

**Элементный и фракционный состав гуминовых веществ
донных отложений озер таежной зоны Тюменской области**

к.т.н. доц. Шигабаева Г.Н.

Тюменский государственный университет

8 (3452) 46-80-24, sgn@utmn.ru

Аннотация. Данная работа посвящена определению фракционного и элементного состава и типа гуминовых веществ, выделенных из 9 образцов донных отложений озер таежной зоны Тюменской области. Фракционирование гуминовых веществ проводили пирофосфатным методом. Для определения содержания углерода, водорода, азота и кислорода использовали метод элементного анализа. Рассчитаны атомные соотношения Н:С, О:С и С:N. Преобладающим типом гумуса в изученных донных отложениях является гуматный, что свидетельствует о преимущественном протекании процесса гумификации органического вещества донных отложений по сравнению с минерализацией.

Ключевые слова: малые озера, гуминовые кислоты, фульвокислоты, донные отложения.

Введение

Гуминовые вещества (ГВ) – природные физиологически активные соединения. В последние годы отмечается интенсивный рост числа исследований в области химии гуминовых кислот (ГК) и фульвокислот (ФК). Это объясняется их исключительной ролью во многих геохимических, биологических и биохимических процессах. Гуминовые кислоты (ГК) – смесь кислых веществ биохимического превращения отмерших высших растений, извлекаемых водными щелочными растворами, представляют собой группу аморфных конденсированных поликарбоновых кислот, находящихся в виде свободных гуминовых кислот и солей (гуматов) кальция, магния, железа и т.д. Благодаря наличию в структуре ГК и ФК таких функциональных групп, как карбоксильные, фенольные гидроксилы, аминогруппы, карбонильные, эти соединения способны образовывать прочные комплексы с ионами тяжелых металлов. Таким образом, гуминовые вещества могут активно участвовать в сорбционных процессах [4, 6].

Примером экологической значимости может служить анализ функциональных групп ГК, связывающих различные вредные вещества, попадающих в почву, воду и донные отложения, и полученная таким образом возможность контролировать степень загрязненности объектов окружающей среды, содержащих ГК [9].

Исследования по изучению состава, строения и свойств гуминовых веществ являются довольно актуальными.

Объекты исследования и методы

Объектами исследования были гуминовые вещества, выделенные из проб донных отложений, отобранных экспедициями Тюменского государственного университета в рамках выполнения исследовательских работ по проекту «Качество вод в условиях антропогенных нагрузок и изменения климата в регионах Западной Сибири» (грант по Постановлению Правительства РФ № 220). Для работы были взяты 9 образцов донных отложений озер таежной зоны Тюменской области. Для выделения гуминовых веществ и разделения их на фракции использовали пирофосфатный метод [2]. Элементный состав, выделенных гуминовых кислот и фульвокислот, определяли методом элементного анализа с использованием анализатора CHN-1.

Извлечение гуминовых веществ из донных отложений проводилось смесью пирофосфата натрия (0.1 М) и гидроксида натрия (0.1 М) из воздушно-сухих образцов донных отложений (рН смеси около 13) при однократном перемешивании с последующим выдерживанием в течение 16 часов. После чего, раствор вместе с почвой тщательно перемешивали и по-

мешали на воронку с фильтром. Если раствор при фильтровании получался мутным, его снова переносили на фильтр. Когда начинал фильтроваться прозрачный раствор, его собирали в сухую приемную колбу. Остаток почвы на фильтре отбрасывали.

Таблица 1.

Данные по расположению озер

№ озер	Места отбора и координаты: северная широта / восточная долгота
1	ХМАО-Югра, Сургутский район, озеро без названия 61°27'52,6" / 71°42'13,2"
2	Советский район, озеро без названия 61°18'35,1" / 62°49'20,7"
3	Советский район, озеро Польтур 61°11'54,7" / 65°36'08,9"
4	Нижневартовский район, озеро без названия 60°51'50,4" / 78°05'41,5"
5	Нижневартовский район, озеро без названия 60°49'59,1" / 78°27'49,2"
6	Нижневартовский район, озеро без названия 61°33'38,1" / 79°26'19,1"
7	Нижневартовский район, озеро без названия 61°01'55,4" / 79°04'52,9"
8	Нижневартовский район, озеро без названия 61°25'48,5" / 79°39'59,2"
9	Нижневартовский район, озеро Белое 61°10'48,4" / 76°45'46,0"

