграмма в координатах Ix_{254}/Ix_{305} и F_{eff} (ввиду малого количества материала некоторых гуминовых фракций они здесь не представлены). Как и следовало ожидать, в целом диаграмма похожа на зеркальное отражение диаграммы $A_{254}/A_{436}-F_{eff}$, отличия касаются расположения ГВ-фракций отложения 2 (см. рис. 4, а, б). На диаграмме $Ix_{254}/Ix_{305}-F_{eff}$ также можно выделить области: ГК; ГК–ФК; ФК, где локализованы ГВ-S образца 1; область экстрасла-

богумифицированных компонентов, где располагается ГВ-S образца 3. При этом, согласно положению в поле диаграммы пар ГВ-S (Т) и ГВ-S (М), последние относительно обогащены ионизированными карбоксильными группами, что характерно для менее зрелых гуминовых структур. Все это согласуется с результатами, полученными при анализе диаграммы $A_{254}/A_{436}-F_{eff}$. Что касается образца 2, то, судя по величине Ix_{254}/Ix_{305} , определенная часть карбоксильных групп в составе ГВ-S, С (М) находится в некотором “связанном” состоянии. Как отмечалось выше, в образце 2 предполагается наличие значительного количества замерзших РОВ. Можно предположить, что свободные формы ГВ в составе РОВ подвержены обратимой “криоагрегации” с участием карбоксильных групп. При этом наблюдать оптические свойства “криоагрегатов” удастся на примере потенциально водорастворимых фракций ГВ-S, С. Таким образом, исследование гуминовых фракций с помощью диаграммы $Ix_{254}/Ix_{305}-F_{eff}$ позволяет оценивать функциональные особенности анализируемого материала.

Из полученных экспериментальных данных следует, что диаграммы оптических параметров ГВ многолетнемерзлых отложений позволяют оценить специфику структурной организации законсервированных гуминовых фракций и масштабы происходящих в них изменений при оттаивании отложений. Возникает вопрос о применимости диаграмм оптических параметров к исследованию состояния ГВ других объектов. На рис. 5 приведены оптические параметры фракций ФК и ГК из воздушно-сухих образцов 1–3, а также

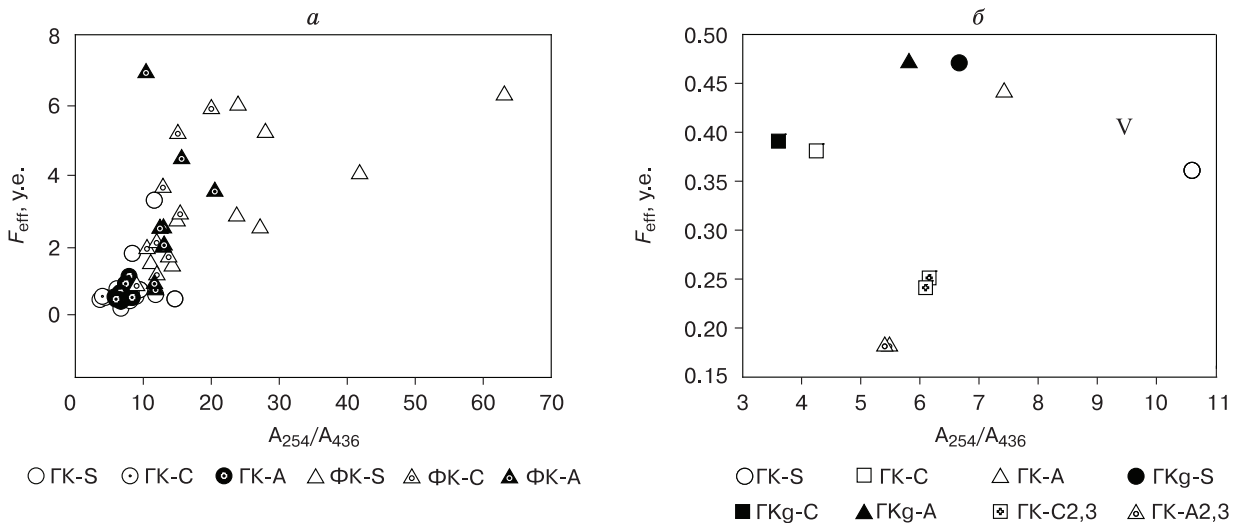


Рис. 5. Диаграммы оптических параметров в координатах A_{254}/A_{436} и F_{eff} .

