

УДК 631.417.2

МОЛЕКУЛЯРНО-МАССОВОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ МЕРЗЛОТНЫХ БУГРИСТЫХ ТОРФЯНИКОВ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ

Василевич Роман Сергеевич¹,
vasilevich.r.s@ib.komisc.ru

Вежов Кирилл Сергеевич¹,
vezhov@ib.komisc.ru

Лодыгин Евгений Дмитриевич¹,
lodigin@ib.komisc.ru

¹ Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук,
Россия, 167982, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28.

Актуальность исследования обуславливается полидисперсностью гуминовых кислот и их слабой изученностью в торфяных почвах криолитозоны.

Цель: изучение особенностей молекулярно-массового распределения гуминовых кислот почв бугристых торфяников.

Объекты: препараты гуминовых кислот, выделенные из двух типов почв мерзлотных бугристых болот – сухоторфяной мерзлотной почвы бугров, почвы оголённых торфяных пятен, на всю глубину торфяных отложений.

Методы: элементный состав, жидкостная гель-хроматография.

Результаты. Исследовано молекулярно-массовое распределение препаратов гуминовых кислот, выделенных из мерзлотных бугристых торфяников Европейского Северо-Востока России. Выявлены закономерности его изменения по профилю. Установлено, что содержание низкомолекулярной фракции преобладает над содержанием средне- и высокомолекулярной фракций гуминовых кислот торфяных почв. Профильное распределение среднечисловых молекулярных масс гуминовых кислот двух разрезов имеет бимодальный характер, с максимальными значениями в верхней и нижней частях профиля. Высокие значения в верхней части профиля связаны с наличием фрагментов длинных неразветвленных углеродных цепей, парафиновых структур и фрагментов олиго- и полисахаридов, что приводит к увеличению линейных размеров молекул гуминовых кислот. Дегградация парафиновых и углеводных фрагментов вниз по торфяному профилю обуславливает уменьшение молекулярных масс гуминовых кислот. Установлена корреляционная связь между мольным отношением $x(H):x(C)$ и мольной долей высокомолекулярной фракции гуминовых кислот. В нижней части профиля увеличение молекулярных масс обусловлено коагуляцией дисперсных гуминовых кислот на минеральной матрице торфа. На границе многолетнемерзлых пород криогенные процессы приводят к существенной трансформации структуры гуминовых кислот с отщеплением наименее конденсированных молекулярных фрагментов. Это имеет четкое отражение в уменьшении молекулярных масс и индекса полидисперсности гуминовых кислот.

Ключевые слова:

Тундровая зона, бугристые торфяники, гуминовые кислоты, молекулярно-массовое распределение, гель-хроматография.

Введение

Гуминовые кислоты (ГК) – гетерогенные смеси высокомолекулярных конденсированных веществ, сформированные из продуктов распада материалов растительного и животного происхождения в наземных и водных экосистемах [1, 2]. Полидисперсность ГК, их полифункциональный состав, связанные с их эволюцией в различных климатических зонах и локальными изменениями экологогенетических условий их формирования, обуславливают инструментальные проблемы их идентификации и аналитические сложности определения макроструктуры молекулярных ансамблей. Одним из основополагающих и дискуссионных остаётся вопрос о размерах их молекул.

Молекулярные массы (ММ), определяющие растворимость ГК, их способность к аккумуляции и миграции в природных средах, использование микроорганизмами и растениями в качестве источника питания, являются важнейшими характеристиками ГК. Изучение молекулярно-массового распределения (ММР) ГК актуально для анализа их роли в почвообразовательном процессе, интерпре-

тации их пространственной, структурной организации и экологических функций, взаимодействия с минеральными компонентами почв [3, 4]. Изменения в распределении молекулярных размеров полидисперсных макромолекул ГК часто происходят в ответ на изменения условий окружающей среды. Наиболее распространенным методом определения ММР является жидкостная гель-проникающая хроматография [5, 6]. Достоинством данного метода является возможность получения информации о полной кривой ММР ГК.

Существуют три гипотезы гумификации почвенного органического вещества (ПОВ). Согласно первой, при трансформации ПОВ в гумусовые кислоты осуществляется образование наиболее стабильного пула природных соединений. Эволюционный отбор в процессе гумификации сопровождается накоплением ароматических структур и сокращением алифатических фрагментов в составе гумусовых веществ, что ведет к увеличению линейных размеров их молекул и как следствие ММ [1, 7]. Компоненты высокомолекулярной фракции (ВМФ) ГК являются наиболее стабильными фраг-

ментами структуры агрегатов ГК. Эта фракция является наиболее гидрофобной фракцией и образована из термодинамически устойчивых ароматических и алифатических компонентов. В низкомолекулярной фракции (НМФ) сосредоточен углерод углеводных и аминокислотных фрагментов, а также алифатических цепочек. Исходя из второй гипотезы, при уменьшении линейного размера гуминовых кислот ароматичность их молекул заметно возрастает. В ВМФ ГК преобладают парафиновые фрагменты, фрагменты олиго- и полисахаридов, аминокислот и ацеталей [8]. Согласно третьей гипотезе, высокие ММ ГК – результат ассоциации или агрегации органических коллоидов. Экстракция препаратов сопровождается существенной трансформацией структурно-функциональных параметров ГК [5].

Цель представленной работы – изучение особенностей молекулярно-массового распределения гуминовых кислот почв бугристых торфяников.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования выбраны препараты ГК из двух мерзлотных торфяных почв бугристых болот, расположенных в Большеземельской тундре: разрез 2014–1 – сухоторфяная мерзлотная почва бугров (Hemic Follic Cryic Histosols), и разрез 2014–2 – почва оголённых торфяных пятен (Hemic Follic Cryic Histosols (Turbic)).

Данные почвы имеют широкое распространение в тундровой зоне (2,9 % площади Республики Коми), располагаясь на водораздельных пространствах и озёрно-аллювиальных комплексах Большеземельской тундры [9, 10]. Болотные почвы Арктики и Субарктики являются реликтовыми, возникшими в борреальный и атлантический периоды голоцена, при доминировании эвтрофного пути торфонакопления. Впоследствии массивы бугристых болот под действием термокарста, водной эрозии превращаются в типичные мочажинно-бугристые комплексы, изобилующие мелкими озёрами [11]. Протяжённость бугров от 5–10 м до нескольких десятков метров, высота колеблется от 0,2 до 5 м. Под действием криогенных и эрозионных процессов растительный покров на поверхности бугров часто деградирован.