Методика выделения гуминовых кислот заключалась в переводе их в нерастворимое состояние при взаимодействии с серной кислотой (0.1 н) за счет процесса коагуляции при нагревании. Образующийся осадок гуминовых кислот после промывания дистиллированной водой, растворяли на фильтре 3%-ным NH_4OH и фильтровали. Фильтрат помещали в фарфоровые чашки и выпаривали на водяной бане при 40°C досуха. Избыток аммиака улетучивался. После этого сухие препараты гуматов аммония осторожно снимали лезвием бритвы и помещали в стеклянные бюксы с притертой крышкой. Аммонийные соли собственно фульвокислот выделяли на хроматографических колонках с активированным углем промыванием последовательно 0.1н NaOH , смесью дистиллированной воды и ацетона (1:1), 0.1н HCl и дистиллированной водой до отсутствия реакции на хлорид-ион. Потом через колонку пропускали кислый раствор фульвокислот, оставшийся после извлечения гуминовых кислот. Фульвокислоты сорбировали на активированном угле. Необходимо было следить, чтобы проходящий через уголь фильтрат все время был бесцветным. Окрашенный фильтрат указывал на недостаточную емкость колонки. В этом случае необходимо было добавить дополнительную порцию активированного угля.

После пропускания всего объема раствора уголь промывали дистиллированной водой. В фильтрате и в промывной воде содержатся органические вещества неспецифической природы (аминокислоты, углеводы и другое), которые по Форситу образуют фракцию А. Затем колонку промывали смесью ацетона и дистиллированной воды, фильтрат собирали во вторую колбу. Промывание заканчивали после обесцвечивания раствора. Эта фракция, как и предыдущая содержит вещества неспецифической природы. Полученная фракция выделяется как фракция В по Форситу. В литературе ее иногда называют «водно-ацетоновой фракцией фульвокислот». Далее колонку промывали водой, потом 3%-ным раствором аммиака. Фильтрат собирали в отдельную колбу. Эта фракция представляла собой собственно фульвокислоты [2].

Для определения элементного состава в ГК и ФК использовали метод автоматического микроанализа, позволяющего определять содержание трех элементов из одной навески 1.5 – 2 мг. Процесс определения можно схематично разбить на три стадии: окислительный пиролиз образца при $950-1100^\circ\text{C}$, разделение продуктов пиролиза (CO_2 , H_2O и N_2) и их детектирование. Кислород определяли по разности между массой образца и суммарной массой всех других элементов, входящих в его состав: $\text{O} = 100\% - \text{X}(\% \text{C}, \% \text{H}, \% \text{N}, \dots, \%)$ [3].

Результаты и обсуждение

Данные элементного анализа и значения атомных соотношений приведены в таблице 2

Характеристики элементного состава гуминовых и фульвокислот, выделенных из донных отложений озер

Гуминовые кислоты											
Содержание элементов, % (масс)						Атомные соотношения					
озеро	C	H	O	N	S	O:C	H:C	C:N	C:H	C:O	ω
1	48.47	4.13	40.15	4.65	2.61	0.62	1.01	1.15	0.98	1.61	0.23
2	45.14	3.04	43.22	4.29	4.31	0.72	0.80	5.32	1.24	1.39	0.64
3	41.31	2.29	43.53	4.95	7.92	0.79	0.66	1.23	1.50	1.26	0.92
4	40.36	2.47	48.91	2.99	5.28	0.91	0.73	1.65	1.36	1.10	1.09
5	50.56	4.06	39.37	5.32	0.69	0.58	0.96	1.92	1.04	1.71	0.21
6	49.55	2,80	38.79	3.44	5.43	0.59	0.67	1.96	1.47	1.70	0.50
7	47.76	4,02	40.81	5.09	2.32	0.64	1.00	1.57	0.99	1.56	0.28
8	45.56	2.09	44.13	2.66	5.57	0.73	0.55	3.85	1.81	1.38	0.91
9	50.34	3.65	39.80	3.70	2.51	0.59	0.86	1.90	1.15	1.68	0.32
среднее	46.56	3.17	42.08	4.12	4.07	0.69	0.80	2.25	1.28	1.49	0.57

Фульвокислоты											
Содержание элементов, % (масс)						Атомные соотношения					
озеро	C	H	O	N	S	O:C	H:C	C:N	C:H	C:O	ω
1	13.35	4.25	59.63	13.59	9.18	3.35	0.26	1.15	0.96	0.30	2.88
2	31.12	4.05	45.73	6.82	12.29	1.10	0.64	5.32	1.12	0.91	0.64
3	14.87	4.27	59.16	14.16	7.53	2.99	0.29	1.22	0.97	0.33	2.52
4	16.89	3.95	61.04	11.93	6.19	2.71	0.36	1.65	1.02	0.37	2.62
5	17.43	3.50	61.85	10.60	6.62	2.66	0.41	1.92	1.45	0.38	2.92
6	17.55	3.53	62.14	10.47	6.31	2.66	0.41	1.95	1.26	0.38	2.90
7	16.53	4.04	59.45	12.28	7.70	2.70	0.34	1.57	1.41	0.37	2.46
8	19.21	2.40	68.61	5.82	3.96	2.68	0.67	3.85	1.27	0.37	3.86
9	16.50	3.45	63.70	10.13	6.22	2.90	0.40	1.90	1.31	0.35	3.29
сред	18.16	3.72	60.15	10.64	7.33	2.64	0.42	2.28	1.08	0.42	2.68

Данные элементного анализа показали, что в целом во всех образцах ГК содержание углерода больше (среднее содержание – 46.6%), чем для ФК. Для ФК – преимущественно большое содержание наблюдается для кислорода (среднее содержание – 60.2%). Следовательно, можно утверждать, что ФК содержат в своем составе больше окисленных функциональных групп.

Рассчитанные на основе элементного анализа, атомные отношения C:H, C:O, C:N показывают, какое количество атомов углерода приходится на один атом водорода, кислорода или азота. Видно, что для ГК на один атом C в среднем приходится по одному атому H и O и 2 атома N; для ФК – по один атом H, 2 атома N и 0.5 атома O. Отсюда следует, что роль атома углерода в построении молекул ГК более значительна, нежели для ФК.

В ГК, как и в ФК, значительная часть водорода замещена на кислородные атомы, и поэтому найденные при анализе величины H:C некорректно использовать в таком виде, а необходимо их исправить на содержание кислорода. Исправленное значение $(H:C)_{испр}$ с учетом кислородных функций в ГК можно рассчитать по формуле, приведенной в работе [8]:

$$(H:C)_{испр} = (H:C)_{исх} + 2 \cdot (O:C)_{исх} \cdot 0.67,$$

где $(H:C)_{исх}$ — отношение, найденное по результатам элементного анализа ГК; $2 \cdot (O:C) \cdot 0.67$ показывает число замещенных водородных атомов. Коэффициент 2 вводится потому, что один атом кислорода может замещать два атома водорода, как, например, при образовании карбонильной группы – C = O. Но поскольку для ГК характерны различные кислородные

функции, включая $>C-OH$ (здесь введение кислорода не меняет отношения $H:C$), то вводится дополнительный коэффициент 0.67, учитывающий распределение кислорода.

Отношения $(H:C)_{испр}$ и $(O:C)_{испр}$ показывают, сколько атомов H и O приходится в молекуле ГК (ФК) на один атом углерода. Для ГК отношение $(H:C)_{испр}$ составляет в среднем 1.7, что указывает на возрастание доли ароматических цепочек наряду с содержанием и алифатических фрагментов. Для ФК это отношение составляет 3.6, что говорит о содержании в основном алифатических фрагментов в составе молекул ФК. Чем больше замещено водородных атомов в результате образования связей $C-C$, чем меньше групп $-C-H$, $-CH_2-$, $-CH_3$, тем ниже отношение $H:C$.

Обогащенность гумуса азотом оценивают по атомному отношению $C:N$. Полученное слишком узкое отношение $C:N$, равное 2.28 для ФК и 2.25 для ГК, характеризует обедненность донных отложений гумусом и обусловлено высокой долей минеральных соединений азота.

Степень окисления гуминовых веществ рассчитывают по формуле (2) [5]:

$$\omega = \frac{2Q_O - Q_H}{Q_C}, \quad (2)$$

где: Q_O , Q_H , Q_C – число моль O , H , C на 100 г вещества.

Степень окисления органических веществ может изменяться от -4 (метан) до $+4$ (CO_2). Значения ω от $+4$ до 0 соответствуют окисленным соединениям, 0 – соединениям нулевой степени окисления, 0 – -4 – восстановленным соединениям. Для большинства гуминовых веществ почв степень окисления близка к нулевой, восстановленные формы присутствуют, как правило, в торфяниках, окисленные – в черноземах [5], [7].

Результаты расчета степени окисления гуминовых и фульвокислот донных отложений озер приведены в таблице 2. Рассчитанные значения указывают на преобладание окисленных форм как гуминовых так и фульвокислот. Гуминовые кислоты почв имеют степень окисления от $+0.2$ до $+1.1$, фульвокислоты более окислены, для них среднее значение степени окисления – $+2.7$ при варьировании от $+0.6$ до $+3.9$.

Таблица 3.

Процентное содержание гуминовых веществ в донных отложениях

№ пробы	Сгк	Сфк	Сгк:Сфк	Тип гумуса
1	48,47	13,35	3,6	гуматный
2	45,14	31,12	1,5	фульватно-гуматный
3	41,31	14,87	2,8	гуматный
4	40,36	16,89	2,4	гуматный
5	50,56	17,43	2,9	гуматный
6	49,55	17,55	2,8	гуматный
7	47,76	16,53	2,9	гуматный
8	45,56	19,21	2,4	гуматный
9	50,34	16,50	3,1	гуматный

Характерным для каждого типа почв является отношение углерода гуминовых кислот к углероду фульвокислот. В зависимости от этого соотношения гуминовых кислот и фульвокислот ($Сгк : Сфк$) выделяют следующие типы гумуса: гуматный > 2 , фульватно-гуматный $1-2$, гуматно-фульватный $-0.5-1$, фульватный $- <0.5$ [1], [6].

При наиболее благоприятных условиях гумусонакопления формируется гумус, обогащенный гуминовыми кислотами.

Низкие запасы гумуса связаны с тем, что в гумусе преобладают растворимые продукты гумификации (фульвокислоты и их соли — фульваты), которые вымываются осадками до грунтовых вод.

Преобладающим типом гумуса в донных отложениях изученных озер таежной зоны

Западной Сибири является гуматный, что свидетельствует о преимущественном протекании в них процессов гумификации органического вещества донных отложений.

Заключение

Среднее значение массовой доли С, Н, О, N, S составило: для гуминовых кислот – 46.56, 3.17, 42.08, 4.12, 4.07 масс.%; для фульвокислот – 18.16, 3.72, 60.15, 10.64, 7.33 масс.%, соответственно. Среднее значение (Н:С) гуминовых кислот составило 1.7 (варьирование от 1.5 до 2.0), что можно трактовать как сочетание ароматических и алифатических структур с преобладанием алифатических фрагментов. Для фульвокислот (Н:С) средняя величина оказалась равной 3.6 (варьирование от 2.1 до 4.8), что соответствует преобладанию насыщенных цепочек в структуре. Гуминовые кислоты почв имеют степень окисления от +0.2 до +1.1, фульвокислоты более окислены, для них среднее значение степени окисления составило +2.7 при варьировании от +0.6 до +3.9.

Преобладающим типом гумуса донных отложений является гуматный, что говорит о процессах гумификации органического вещества в изученных озерах.

Литература

1. Варшал Г.М., Велюханова Т.К., Кощеева И.Я. Геохимическая роль гумусовых кислот в миграции элементов. В сб. "Гуминовые вещества в биосфере". –М.: Наука, 1993, с.97– 116.
2. Зырин Н.Г., Орлов Д.С. Физико-химические методы исследования почв. –М.: МГУ, 1980.- 382 с.
3. Методы количественного органического элементного микроанализа. Под ред. Гельман Н.Э., –М.: Химия, 1987, 252 с.
4. Милановский Е.Ю. Гумусовые вещества почв как природные гидрофобно-гидрофильные соединения. –М.: Геос. 2009. 186 с.
5. Орлов Д.С. Химия почв. –М.: Изд-во МГУ, 1985 г. 376 с.
6. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. –М.: Изд-во МГУ, 1990, 325 с.
7. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв. –М.: Изд-во МГУ, 1974. 333с.
8. Перминова И.В., Жилин Д.М. Гуминовые вещества в контексте зеленой химии. В сб.: Зеленая химия в России. Под ред. В.В. Лунина, П. Тундо, Е.С. Локтевой. –М.: Изд-во МГУ, 2004, с.146 – 162.
9. Stevenson F.J. Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reactions. New-York: John Wiley & Sons, 1982, –443 p.

Оценка эффективности использования клеточной селекции при создании газонов, растущих в условиях повышенного содержания меди в окружающей среде

К.б.н. доц. Гладков Е.А.^{1,2,3}, д.б.н. проф. Долгих Ю.И.^{1,2}, ст. преп. Гладкова О.Н.², доц. Глушецкая Л.С.²

¹Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,

²Университет машиностроения,

³Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана
e-mail: gladkovu@mail.ru

Аннотация. Разработана технология получения газонной травы *Agrostis stolonifera*, устойчивой к меди. Получены растения полевицы, устойчивые к меди, показано сохранение устойчивости у большинства растений. Потомки четырех из пяти исследуемых регенерантов полевицы продемонстрировали повышенную толерантность к меди. Следовательно, показана эффективность использования клеточной селекции, устойчивость к отселектированному признаку сохраняется в