а – фракции ГК и ФК из различных источников (многолетнемерзлые отложения, современные почвы, РОВ); б – фракции ГК различной степени очистки (ГК получены по описанной методике, GKg – те же после дополнительного центрифугирования; GK-C2,3 и GK-A2,3 – образцы, очищенные от минеральных (С2, А2), от минеральных и органических (С3, А3) примесей. V – область локализации гуминоподобной фракции (ГМп). Обозначения см. на рис. 1 и в тексте.

из описанных в [Ширшова и др., 2006, 2013, 2015; Shirshova et al., 2009] многолетнемерзлых отложений различного генезиса и возраста, современных и погребенной почв, водного происхождения. Данные из различных источников попадают в одни и те же области диаграммы, что позволяет говорить о пригодности последней для анализа состояния ГВ любых природных экосистем.

Предлагаемая методика имеет оценочный характер, получение абсолютных значений оптических параметров, четкое определение мест их локализации на диаграммах, равно как и подробный анализ выделяемых гуминовых фракций – задача специальных исследований. В качестве точки отсчета для химически зрелых форм может служить положение в поле диаграммы ГК, очищенных от минеральных и органических примесей, включая слабогумифицированные фрагменты (см. рис. 5, б). Для этих образцов отношение A_{254}/A_{436} не превышает 7, что можно принять за характеристическое значение для химически зрелых форм области I. Как видно на рис. 4, а и 5, а, в нижней части области I имеются “аномальные” фракции ГК с отношением A_{254}/A_{436} , близким к величине для ФК. Феномен “аномальных” ГК обсуждался в работе [Shirshova et al., 2009]. Было показано, что причиной является включение гуминового материала, который легко отделяется при дополнительном центрифугировании фракций ГВ и обогащен фрагментами биомолекул и (или) продуктами их трансформации. С учетом собственных и литературных данных осаждаемую при центрифугировании фракцию авторы определили как близкую к гумину (гуминоподобную, ГМп). Следует добавить, что углерод ГМп составляет значительную часть ($\geq 24\%$) углерода фракций ГВ из образцов многолетнемерзлых отложений и современной мерзлотной почвы. Накопление “аномальных” форм ГК отмечено также в полевом опыте по залужению старопахотной почвы [Ширшова и др., 2004]. Для наглядности с рис. 5, а на рис. 5, б для одного из образцов вынесены ГК-S, С, А из сырых фракций ГВ и ГКg-S, С, А, полученные после дополнительного центрифугирования последних. Параметры образцов ГКg вполне укладываются в область I, тогда как “аномальная” ГК, включающая ГМп, отнесена к области V. Отсутствие оптических параметров собственно ГМп на диаграмме объясняется сильной опалесценцией раствора изолированного материала ГМп с тенденцией к седиментации. Акцент на той или иной области диаграммы зависит от объекта исследования и поставленной задачи. Таким образом, предлагаемый способ представления результатов спектрального анализа ГВ в виде диаграммы оптических параметров может быть использован при исследовании состояния гуминового материала природных и антропогенных экосистем.

ВЫВОДЫ

Гуминовые фракции органического вещества многолетнемерзлых отложений выделены с помощью последовательной катионит-щелочной экстракции и изучены методами электронной спектроскопии (спектры поглощения, возбуждения и испускания флюоресценции). Для описания каждого вида спектров предложены количественные параметры, которые отражают структурные особенности исследуемого гуминового материала. Результаты спектрального анализа представлены в виде диаграмм оптических параметров, обеспечивающих суммирование получаемой информации. В поле диаграмм выделен ряд областей, включающих компоненты различной степени гумификации: от наиболее преобразованных химически зрелых до экстраслабогумифицированных. Показано, что основные различия между законсервированными в мерзлых породах гуминовыми веществами сосредоточены в области слабогумифицированных форм, оптические свойства которых меняются в процессе оттаивания отложений.