Разрез 2014–1 – сухоторфяная мерзлотная почва бугров. Почва отобрана в 7 км к ЮЗ от ст. Сейда. Разрез заложен на плоском бугре, диаметром 12 м. В растительном покрове преобладают олиготрофные растительные сообщества: брусника, вороника, голубика, дикранум, карликовая березка, кладония, морошка, политрихум и сфагнум.

Разрез 2014–2 – почва оголённых торфяных пятен. Пятно без растительности, диаметром около 5 м в восточной части торфяного бугра. На поверхности диагностируется криогенное растрескивание и пучение верхнего горизонта, фрагменты коры карликовой березки. По периметру торфяного пятна растут зеленые мхи и лишайники. Вследствие ландшафтной близости данные почвы по фи-

зико-химическим характеристикам и ботаническому составу являются аналогами почвы разр. 2014–1, отличаясь только температурными характеристиками сезонно-талого слоя [12]. При отсутствии термоизолирующего мохового слоя они прогреваются интенсивнее в период метеорологического лета. И вследствие этого сезонно-талый слой (СТС) этих почв представлен органическим веществом с большей степенью гумификации [13].

Верхняя граница многолетнемерзлых пород исследованных почв в период календарного лета, в момент максимальной протайки, находится на глубине 40–60 см от дневной поверхности. Торф на всю глубину почвенного профиля тёмно-коричневый, средней и высокой степени разложения. Начальный этап торфонакопления территории относится к раннему атлантическому периоду и для большей части своего существования протекал в эвтрофных условиях во вне мерзлотных условиях с доминированием древесно-осоковых растительных сообществ. Позже, с накоплением торфяной толщи и более глубоким залеганием грунтовых вод относительно дневной поверхности, отмечена высокая доля олиготрофных и мезотрофных видов. С глубины 15–20 см в торфяной почве доминируют олиготрофные растительные сообщества: зеленые мхи и кустарнички [12]. Установление многолетней мерзлоты на данной территории произошло около 2100–2300 кал. л. н., когда происходило образование исследованных бугров, связанное с криогенными процессами пучения [14].

Отбор проб торфа произведен до глубины 2,0 м по ГОСТ 17644–83 и 11306–2013. Препараты ГК экстрагированы согласно процедуре, рекомендованной Международным обществом по изучению гумусовых веществ [15]. Количественный химический анализ элементного состава ГК выполнен на CHNSO-анализаторе EA 1110 (Carlo-Erba) в соответствии с аттестованными методиками в ЦКП «Хроматография» при Институте биологии. Значения массовой доли элементов в ГК рассчитаны с учетом гигроскопической влаги и зольности.

Количественный анализ ММР препаратов ГК выполнен на хроматографической системе АКТА-basic 10 UPS (Amersam Biosciences) с колонкой SuperdexTM 200 10/300 GL, объём аликвоты раствора ГК 0,10 см³, скорость элюирования 0,5 см³/мин., длина волны светофильтра 254 нм. Рабочую область колонки определяли с помощью растворов голубого декстрана и бихромата калия с концентрацией 1 мг/см³. В качестве элюента использовали Tris-HCl-буфер с pH=8,3 [16] с содержанием додецилсульфата натрия (0,1 %), азида натрия (0,02 %) и NaCl (0,05 моль/дм³). Обработку полученных хроматограмм и расчёт ММР фракций ГК проводили с помощью оригинальной программы Unicorn v. 5.10.

В отличие от индивидуальных органических соединений, которые характеризуются одним значением ММ, препараты ГК полидисперсны,

т. е. обладают набором ММ. Поэтому их описывают молекулярно-массовым распределением, на основании которого рассчитывают среднюю ММ. В зависимости от способа расчета усреднения используют три типа средних молекулярных масс: среднечисловую (M_n), средневесовую (M_w) и среднюю (M_z) [17–19].

Среднечисловая ММ – усреднение по числу молекул в биополимере:

$$M_n = \frac{\sum n_i M_i}{\sum n_i},$$

где n_i – число i -х молекул с молекулярной массой M_i .

Средневесовая ММ – усреднение по массе молекул в биополимере:

$$M_w = \frac{\sum n_i M_i^2}{\sum n_i M_i}.$$

Средняя ММ выражается уравнением:

$$M_z = \frac{\sum n_i M_i^3}{\sum n_i M_i^2}.$$

В монодисперсных системах все типы ММ численно равны, но в полидисперсных системах выполняется отношение:

$$M_z > M_w > M_n,$$

отношение M_w/M_n характеризует степень полидисперсности [19, 20].

Градуировку колонки проводили по глобулярным белкам, структура которых наиболее близка к структуре ГК, с заданными значениями молекулярных масс (рис. 1).

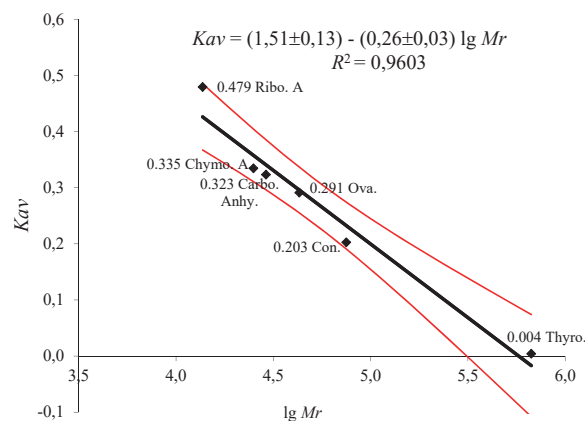


Рис. 1. Градуировочная зависимость коэффициента распределения (K_{av}) от логарифма молекулярной массы ($\lg Mr$) глобулярных белков. Коридор ошибок указан для $P=0,95$

Fig. 1. Graduated dependence of the distribution coefficient (K_{av}) on the logarithm of the molecular mass ($\lg Mr$) of globular proteins. The error corridor is specified for $P=0,95$

Результаты и обсуждение

Массовая доля углерода препаратов ГК, выделенных из почв оголенных торфяных пятен, составляет от 50,1 до 60,8 % и сухоторфяных мерзлотных почв бугров – 52,2–60,8 % (табл. 1). Соотно-

шение $x(H):x(C)$ – одна из важнейших характеристик ГК, отражающая степень бензоидности и устойчивости молекул ГК. Глубина гумификации органического вещества связана с периодом биологической активности почв [1]. Сухоторфяные почвы бугров имеют меньшие значения среднемесячных температур в период климатического лета по сравнению с аналогами без растительности [12]. Именно с этим связаны большие значения атомных отношений $x(H):x(C)$, что косвенно свидетельствует о низкой конденсированности молекул ГК из торфяных горизонтов до верхней границы многолетней мерзлоты. По представлениям ряда исследователей [21–23] образование криогенных пятен является современным процессом. Преобразование органического вещества СТС бугристых торфяников под влиянием биохимических процессов более активно протекает в торфяниках без растительного покрова и может служить модельной основой современного диагенеза болотных почв в условиях меняющегося климата.

Как видно из рис. 2, происходит накопление более конденсированных молекул в структуре ГК вниз по профилю, диагностируемое по отношению $x(H):x(C)$ для препаратов ГК из почв оголенных торфяных пятен с 1,05 до 0,82 и для сухоторфяных мерзлотных почв бугров с 1,16 до 0,90, что обусловлено эволюционным отбором термодинамически устойчивых структур и определяет высокую степень гумификации ПОВ в нижних слоях. Это связано с показателем степени разложения торфа, который возрастает вниз по профилю от 15–20 % для моховых видов торфа СТС до 30–40 % вахтово-осоковых и осоковых видов центральной части и до 35–50 % древесно-осокового и древесного торфа нижних слоев [12]. Установлена значимая корреляционная связь отношения $x(C):x(H)$ ГК со степенью разложения торфа ($r=0,52$, $n=118$, $r_{5\%}=0,47$).

Компоненты лигнина во многом определяют степень ароматичности ГК. Массовая доля лигнина в мхах и лишайниках колеблется от 8 до 10 %, что меньше, чем в кустарниковой и древесной (20–30 %) или травянистой (15–20 %) растительности [1]. Увеличение доли травянистой растительности с глубины 60 см и древесной растительности в нижних торфяных слоях обуславливает уменьшение атомного отношения $x(H):x(C)$ ГК по профилю [12].

На глубине 20–60 см почв оголенных торфяных пятен отмечается накопление конденсированных фрагментов ГК, обусловленное низкими показателями $x(H):x(C)$. Это может быть связано с динамическими процессами оттаивания–замерзания в многолетнемерзлых породах (ММП), приводящими к расщеплению молекул ГК и уменьшению содержания конденсированных структур [12]. Отсутствие мха, имеющего низкую теплопроводность, способствует большому градиенту температур в зимний период в почвах оголенных торфяных пятен.

Таблица 1. Элементный состав ГК

Table 1. Elemental composition of humic acids (HAs)

Горизонт/глубина, см Horizon/depth, cm	Массовая доля/Mass fraction, %				Мольные отношения ¹ /Molar ratios ¹			Степень окисленности, ω^2 Degree of oxidation, ω^2
	C	N	H	O	H:C	O:C	C:N	
Разрез 2014-1/Plot 2014-1								
T1 0-10	53,1±1,73	3,45±0,23	5,2±0,5	38,3±1,8	1,16±0,12	0,54±0,11	18,0±1,3	-0,08
T2 10-20	52,9±1,7	3,30±0,22	4,9±0,4	38,9±1,8	1,10±0,11	0,55±0,11	18,7±1,4	-0,00
T3 20-40	53,7±1,7	3,38±0,23	4,8±0,4	38,1±1,8	1,07±0,11	0,53±0,11	18,5±1,4	-0,00
T4 40-60	52,6±1,7	3,18±0,21	4,7±0,4	39,5±1,8	1,06±0,10	0,56±0,10	19,3±1,4	0,07
T5 60-80	52,2±1,7	2,98±0,20	4,3±0,4	40,6±1,7	0,98±0,10	0,58±0,10	20,4±1,5	0,19
T6 80-100	59,3±1,9	3,51±0,24	4,5±0,4	32,7±2,0	0,92±0,09	0,41±0,09	19,7±1,5	-0,09
T7 100-150	60,8±2,0	3,90±0,26	4,6±0,4	32,7±2,0	0,90±0,09	0,38±0,09	18,2±1,4	-0,15
T8 150-175	56,3±1,8	3,17±0,21	4,4±0,4	36,1±1,9	0,94±0,09	0,48±0,10	20,7±1,5	0,02
T9 175-200	55,8±1,8	3,44±0,23	4,5±0,4	36,2±1,9	0,98±0,10	0,49±0,10	18,9±1,4	-0,01
Разрез 2014-2/Plot 2014-2								
T _{криог} 0-5	54,1±1,7	3,48±0,23	4,7±0,4	37,7±1,8	1,05±0,10	0,52±0,10	18,1±1,3	-0,00
T1 5-20	52,0±1,7	3,15±0,21	4,4±0,4	40,5±1,7	1,01±0,10	0,59±0,10	19,2±1,4	0,16
T2 20-40	52,2±1,7	2,2±0,4	3,6±0,3	42,0±1,8	0,82±0,08	0,60±0,09	28,1±2,1	0,38
T3 40-60	50,1±1,6	2,2±0,4	3,5±0,3	44,2±1,7	0,83±0,08	0,66±0,09	26,7±2,0	0,49
T4 60-80	51,1±1,6	2,93±0,20	4,0±0,4	42,0±1,7	0,93±0,09	0,62±0,09	20,3±1,5	0,30
T5 80-100	60,8±2,0	3,78±0,25	4,7±0,4	30,7±2,0	0,93±0,09	0,38±0,09	18,8±1,4	-0,17
T6 100-150	60,6±1,9	3,64±0,24	4,6±0,4	31,2±2,0	0,91±0,09	0,39±0,09	19,4±1,4	-0,14
T7 150-175	57,1±1,8	3,63±0,24	4,4±0,4	34,9±1,9	0,92±0,09	0,46±0,09	18,4±1,4	0,00
T8 175-200	56,3±1,8	3,56±0,24	4,3±0,4	35,8±1,9	0,92±0,09	0,48±0,09	18,5±1,4	0,03

Примечания/Notes: ¹ H:C=x(H):x(C), O:C=x(O):x(C), C:N=x(C):x(N). ² $\omega=(2 \cdot x(O)-x(H)):x(C)$. ³ $\pm \Delta$ – границы интервала абсолютной погрешности при P=0,95/ denotes the absolute error limits at P=0,95.