Диаграммы оптических параметров могут использоваться при мониторинге состояния гуминовых веществ мерзлых толщ.

Литература

- Кононова М.М. Органическое вещество почвы / М.М. Кононова. М., Наука, 1963, 314 с.
- Куницкий В.В. Криолитология низовьев Лены / В.В. Куницкий. Якутск, ИМЗ СО АН СССР, 1989, 162 с.
- Орлов Д.С. Гумусовые кислоты и общая теория гумификации / Д.С. Орлов. М., Изд-во Моск. ун-та, 1990, 325 с.
- Паркер С. Фотолуминесценция растворов / С. Паркер. М., Мир, 1972, 510 с.
- Полубесова Т.А., Ширшова Л.Т., Лефевр М., Романенков В.А. Влияние процессов промораживания–прогрева на химические свойства поверхностей почв и глин // Почвоведение, 1994, № 7, с. 72–78.
- Холодов А.Л., Ривкина Е.М., Гиличинский Д.А., Федоров-Давыдов Д.Г., Губин С.В., Сороковиков В.А., Остроумов В.Е., Максимович С.В. Оценка количества органического вещества, поступающего в арктический бассейн при термоабразии побережья морей Лаптевых и Восточно-Сибирского // Криосфера Земли, 2003, т. VII, № 3, с. 3–12.
- Ширшова Л.Т. Полидисперсность гумусовых веществ почв / Л.Т. Ширшова. М., Наука, 1991, 85 с.
- Ширшова Л.Т., Гиличинский Д.А., Остроумова Н.В., Ермолаев А.М. Применение методов оптической спектроскопии для исследования гуминовых веществ мерзлых толщ // Криосфера Земли, 2013, т. XVII, № 4, с. 94–104.
- Ширшова Л.Т., Гиличинский Д.А., Остроумова Н.В., Ермолаев А.М. Применение спектрофотометрии для определения содержания гуминовых веществ в многолетнемерзлых отложениях // Криосфера Земли, 2015, т. XIX, № 4, с. 107–113.
- Ширшова Л.Т., Ермолаева М.А. Состояние гуминовых веществ почв в водных растворах по результатам электрофореза и гель-хроматографии на сефадексах // Почвоведение, 2001, № 8, с. 955–962.