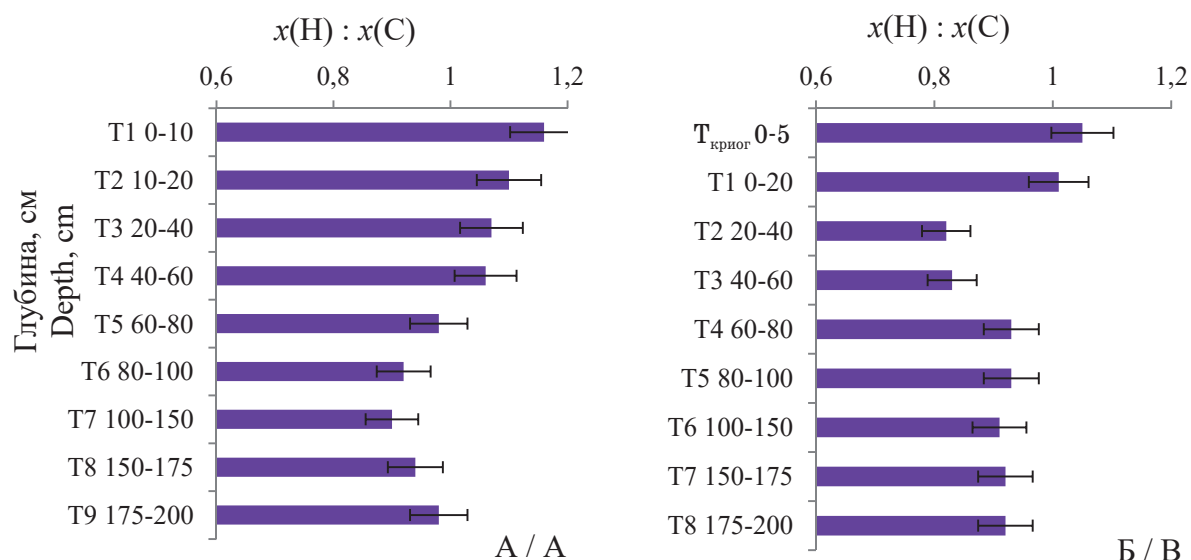


Рис. 2. Мольные отношения $x(H):x(C)$ в ГК из разрезов 2014-1 (А) и 2014-2 (Б)

Fig. 2. Molar ratios $x(H):x(C)$ in HAs from plots 2014-1 (A) and 2014-2 (B)

С глубины 80 см данные элементного состава ГК двух разрезов однотипны, что может свидетельствовать о реликтовости гумуса, который является продуктом диагенеза атлантического периода с более благоприятными по сравнению с современными климатическими условиями.

Анализ данных по содержанию кислорода и степени окисленности ГК из бугристых торфяников и ГК минеральных тундровых почв [24] выявил, что ГК торфяников представлены более редукционными молекулами, что связано с анаэробными условиями почвообразования.

Анализ полученных гель-хроматограмм ГК мерзлотных бугристых торфяников выявил наличие

трёх экстремумов, соответствующих трём фракциям ГК: высокомолекулярной (ВМФ/НМФ) 368–468 кДа (рис. 3, область а), среднемолекулярной (СМФ/ММФ) 14,6–22,0 кДа (рис. 3, область б) и низкомолекулярной (НМФ/ЛМФ) 1,1–1,6 кДа (рис. 3, область в).

В качестве образца для сравнения был выбран ГК подзолистого горизонта A2hg торфянисто-подзолистое поверхностно-оглеённой почвы [3], так как данный образец имеет четкое распределение хроматографических пиков на три фракции, что позволяет унифицировать процедуру разделения высоко-, средне- и низкомолекулярной фракций и проводить сравнительный анализ всех исследуемых препаратов ГК.

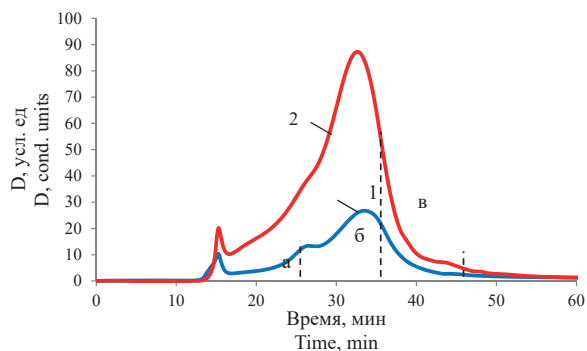


Рис. 3. Типичные гель-хроматограммы: 1 – ГК горизонта A2hg торфянисто-подзолистого поверхностно-оглеенной почвы (образец сравнения) [3]; 2 – ГК горизонта T_{кряг} (0–5 см) почв оголенных торфяных пятен

Fig. 3. Typical gel chromatograms: 1 – HAs from horizon A2hg of peaty-podzolic surface-gley soil (a reference sample) [3]; 2 – HAs horizon T_{кряг} (0–5 cm) of the soil from bare peat spots

В работе [20] было показано, что форма кривых гель-хроматограмм, а также положение максимума существенно зависит как от фракционного состава ГК, так и от их генезиса. Области на гель-хроматограммах, которые относятся к различным фракциям, имеют разные площади, свидетельствующие об их количественном содержании в образцах ГК. Кривые ММР всех исследованных ГК имеют интенсивный максимум в области низкомолекулярной фракции. Доля НМФ в ГК торфяных почв преобладает и составляет от 64,5 до 82,6 % и статистически достоверно превышает долю СМФ (16,7–32,9 %) и ВМФ (0,8–3,8 %) в составе ГК (табл. 2).

Таблица 2. Молекулярно-массовое распределение ГК

Table 2. Molecular mass distribution of HAs

Горизонт/ глубина, см Horizon/ depth, cm	ВМФ/НМФ				СМФ/ММФ				НМФ/ЛМФ				Mn, кДа, кДа	S	Mw, кДа, кДа	S	Mz, кДа, кДа	S	Mw/ Mn
	Mr, кДа, кДа	S'	Мольная доля Molar fraction, %		Mr, кДа, кДа	S	Мольная доля Molar fraction, %		Mr, кДа, кДа	S	Мольная доля Molar fraction, %								
			x	S			x	S			x	S							
Разрез 2014-1/Plot 2014-1																			
T1 0-10	418	3	3,65	0,17	20,2	0,3	28,2	0,26	1,19	0,00	68,1	0,4	21,8	0,7	298,2	0,4	411	3	13,7
T2 10-20	408	4	3,0	0,3	19,7	0,6	27,2	0,4	1,19	0,01	69,8	0,7	18,5	1,7	277	10	400	4	15,0
T3 20-40	403,6	1,0	1,82	0,14	17,6	0,5	23,07	0,16	1,10	0,03	75,1	0,3	12,2	0,7	248	4	394,3	0,9	20,3
T4 40-60	389	5	1,21	0,06	16,32	0,00	22,77	0,18	1,18	0,03	76,02	0,24	9,3	0,3	203	7	378	5	21,8
T5 60-80	391,1	2,9	0,83	0,00	15,52	0,04	21,39	0,08	1,26	0,00	77,78	0,08	7,55	0,02	175,6	2,8	376,171	3,180	23,2
T6 80-100	367,97	0,00	0,96	0,04	16,04	0,24	19,20	0,11	1,05	0,01	79,88	0,15	7,44	0,20	181,3	2,7	354,859	0,112	24,4
T7 100-150	370	4	1,44	0,18	18,0	0,4	20	7	1,18	0,02	79	7	9,9	0,6	210	30	359,022	1,161	21,1
T8 150-175	372,5	0,9	1,69	0,06	18,73	0,14	28,58	0,28	1,31	0,01	69,7	0,3	12,6	0,3	194,8	1,1	357,809	0,807	15,5
T9 175-200	376	8	2,28	0,05	20,2	0,7	32,9	0,9	1,45	0,14	64,8	1,0	16,1	0,4	208	8	362,109	9,479	12,9
Разрез 2014-2/Plot 2014-2																			
Tкрюг 0-5	440	15	3,80	0,11	20,4	0,5	27,46	0,22	1,20	0,06	68,75	0,11	23,07	0,05	322	12	430	20	14,0
T1 5-20	400	4	3,60	0,21	22,0	0,3	30,01	0,22	1,27	0,00	66,4	0,4	21,78	1,13	270	7	391	4	12,4
T2 20-40	386	4	2,7	0,2	20,3	0,6	29,05	0,10	1,27	0,04	68,2	0,3	17,2	0,8	241,8	1,5	376	4	14,0
T3 40-60	467,9	2,3	0,75	0,03	14,55	0,21	16,70	0,06	1,20	0,04	82,56	0,10	6,91	0,20	242	7	458,1	2,5	35,0
T4 60-80	379,0	2,8	1,45	0,08	17,68	0,26	25,50	0,20	1,27	0,03	73,04	0,12	10,94	0,26	198,0	2,9	365,5	2,4	18,1
T5 80-100	383,68	0,00	1,28	0,13	17,4	0,5	23,8	0,4	1,18	0,01	74,9	0,6	9,9	0,7	197	7	370,0	0,4	19,8
T6 100-150	390,4	1,9	1,67	0,09	17,5	0,3	25,00	0,17	1,25	0,04	73,33	0,08	11,8	0,4	222	3	379,4	1,8	18,8
T7 150-175	390	5	2,90	0,18	20,3	0,8	32,6	0,4	1,57	0,09	64,51	0,20	18,9	0,7	239,6	0,4	379	5	12,7
T8 175-200	364	4	1,02	0,00	17,2	0,5	25,05	0,02	1,24	0,08	73,93	0,02	8,95	0,02	159,8	2,8	346	5	17,9

¹ – Стандартное отклонение/Standard deviation.

Полученные значения среднечисловых молекулярных масс исследованных препаратов ГК сопоставимы с данными литературы [1, 20] и имеют значительную вариацию (от 6,9 до 23,1 кДа) по профилю. Распределение среднечисловых молекулярных масс ГК двух разрезов имеет бимодальный характер, с максимальными значениями в верхней и нижней частях профиля (рис. 4, табл. 2). Наибольшие среднечисловые молекулярные массы ГК (Mn 21,8–23,1 кДа) приурочены к верхним горизонтам СТС, за счёт большего вклада высоко- и среднемoleкулярных фракций (табл. 2).

По данным ¹³C ЯМР-спектроскопии [13] образцы ГК из верхних горизонтов СТС характеризуются наибольшей долей неокисленных алифатических и углеводных фрагментов, что обуславливает значительные линейные размеры молекул (стоксовских радиусов) за счёт длинных неразветвленных углеродных цепей парафиновых фрагментов, олиго- и полисахаридных остатков. Это положение подтверждается значимой корреляцией отношения x(H):x(C) с мольной долей высокомолекулярной фракции (r=0,50, r_{5%}=0,46, n=18, P=0,95), а также значимой корреляцией степени разложения торфа с массовой долей среднемoleкулярной фракции (r=0,58). Аналогичные закономерности взаимосвязи высокомолекулярной фракции с содержанием алифатических фрагментов получены для минеральных почв тундровой зоны Республики Коми [25].

Увеличение степени разложения торфа вниз по профилю почв в пределах СТС (до глубины 40–60 см) и связанная с этим большая гумифика-

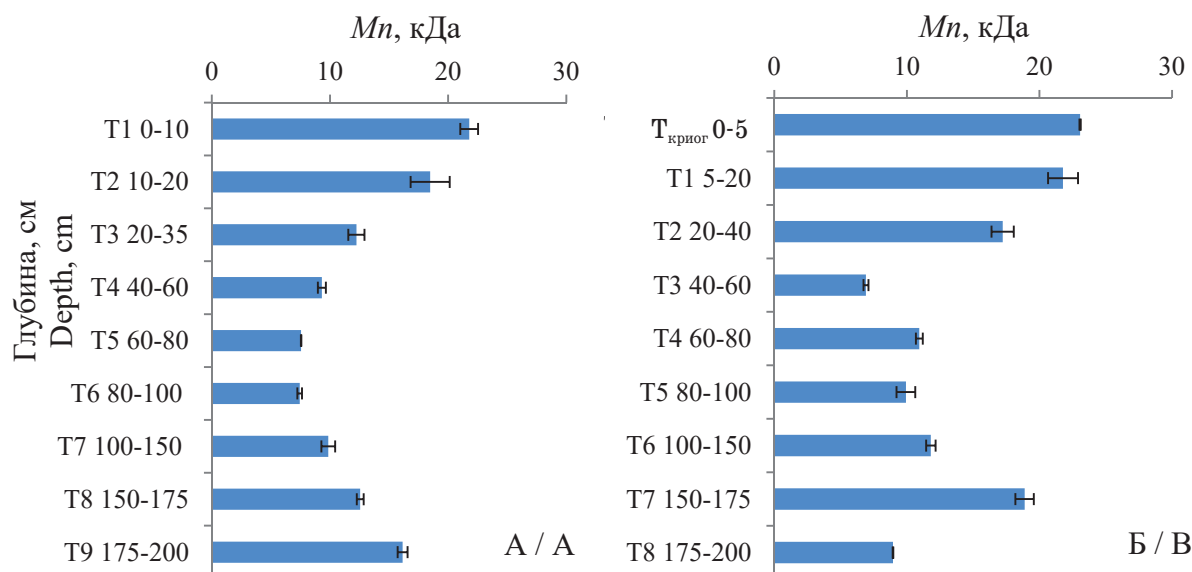


Рис. 4. Среднечисловые молекулярные массы ГК разрезов 2014–1 (А) и 2014–2 (Б)

Fig. 4. Number average molecular weight of the HAs of the plots 2014–1 (A) and 2014–2 (B)

ция органического материала определяют плановое уменьшение Mn ГК. Это обуславливает трансформацию неразветвленных длинноцепочечных алифатических структур в составе ГК до цепочек структур с небольшим числом атомов углерода (согласно ^{13}C -ЯМР спектроскопии), а также уменьшение доли парафиновых и углеводных фрагментов в ГК из верхней части СТС [13].