- Ширшова Л.Т., Ермолаев А.М.** Динамическая природа гумусовых веществ почв // Биogeография почв: Тез. Междунар. конф. Сыктывкар, 2002, с. 139–140.
- Ширшова Л.Т., Холодов А.Л., Ривкина Е.М.** Флуоресцентный анализ гуминовых фракций органического вещества многолетнемерзлых отложений: методические аспекты // Почвенные процессы и пространственно-временная организация почв. М., Наука, 2006, с. 284–294.
- Ширшова Л.Т., Хомутова Т.Э., Ермолаев А.М.** Исследование гуминовых веществ почвы методом флуоресцентной спектроскопии // Агрохимия, 2004, № 4, с. 78–85.
- Abbt-Braun G., Frimmel F.** Basic characterization of Norwegian NOM samples similarities and differences // Environ. Intern., 1999, vol. 25, iss. 2/3, p. 161–180.
- Birdwell J.E., Engel A.S.** Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV–Vis absorbance and fluorescence spectroscopy // Organic Geochemistry, 2010, vol. 41, iss. 3, p. 270–280.
- Bloom P.R., Leenheer J.A.** Vibrational, electronic, and high-energy spectroscopic methods for characterizing humic substances // Humic Substances II – In Search of Structure / M.H.B. Hayes, P. MacCarthy, R.L. Malcolm, R.S. Swift (eds.). Chichester, USA, Wiley, 1989, p. 409–446.
- Chen J., LeBoeuf E.J., Dai Sh., Gu B.** Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions // Chemosphere, 2003, vol. 50, iss. 5, p. 639–647.
- Del Vecchio R., Blough N.V.** On the origin of the optical properties of humic substances // Environ. Sci. Tech., 2004, vol. 38, iss. 14, p. 3885–3891.
- Domeizel M., Khalil A., Prudent P.** UV spectroscopy: a tool for monitoring humification and for proposing an index of the maturity of compost // Bioresource Technol., 2004, vol. 94, p. 177–184.
- Fellman J.B., D'Amore D.V., Hood E.** An evaluation of freezing as a preservation technique for analyzing dissolved organic C, N and P in surface water samples // Science Total Environ., 2008, vol. 392, No. 2–3, p. 305–312.
- Filippova E.M., Fadeev V.V., Chubarov V.V. et al.** Laser fluorescence spectroscopy as a method for studying humic substances // Appl. Spectroscopy Rev., 2001, vol. 36, p. 87–117.
- Fuentes M., Gonzalez-Gaitano G., Garcia-Mina J.M.** The usefulness of UV–visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts // Organic Geochemistry, 2006, vol. 37, iss. 12, p. 1949–1959.
- Gilichinsky D., Rivkina E., Bakermans C. et al.** Biodiversity of cryopegs in permafrost // FEMS Microbiol. Ecology, 2005, vol. 53 (1), p. 117–128.
- Gjessing E.T., Alberts J.J., Bruchet A. et al.** Multi-method characterization of natural organic matter isolated from water: characterization of reverse osmosis-isolates from water of two semi-identical dystrophic lakes basins in Norway // Water Res., 1998, vol. 32, No. 10, p. 3108–3124.
- Humic Substances in Soil, Sediment, and Water** / G.R. Aiken, D.M. McNight, R.L. Wershaw, P. MacCarthy (eds.). N.Y., USA, Wiley, 1985, 692 p.
- Humic Substances II – In Search of Structure** / M.H.B. Hayes, P. MacCarthy, R.L. Malcolm, R.S. Swift (eds.). Chichester, N.Y., USA, Wiley, 1989, 764 p.
- Korshin G.V., Li C.W., Benjamin M.M.** Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: a consistent theory // Water Res., 1997, vol. 31, No. 7, p. 1787–1795.
- MacCarthy P., Rice J.A.** Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances // Humic Substances in Soil, Sediment, and Water / G.R. Aiken, D.M. McNight, R.L. Wershaw, P. MacCarthy (eds.). N.Y., USA, Wiley, 1985, p. 527–559.
- Milori D.M.B.P., Martin-Neto L., Bayer C. et al.** Humification degree of soil humic acids determined by fluorescence spectroscopy // Soil Sci., 2002, vol. 167, No. 11, p. 739–749.
- Polubesova T.A., Shirshova L.T.** Exchangeable cations and composition of organic matter in soils as affected by acidification and freezing // Proc. of the Intern. Symp. on Physics, Chemistry and Ecology of Seasonally Frozen Soils. Fairbanks, USA, Univ. of Alaska, 1997, p. 384–390.
- Senesi N., Miano T.M., Provencano M.R., Brunetti G.** Characterization, differentiation and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy // Soil Sci., 1991, vol. 152, No. 4, p. 259–271.
- Shirshova L.T., Ghabbour E.A., Davies G.** Spectroscopic characterization of humic acid fractions isolated from soil using different extraction procedures // Geoderma, 2006, vol. 133, iss. 3–4, p. 204–216.
- Shirshova L.T., Kholodov A.L., Zolotareva B.N. et al.** Fluorescence spectroscopy studies of humic substance fractions isolated from permanently frozen sediments of Yakutian coastal lowlands // Geoderma, 2009, vol. 149, iss. 1–2, p. 116–123.
- Stevenson F.J.** Humic Chemistry: Genesis, Composition, Reactions: 2nd ed. / F.J. Stevenson. N.Y., USA, Wiley, 1994, 512 p.
- Swift R.S.** Macromolecular properties of soil humic substances: fact, fiction, and opinion // Soil Sci., 1999, vol. 164, No. 11, p. 790–802.

Поступила в редакцию
15 ноября 2015 г.