Анализ ММР ГК из многолетнемерзлых пород характеризуется уменьшением среднечисловых ММ ГК (6,9–13,3 кДа) преимущественно за счёт уменьшения доли высокомолекулярной фракции от 3,8 % в СТС до 0,8 % в ММП. Особенно интенсивно её изменение на границе ММП. Минимальное значение среднечисловой молекулярной массы ГК (6,9 кДа) на границе ММП почв оголенных торфяных пятен (40–60 см) может быть обусловлено динамическими процессами оттаивания и замерзания за счёт расклинивающего действия плёнок воды, приводящих к трансформации крупных молекулярных структур с понижением молекулярных масс. Этим горизонтант соответствуют ГК с большей степенью ароматичности молекул, по данным ^{13}C ЯМР-спектроскопии, и меньшей долей неокисленных алифатических фрагментов. Также это может быть связано с изменением ботанического состава торфа. Важно отметить, что с глубины 100–150 см наблюдается постепенное увеличение зольности образцов торфяных почв с 40 до 90 % в органоминеральных горизонтах нижней части профиля [12]. Увеличение среднечисловой ММ ГК в многолетнемерзлой толще, вероятно, обусловлено коагуляцией ГК на минеральной матрице торфяных отложений с образованием высокомолекулярных ГК.

Полидисперсность – количественная характеристика степени отклонения ММР от монодисперсного, состоящего из молекул одной величины. Полидис-

персность является следствием случайного характера реакций образования биополимера, а в некоторых случаях и следствием разрушения или соединения макромолекул. Индекс полидисперсности Mw/Mn ГК имеет некоторый тренд на увеличение в центральной части профиля с максимальным значением для образца ГК на границе ММП почв оголенных торфяных пятен (40–60 см), диагностирующий резкое увеличение дисперсности ГК (табл. 2). Этому горизонту соответствует препарат ГК с наиболее широким спектром молекулярных масс. Средневесовая ММ ГК больше среднечисловой, так как наличие значительного количества более низкомолекулярных частиц в исследуемой фракции полимера приводит к существенному снижению среднечисловой ММ.

Закключение

Таким образом, проведен анализ молекулярно-массового распределения гуминовых кислот, выделенных из почв бугристых торфяников. Показано, что содержание низкомолекулярных фракций гуминовых кислот превалирует и значимо превышает долю средне- и высокомолекулярных фракций. Максимальные среднечисловые молекулярные массы гуминовых кислот приурочены к верхним горизонтам сезонно-талого слоя, за счёт вклада средне- и высокомолекулярных фракций. Наибольшей полидисперсностью обладают гуминовые кислоты, приходящиеся на границу многолетнемерзлых пород, что обусловлено динамическими криогенными процессами замерзания–оттаивания. Полученные результаты молекулярно-массового распределения гуминовых кислот исследованных бугристых болот в большей степени соответствуют гипотезе О.А. Трубецкого [8], согласно которой ВМФ ГК состоят в основном из разветвленных алифатических цепочек с преобладанием

аминокислотных, спиртовых, алкильных и углеводных фрагментов, а в НМФ ГК в большей степени находятся ароматические структуры.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-05-60195 (№ ЦИТус АААА-А18-118062090029-0).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Orlov D.S. Humic substances of soils and general theory of humification. – London: Taylor & Francis, 1995. – 266 p.
2. Wershaw R.L. The study of humic substances – in search of a paradigm / Humic substances. Versatile components of plants, soils and water. – Sawston: Woodhead Publishing. 2000. – P. 1–7. – DOI: 10.1016/B978-1-85573-807-2.50005-9.
3. Лодыгин Е.Д., Безносиков В.А., Василевич Р.С. Изучение полидисперсности гумусовых веществ методом гель-хроматографии // Доклады Россельхозакадемии. – 2012. – № 4. – С. 24–27. – DOI: 10.3103/S1068367412040118.
4. Трубецкой О.А., Трубецкая О.Е. Трехмерный флуоресцентный анализ почвенных гуминовых кислот чернозема и их электрофоретических фракций // Почвоведение. – 2017. – № 9. – С. 1057–1064. DOI: 10.7868/S0032180X17090088.
5. Piccolo A., Conte P., Cozzolino A. Differences in high performance size exclusion chromatography between humic substances and macromolecular polymers / Humic substances. Versatile components of plants, soils and water. – Sawston: Woodhead Publishing. 2000. – P. 111–124. DOI: 10.1016/B978-1-85573-807-2.50013-8.
6. Molecular Size Distribution of Fluorophores in Aquatic Natural Organic Matter: Application of HPSEC with Multi-Wavelength Absorption and Fluorescence Detection Following LPSEC-PAGE Fractionation / O.A. Trubetskoy, C. Richard, G. Vyard, V.V. Marchenkov, O.E. Trubetskaya // Environ. Sci. Technol. – 2018. – V. 52. – P. 5287–5295. DOI: 10.1021/acs.est.7b03924.
7. Schnitzer M. Humic substances: chemistry and reactions / Developments in Soil Science. – 1978. – V. 8. – P. 1–64.
8. Трубецкой О.А., Трубецкая О.Е. ¹³C-ЯМР анализ компонентов гуминовой кислоты чернозема и ее фракций различного молекулярного размера и электрофоретической подвижности // Почвоведение. – 2011. – № 3. – С. 311–316.
9. Атлас почв Республики Коми / под ред. Г.В. Добровольского, А.И. Таскаева, И.В. Забоевой. – Сыктывкар: ООО «Коми республиканская типография», 2010. – 356 с.
10. Каверин Д.А., Пастухов А.В. Генетическая характеристика мерзлотных оголенных пятен на плоскобугристых торфяниках Большеземельской тундры // Известия Самарского научного центра РАН. – 2013. – Т. 15. – № 3. – С. 55–62.
11. Пьявченко Н.И. Бугристые торфяники. – М.: Изд-во АН СССР, 1955. – 278 с.
12. Василевич Р.С., Безносиков В.А. Влияние изменения климата в голоцене на профильное распределение гумусовых веществ бугристых торфяников лесотундры // Почвоведение. – 2017. – № 11. – С. 1312–1324. DOI: 10.7868/S0032180X17090106.
13. Molecular composition of raw peat and humic substances from permafrost peat soils of European Northeast Russia as climate change markers / R. Vasilevich, E. Lodygin, V. Beznosikov, E. Abakumov // Science of the Total Environment. – 2018. – V. 615. – P. 1229–1238. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.053.
14. Multi-proxy study of soil organic matter dynamics in permafrost peat deposits reveal vulnerability to climate change in the European Russian Arctic / J. Routh, G. Hugelius, P. Kuhryb, T. Filley, P.K. Tillman, M. Becher, P. Crill // Chemical Geology. – 2014. – V. 368. – P. 104–117. DOI: 10.1016/j.chemgeo.2013.12.022.
15. Swift R.S. Methods of soil analysis // Soil Sci. Soc. Amer. – 1996. – V. 3. – P. 1018–1020.
16. Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс. – М.: Мир, 1991. – 544 с.
17. Swift R.S. Molecular weight, size, shape and charge characteristics of humic substances: Some basic considerations // Humic substances II: In search of structure / Eds. M.H.B. Hayes, P. MacCarthy, R.L. Malcolm, R.S. Swift. – N.-Y.: John Wiley and Sons, 1989. – P. 449–465.
18. Орлов Д.С. Химия почв. – М.: Изд-во Московского государственного университета, 1992. – 259 с.
19. Striegel A.M. Size-exclusion chromatography / In Liquid Chromatography. 2nd ed. / Eds. S. Fanali, P.R. Haddad, C.F. Poole, M.-L. Riekkola – Amsterdam: Elsevier, 2017. – P. 245–273. DOI: 10.1016/B978-0-12-805393-5.00010-5.
20. Куликова Н.А., Перминова И.В., Кудрявцев А.В. Сравнительная характеристика молекулярно-массового распределения водорастворимых гуминовых веществ, гуминовых и фульвокислот дерново-подзолистых почв // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение. – 2010. – № 4. – С. 20–23.
21. Oksanen P.O., Kuhry P., Alekseeva R.N. Holocene development of the Rogovaya River peat plateau, East-European Russian Arctic // The Holocene. – 2001. – V. 11. – № 1. – P. 25–40. DOI: 10.1191/095968301675477157.
22. Oksanen P.O., Kuhry P., Alekseeva R.N. Holocene development and permafrost history of the Usinsk mire, northeast European Russia // Geographie Physique et Quaternaire. – 2003. – V. 57. – № 2–3. – P. 169–187. DOI: 10.7202/011312ar.
23. Zuidhoff F.S. Palsa Growth and Decay in Northern Sweden, Climatic and environmental controls // Comprehensive summaries of Uppsala dissertations from the faculty of science and technology. – Uppsala: Acta universitatis upsaliensis, 2003. – 30 p.
24. Lodygin E., Beznosikov V., Abakumov E. Humic substances elemental composition of selected taiga and tundra soils from Russian European North-East // Polish Polar Research. – 2017. – V. 38. – № 2. – P. 125–147. DOI: 10.1515/popore-2017-0007.
25. Василевич Р.С., Лодыгин Е.Д., Безносиков В.А. Молекулярно-массовое распределение гумусовых веществ экстрагированных из тундровых почв европейского северо-востока России // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 3: Биология. – 2015. – № 4. – С. 103–111.

Поступила: 24.01.2019 г.

Информация об авторах

Василевич Р.С., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела почвоведения Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук.

Вежов К.С., инженер-исследователь отдела почвоведения Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук.

Лодыгин Е.Д., доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела почвоведения Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук.

UDC 631.417.2

MOLECULAR-MASS DISTRIBUTION OF HUMIC ACIDS OF PERMAFROST PEAT MOUNDS FROM THE EUROPEAN NORTH-EAST OF RUSSIA

Roman S. Vasilevich¹,
vasilevich.r.s@ib.komisc.ru

Kirill S. Vezhov¹,
vezhov@ib.komisc.ru

Evgeny D. Lodygin¹,
lodygin@ib.komisc.ru

¹ Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences,
28, Kommunisticheskaya street, Syktyvkar, 167982, Russia.

The relevance of the research is caused by the polydispersity of humic acids and their insufficient study in peat soils of cryolithozone.

The main aim of the research is to study the molecular mass distribution of humic acids in soils of mounds peatlands.

Objects of the research are humic acid preparations isolated from two permafrost peats – from dry cryogenic soil of mounds (Hemic Follic Cryic Histosols) and soil from bare peat spots (Hemic Follic Cryic Histosols (Turbic)), over the entire depth of peat deposits.

Methods: elemental composition, liquid gel chromatography.

Results. The authors have studied the molecular-mass distribution of humic acid preparations isolated from the hilly peatlands of the European North-East of Russia. The patterns of its changes along the profile are revealed. It was shown that the proportion of the low molecular weight fraction of humic acids in peat dominates and statistically significantly exceeds the mass fractions of the middle and high molecular weight fractions. The profile distribution of the number average molecular weights of humic acids of the two plots has a bimodal character, with maximum values in the upper and lower parts of the profile. High values in the upper part of the profile are associated with the presence of long unbranched carbon chains of paraffin fragments and fragments of oligo- and polysaccharides, leading to increase in the linear dimensions of humic acid molecules. The degradation of paraffin and carbohydrate fragments down the peat profile, leads to decrease in molecular weights of humic acids. The correlation dependences between the ratio $x(H):x(C)$ and high molecular weight fractions of humic acids were established. The increase in molecular weights in the lower part of the profile is caused by coagulation of dispersed humic acids on peat mineral matrix. Cryogenic processes on the border of permafrost lead to significant transformation of humic acid structure with splitting off the least condensed molecular fragments. This is clearly reflected in decrease of molecular weights and polydispersity index of humic acids.

Key words:

Tundra zone, peat mounds, humic acids, molecular weight distribution, gel chromatography.

The research was financially supported by the RFBR within the scientific project no. 18-05-60195 (no. TsITiS AAAA-A18-118062090029-0).

REFERENCES

- Orlov D.S. *Humic substances of soils and general theory of humification*. London, Taylor & Francis, 1995. 266 p.
- Wershaw R.L. The study of humic substances – in search of a paradigm. *Humic substances. Versatile components of plants, soils and water*. Sawston, Woodhead Publishing, 2000. pp. 1–7. DOI: 10.1016/B978-1-85573-807-2.50005-9.
- Lodygin E.D., Beznosikov V.A., Vasilevich R.S. Study of polydispersity of humic substances by the gel chromatography method. *Russian Agricultural Sciences*, 2012, vol. 38, no. 4, pp. 293–296. DOI: 10.3103/S1068367412040118.
- Trubetskoi O.A., Trubetskaya O.E. Three-dimensional fluorescence analysis of chernozem humic acids and their electrophoretic fractions. *Eurasian Soil Science*, 2017, vol. 50, no. 9, pp. 1018–1024. DOI: 10.1134/S1064229317090083.
- Piccolo A., Conte P., Cozzolino A. Differences in high performance size exclusion chromatography between humic substances and macromolecular polymers. *Humic substances. Versatile components of plants, soils and water*. Sawston, Woodhead Publishing, 2000, pp. 111–124. DOI: 10.1016/B978-1-85573-807-2.50013-8.
- Trubetskoi O.A., Richard C., Voyard G., Marchenkov V.V., Trubetskaya O.E. Molecular Size Distribution of Fluorophores in Aquatic Natural Organic Matter: Application of HPSEC with Multi-Wavelength Absorption and Fluorescence Detection Following LPSEC-PAGE Fractionation. *Environ. Sci. Technol.*, 2018, vol. 52, pp. 5287–5295. DOI: 10.1021/acs.est.7b03924.
- Schnitzer M. Humic substances: chemistry and reactions. *Developments in Soil Science*, 1978, vol. 8, pp. 1–64.
- Trubetskoi O.A., Trubetskaya O.E. ¹³C-NMR analysis of components of chernozem humic acids and their fractions with different molecular sizes and electrophoretic mobilities. *Eurasian Soil Science*, 2011, vol. 44, no. 3, pp. 281–285. DOI: 10.1134/S1064229311030148.
- Atlas pochv Respubliki Komi* [Soil Atlas of the Komi Republic]. Eds. G.V. Dobrovolsky, A.I. Taskaev, I.V. Zaboeva. Syktyvkar, LC «Komi Republic Publishing House», 2010. 356 p.
- Kaverin D.A., Pastukhov A.V. Geneticheskaya kharakteristika merzlotnykh ogolennykh pyaten na ploskobugristykh torfyanikakh Bolshezemelskoy tundry [Genetic characteristics of permafrost-affected soils formed in bare circles of peat plateaus in Bolshezemelskaya tundra]. *Izvestiya Samarского nauchnogo tsentra RAN*, 2013, vol. 15, no 3, pp. 55–62. In Rus.
- Pyavchenko N.I. *Bugristye torfyaniky* [Hummocky peat bogs]. Moscow, AS USSR Publ., 1955. 278 p.
- Vasilevich R.S., Beznosikov V.A. Effect of climate changes in the Holocene on the distribution of humic substances in the profile of forest-tundra peat mounds. *Eurasian Soil Science*, 2017, vol. 50, no. 11, pp. 1271–1282. DOI: 10.1134/S1064229317090101.

13. Vasilevich R., Lodygin E., Beznosikov V., Abakumov E. Molecular composition of raw peat and humic substances from permafrost peat soils of European Northeast Russia as climate change markers. *Science of the Total Environment*, 2018, vol. 615, pp. 1229–1238. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.053.
14. Routh J., Hugelius G., Kuhryb P., Filley T., Tillman P.K., Becher M., Crill P. Multi-proxy study of soil organic matter dynamics in permafrost peat deposits reveal vulnerability to climate change in the European Russian Arctic. *Chemical Geology*, 2014, vol. 368, pp. 104–117. DOI: 10.1016/j.chemgeo.2013.12.022.
15. Swift R.S. Methods of soil analysis. *Soil Sci. Soc. Amer.*, 1996, vol. 3, pp. 1018–1020.
16. Doson R., Alliot D., Alliot U., Jons K. *Spravochnik biokhimiya* [Biochemistry handbook]. Moscow, Mir Publ., 1991. 544 p.
17. Swift R.S. Molecular weight, size, shape and charge characteristics of humic substances: Some basic considerations. *Humic substances II: In search of structure*. Eds. M.H.B. Hayes, P. MacCarthy, R.L. Malcolm, R.S. Swift. N.-Y., John Wiley and Sons, 1989. pp. 449–465.
18. Orlov D.S. *Khimiya pochv* [Chemistry of soils]. Moscow, Moscow State University Publ. House, 1992. 259 p.
19. Striegel A.M. Size-exclusion chromatography. *Liquid Chromatography*. 2nd ed. Eds. S. Fanali, P.R. Haddad, C.F. Poole, M.-L. Riekkola. Amsterdam: Elsevier, 2017. pp. 245–273. DOI: 10.1016/B978-0-12-805393-5.00010-5.
20. Kulikova N.A., Perminova I.V., Kudryavtsev A.V. Sravnitel'naya kharakteristika molekulyarno-massovogo raspredeleniya vodorstvorimyykh guminovykh veshchestv, guminovykh i fulvokislot dornovo-podzolistykh pochv [Comparative characteristics of the molecular mass distribution of water-soluble humic substances, humic and fulvic acids of sod-podzolic soils]. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 17: Pochvovedenie*, 2010, no. 4, pp. 20–23.
21. Oksanen P.O., Kuhry P., Alekseeva R.N. Holocene development of the Rogovaya River peat plateau, East-European Russian Arctic. *The Holocene*, 2001, vol. 11, no. 1, pp. 25–40. DOI: 10.1191/095968301675477157.
22. Oksanen P.O., Kuhry P., Alekseeva R.N. Holocene development and permafrost history of the Usinsk mire, northeast European Russia. *Geographie Physique et Quaternaire*, 2003, vol. 57, no 2–3, pp. 169–187. DOI: 10.7202/011312ar.
23. Zuidhoff F.S. Palsa Growth and Decay in Northern Sweden, Climatic and environmental controls. *Comprehensive summaries of Uppsala dissertations from the faculty of science and technology*. Uppsala, Acta universitatis upsaliensis, 2003. 30 p.
24. Lodygin E., Beznosikov V., Abakumov E. Humic substances elemental composition of selected taiga and tundra soils from Russian European North-East. *Polish Polar Research*, 2017, vol. 38, no. 2, pp. 125–147. DOI: 10.1515/popore-2017-0007.
25. Vasilevich R.S., Lodygin E.D., Beznosikov V.A. Molecular-mass distribution of tundra soils humic substances from the European northeast of Russia. *Biological Communications*, 2015, no 4, pp. 103–111. In Rus.

Received: 24 January 2019.

Information about the authors

Roman S. Vasilevich, Cand. Sc., senior researcher, Komi Science Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences.

Kirill S. Vezhov, research engineer, Komi Science Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences.

Evgeny D. Lodygin, Dr. Sc., leading researcher, Komi Science Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences.