

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ КРИОЛИТОЗОНЫ

УДК 551.345: 631.417: 535.372

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ МЕРЗЛЫХ ТОЛЩ

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

*Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
142290, Пушкино, Московская обл., ул. Институтская, 2, Россия; shirshova@issp.serpukhov.su*

Гуминовые вещества, выделенные из многолетнемерзлых отложений различного возраста, проанализированы методами оптической спектроскопии (спектры поглощения, эмиссии и синхронной флуоресценции). Согласно спектральным данным, особенностью гуминового материала исследованных отложений является высокое содержание слабогумифицированных компонентов. Выявлены существенные различия оптических характеристик гуминовых фракций, изолированных из свежеразмороженного образца отложений и воздушно-сухого образца, выдержанного при комнатной температуре. Предложены спектральные параметры, позволяющие характеризовать состояние гуминовых веществ, законсервированных в мерзлых толщах.

Многолетнемерзлые отложения, Арктика, оттаивание, гуминовые вещества, гуминовые кислоты, фульвокислоты, оптическая спектроскопия

INVESTIGATION OF HUMIC SUBSTANCES FROM FROZEN STRATA,
USING OPTICAL SPECTROSCOPY

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

*Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, RAS,
142290, Pushchino, Moscow region, Institutskaya st., 2, Russia; shirshova@issp.serpukhov.su*

Examined are the results of optical spectroscopy (absorbance, emission and synchronous spectra) applied to the study of humic substances gained from permanently frozen sediments of different ages. In accordance with the spectroscopy-produced data, the humic substances of examined sediments are enriched by low-humified compounds. It was found that the optical characteristics of certain humic fractions isolated from freshly defrosted sample differ from the corresponding characteristics of corresponding fractions obtained from air-dried sample incubated at room temperature. Spectroscopic parameters for characterization of the state of humic substances stored in frozen strata are suggested.

Permafrost, sediment, Arctic, thawing, humic substances, humic acids, fulvic acids, optical spectroscopy

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших характеристик органического вещества объектов биосферы является состояние системы устойчивых фракций, называемых гуминовыми веществами (ГВ). Они образуются в результате биохимической трансформации органических остатков и формируют промежуточную фазу между живыми организмами и неорганической материей, обеспечивая аккумуляцию и миграцию органических и неорганических соединений в биогеоценозах. Согласно наиболее общей концепции, ГВ представляют собой систему полифенольных полимеров, включающую компоненты различной химической зрелости – от лабильных новообразованных соединений до сформирован-

ных устойчивых форм, соотношение которых определяет поведение и существование ГВ. Структурная организация ГВ является интегральным отражением биоклиматических условий в период их формирования и последующего функционирования. Однако ввиду исключительной сложности молекулярной структуры гуминовых соединений их описание в строгих химических терминах до сих пор отсутствует, и определение ГВ основано на методах их экстракции и фракционирования. Традиционная методика разделения химически зрелых и слабогумифицированных компонентов базируется на различии их растворимости в области низких значений рН. Осаждаемые в кислой

среде гуминовые кислоты (ГК) включают химически зрелые формы, обогащенные высокосопряженными ароматическими структурами, тогда как растворимые фульвокислоты (ФК) объединяют слабогумифицированные компоненты с более простой ароматической структурой [Дергачева, 1989; Орлов, 1990; Humic..., 1985; Stevenson, 1994; Swift, 1999].

В литературе накоплен огромный массив экспериментальных данных о состоянии гуминового комплекса основных природных источников (почвы, бурые угли, торфа, водные системы), в то время как ГВ, законсервированные в вечной мерзлоте, остаются малоизученными. Недостаточно информации, касающейся возможных изменений молекулярных параметров ГВ многолетнемерзлых пород при их оттаивании и анализе в лабораторных условиях. Для выявления структурных особенностей гуминового материала многолетнемерзлых толщ целесообразно использовать аналитическую технику, обеспечивающую сохранность нативных гуминовых структур. Таким требованиям отвечает неразрушающий чувствительный метод оптической спектроскопии (спектрофотометрия, спектрофлуориметрия). Гуминовые вещества с их сложной системой ароматических и ненасыщенных алифатических структур являются хромофорным материалом: поглощают свет в ультрафиолетовой и видимой областях спектра и испускают поглощенный свет в видимой области [Bloom, Leenheer, 1989]. Начиная с классических работ М.М. Кононовой [1963], оптическая спектроскопия активно используется для характеристики ГВ различного происхождения и органического вещества водных экосистем – РОВ [Дергачева, 1989; Орлов, 1990; Ширшова и др., 2004; Senesi et al., 1991; Stevenson, 1994; Chen et al., 2003; Sierra et al., 2005; Hur et al., 2009; Birdwell, Engel, 2010].

В настоящей работе представлены результаты спектрального анализа гуминовых фракций, законсервированных в многолетнемерзлых отложениях, исследованы оптические параметры гуминового материала, выделенного из свежеразмороженных образцов отложений различного возраста и образцов, выдержанных при комнатной температуре.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ И ОПТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

Описанные в литературе процедуры выделения ГВ, так же как и режимы записи и обработки оптических спектров, варьируют в зависимости от конкретных задач исследования. Перед изложением экспериментальной части авторы посчитали целесообразным дать краткое представление о методических приемах, используемых в работе.

Гуминовое вещество выделяли с помощью мягкой “катионит-щелочной” процедуры последо-

вательных экстракций, которая обеспечивает фракционирование извлекаемых ГВ на основе различия характера фиксации гуминовых компонентов на органоминеральной матрице [Ширшова, 1991; Shirshova et al., 2006]. Данная техника использовалась ранее в лабораторных экспериментах по исследованию влияния промерзания–оттаивания на состояние ГВ почв разных типов [Полубесова и др., 1994; Polubesova, Shirshova, 1997]. Было установлено: 1) при промерзании образцов почв количество экстрагируемого гуминового материала и его фракционный состав претерпевают определенные изменения; 2) последующее выдерживание оттаявших образцов при положительной температуре в течение двух месяцев приводит к восстановлению исходной экстрагируемости ГВ. Эти сведения учитывались при подготовке образцов многолетнемерзлых отложений к анализу.

Измерение концентрации гуминового материала в полученных экстрактах выполняли при помощи спектрофотометрии. Прямого аналитического метода определения содержания ГВ в образцах природного и антропогенного происхождения до сих пор нет. При оценке концентрации ГВ в растворах и растворенного органического вещества водных источников применяются два косвенных метода, основанных на измерении: 1) содержания органического углерода (традиционная методика); 2) поглощения при фиксированной длине волны (варианты анализа описаны в работах [Ширшова и др., 2006; Wang Gen-Shuh, Hsieh Shu-Ting, 2001; Chen, Gardner, 2004]). Преимуществом спектрофотометрической методики является специфичность, поскольку здесь происходит избирательное детектирование хромофорных гуминовых соединений. Эта простая и незатратная методика широко используется при оценке содержания хромофорного органического вещества в образцах природных вод, обозначаемого в англоязычной литературе как CDOM/CNOM (chromophoric dissolved/natural organic matter). По аналогии в настоящей работе используется термин “хромофорные гуминовые вещества” (ХГВ), указывающий на спектрофотометрический способ детектирования ГВ в растворах.

Для характеристики качества выделенного гуминового материала использовали флуоресцентную спектроскопию, которая позволяет получать данные о химической зрелости ГВ [Senesi et al., 1991; Milori et al., 2002; Fuentes et al., 2006; Shirshova et al., 2009]. В полном согласии с принципами флуоресцентной спектроскопии [Паркер, 1972] увеличение содержания в ГВ конденсированных и(или) сопряженных ароматических систем сопровождается снижением интенсивности флуоресценции и сдвигу флуоресцентного максимума в длинноволновую область. В качестве модели флуоресцентного поведения химически зре-

лых и слабогумифицированных форм служат фракции ГК и ФК. Гуминовые кислоты флуоресцируют менее интенсивно и с максимумами при больших длинах волн по сравнению с ФК [Bloom, Leenheer, 1989; Senesi et al., 1991; Chen et al., 2003], а величины квантовой эффективности флуоресценции ФК в несколько раз превышают таковые ГК [Ширшова и др., 2004]. В настоящей работе записывали спектры испускания и синхронной флуоресценции ГВ, ГК и ФК. Поскольку все измерения проводились в одинаковых условиях и в одних и тех же единицах [Паркер, 1972], отношение интенсивности в максимуме испускания флуоресценции анализируемых растворов к поглощению при длине волны возбуждения может использоваться в качестве аналога квантовой эффективности флуоресценции исследуемых гуминовых фракций. Достоинством синхронной спектроскопии является разделение сигналов гуминовых соединений разной химической зрелости, что позволяет получать оценку компонентного состава анализируемых ГВ [Senesi et al., 1991; Miano, Senesi, 1992]. Применение последовательной “катионит-щелочной” экстракции ГВ способствует фракционированию компонентов различной химической зрелости, увеличивая тем самым информативность метода синхронной спектроскопии [Ширшова и др., 2004; Shirshova et al., 2009].

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования послужили образцы многолетнемерзлых отложений тундровой зоны восточного сектора Арктики (см. таблицу). Криолитологические характеристики отложений и подробное описание места отбора представлены в работах [Куницкий, 1989; Холодов и др., 2003; Gilichinsky et al., 2005]. Образцы для исследований были отобраны из керна скважин, пробуренных в толщах различного возраста, находящихся

при постоянных среднегодовых температурах ($-9...-11^{\circ}\text{C}$), и помещены в морозильную камеру при температуре -18°C . После доставки в лабораторию каждый образец был быстро разделен на две части. Одна часть возвращена в морозильную камеру и вынута из нее за 1–2 ч до анализа. Этот образец (проанализированный при естественной влажности сразу после оттаивания) рассматривается как естественно-мерзлый (обозначен М). Другая часть была разморожена и помещена на двое суток в эксикатор, после чего оставлена на воздухе при комнатной температуре в течение 2 месяцев. Это оттаявший воздушно-сухой образец (обозначен Т). Все восемь образцов (по паре Т и М каждого из четырех отложений), приготовленные как описано выше, анализировались одновременно. Содержание общего органического углерода ($C_{\text{орг}}$) в воздушно-сухих образцах отложения определяли на экспресс-анализаторе на углерод АН-7529. Для сравнения использовали воздушно-сухие образцы гумусово-аккумулятивных горизонтов современных почв, исследованных ранее [Shirshova et al., 2009]: мерзлотной аллювиальной почвы (Колымская низменность, низовье р. Большая Чукочьа) и черноземовидного слитозема (Ставропольский край).

Гуминовые вещества были экстрагированы из пар образцов (Т и М) в три этапа [Shirshova et al., 2009]: 1) сначала в дистиллированной воде с помощью ионообменного Na^+ -сульфокатионита (RSO_3Na) была выделена наиболее подвижная фракция ГВ-S, слабо связанная с катионами металлов; 2) затем с помощью комплексообразующего Na^+ -карбоксилатного катионита (RCO_2Na) выделена фракция ГВ-C, прочно связанная с катионами металлов; 3) после чего была проведена обработка остатка почвы 0,1 М NaOH для извлечения свободной фракции ГВ-A, компоненты которой связаны в составе сложных полимерных

Некоторые характеристики исследованных многолетнемерзлых отложений и включенных гуминовых кислот

Номер образца	Тип отложений	$C_{\text{орг}}$, г/кг	λ_{max} , нм		
			ГК-S	ГК-C	ГК-A
1	Голоцен Q_{IV} , оторфованный суглинок	54,5	349 (a)	493 (d)	413 (c)
2	Поздний плейстоцен Q_{III} , суглинок	3,6	349 (a)	344 (a), 398 (c)	347(a), 405 (c)
3	Средний плейстоцен Q_{II} , суглинок	5,9	384 (c)	386 (c)	371 (b)
4	Поздний плиоцен–ранний плейстоцен N_2-Q_I , песчано-суглинистые	4,9	344 (a)	404 (c)	514 (d), 400 (c)
5	Аллювиальная мерзлотная почва, гор. А*	9,4	349 (a), 402 (c)	345 (a), 400 (c)	490 (d)
6	Черноземовидный слитозем, гор. А*	30,2	338 (a), 398 (c)	486 (d)	401 (c)

Примечание. λ_{max} – длина волны главного пика в спектре синхронной флуоресценции фракций ГК; ГК-S, ГК-C, ГК-A – фракции гуминовых кислот (см. в тексте); a, b, c, d – обозначение главных флуоресцентных пиков.

* Флуоресцентные параметры фракций ГК современных почв были опубликованы ранее [Shirshova et al., 2009] и используются для сравнения.

комплексов. Полученные экстракты ГВ были очищены от минеральных частиц фильтрацией через 0,45-микрометровый мембранный фильтр. Разделение каждого экстракта ГВ на фракции ГК-S, ГК-C, ГК-A и ФК-S, ФК-C, ФК-A было проведено путем подкисления до рН 1,0; затем рН каждой из изолированных гуминовых фракций (ГВ, ГК, ФК) был приведен к 7,5–8,0. Все образцы гуминовых фракций были помещены в холодильник и проанализированы в течение недели. Перед проведением спектрального анализа исходные гуминовые фракции были выдержаны в течение 24 ч в темноте при комнатной температуре (20–22 °С).

Концентрация хромофорного гуминового материала в полученных экстрактах ГВ-S, ГВ-C, ГВ-A была определена по оптической плотности образцов соответствующих экстрактов при длине волны $\lambda = 337$ нм. Измерения проводили на спектрофотометре НІТАСНІ-557 при комнатной температуре с использованием кварцевой кюветы (1 см × 1 см). Полученные значения оптической плотности (A_{337} см⁻¹) были нормализованы к 1 г исходного образца отложения/почвы путем умножения на объем выделенного экстракта ГВ (мл) и деления на навеску образца (г) в расчете на сухой вес; данный параметр обозначен ХГВ и представлен в условных единицах (у. е./г): A_{337} см⁻¹·мл/г.

Спектры испускания и синхронной флуоресценции гуминовых фракций были получены на флуоресцентном спектрофотометре НІТАСНІ-850. Измерения проведены с использованием кварцевой кюветы (1 см × 1 см) при комнатной температуре [Shirshova et al., 2009]. Спектры испускания записаны в диапазоне длин волн $\lambda = 350$ –600 нм при длине волны возбуждения флуоресценции $\lambda_{\text{в}} = 337$ нм; синхронные спектры флуоресценции записаны в диапазоне длин волн $\lambda = 290$ –550 нм при разнице длины волны возбуждения и испускания флуоресценции $\Delta\lambda = 18$ нм. Оптическая плотность анализируемых растворов при 337 нм составляла 0,15 ед. (рН 7,5–8,0). Образцы с исходно низкой оптической плотностью проанализированы при естественной концентрации: спектры ГВ-S и ГВ-C из образца 2(М) записаны для растворов с оптической плотностью 0,014 и 0,035 ед., спектры образцов ГК-S и ФК-S образца 4(Т) записаны при оптической плотности 0,037 и 0,075 ед. соответственно. В спектрах испускания гуминовых фракций измерены интенсивности в максимуме флуоресценции. Для каждой из выделенных гуминовых фракций была рассчитана величина отношения интенсивности в максимуме испускания флуоресценции к оптической плотности анализируемого раствора при длине волны возбуждения. Эта величина обозначена F_{eff} и представлена в условных единицах (у. е.). Относительное стандартное отклонение, связанное с

определением ХГВ и F_{eff} в трех повторностях, не превышало 6 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены экспериментальные данные по фракционному составу и флуоресцентным параметрам гуминового материала, выделенного из образцов Т и М многолетнемерзлых отложений. В качестве фоновой информации приведены характеристики гуминовых фракций современных почв. Из анализа данных, приведенных на рис. 1, А и в таблице, можно заключить, что количество ГВ, выделенных из образцов почв и отложений, зависит от содержания в исходных образцах органического вещества, определенная часть которого всегда гумифицирована [Орлов, 1990; Humic..., 1985; Stevenson, 1994]. Как было установлено ранее, в составе ГВ выделяется около 30–40 % общего углерода образцов многолетнемерзлых отложений, что лежит в пределах, характерных для современных почв [Shirshova et al., 2009].

На рис. 1, А видно, что по набору гуминовых фракций многолетнемерзлые отложения не отличаются от почв. Оттаивание образцов отложений сопровождается изменениями в выходе и фракционном составе ГВ. Максимальная разница отмечена для образцов Т и М отложения 2, где из мерзлого образца выделяется в несколько раз меньше ГВ, чем из талого аналога; в остальных отложениях эта разница не превышает 10 %. При этом во всех исследованных отложениях из талых образцов выделяется больше фракции ГВ-C, прочно связанной с минеральной частью. Подобная тенденция отмечена и для ионообменной фракции ГВ-S. Таким образом, оттаивание отложений приводит к увеличению выхода гуминовых компонентов, выделяемых с помощью катионитов: фиксированных в виде солей и(или) комплексных соединений с катионами металлов. Оценка раздельного влияния оттаивания и высушивания образцов мерзлых пород на фракционный состав ГВ не входила в задачу настоящей статьи. Определенную информацию можно извлечь из предыдущих исследований ГВ почв. Высушивание свежих/естественно-влажных образцов серой лесной почвы приводило к снижению (в среднем на 30 %) количества ГВ, выделяемых с помощью катионитов [Ермолаев, Ширишова, 1988]. Эти изменения имеют противоположную направленность тем, что представлены на рис. 1, А. Что касается упомянутых выше экспериментов по промерзанию–оттаиванию образцов почв, то изменения ГВ в них были менее выражены и систематичны, чем обнаруженные в настоящей работе. Это можно объяснить тем, что время пребывания в мерзлом состоянии здесь неизмеримо меньше по сравнению с многолетнемерзлыми породами. Тем

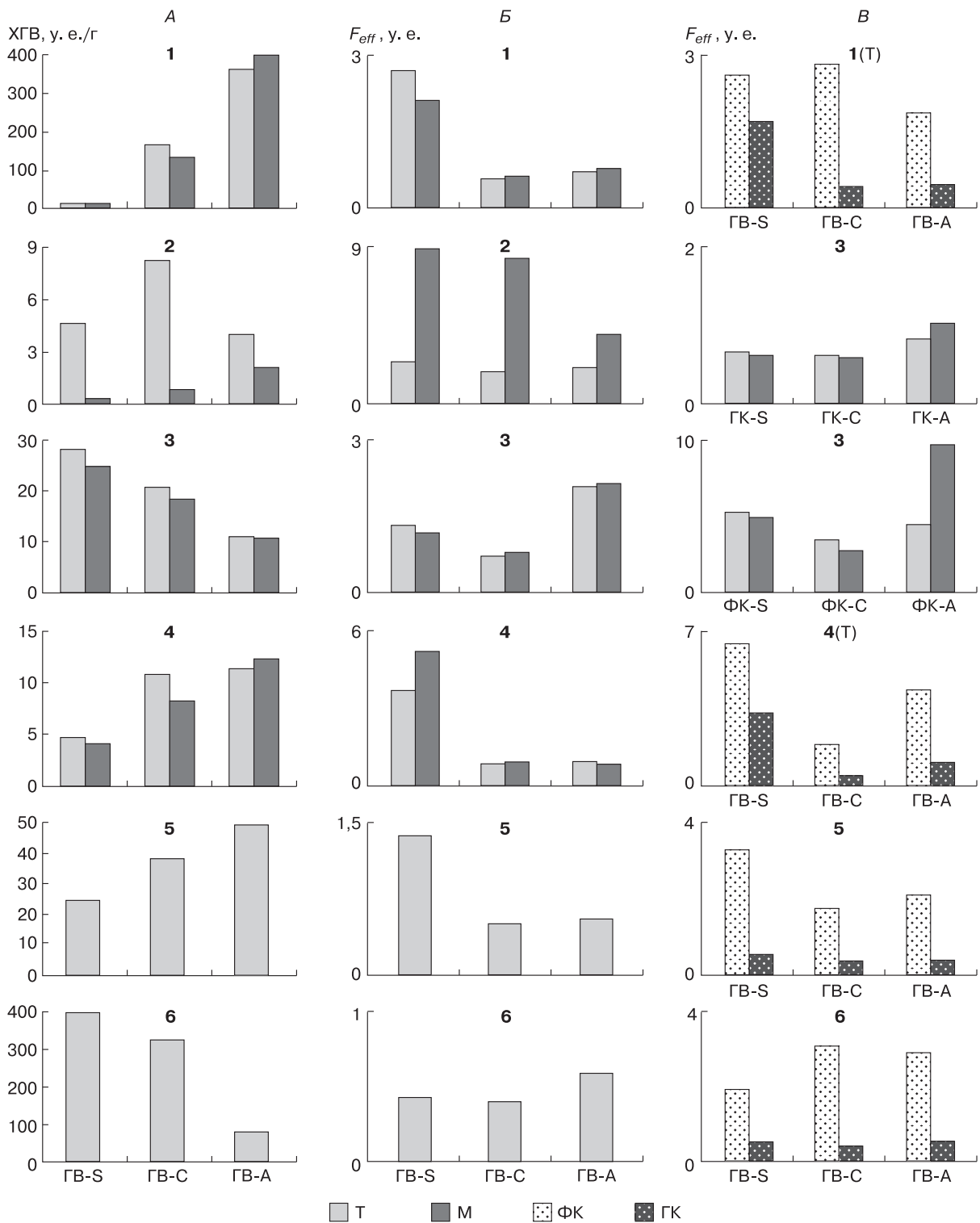


Рис. 1. Характеристика гуминовых фракций многолетнемерзлых отложений и современных почв.

A – содержание хромофорного гуминового материала (ХГВ) во фракциях, экстрагированных последовательно сульфосмолы (ГВ-S), карбоксилатной смолой (ГВ-C) и 0,1 М NaOH (ГВ-A); B, B – относительная эффективность флюоресценции (F_{eff}) фракций ГВ и изолированных из них ФК, ГК (в условных единицах).

не менее в опыте с серой лесной почвой при оттаивании промерзших образцов наблюдалось увеличение количества ГВ, выделяемых с помощью катионитов (на 30–40 %), что аналогично результатам на рис. 1, А. При этом все образцы (исходный, мерзлый, талый) анализировались при полной влагоемкости или полевой влажности, т. е. без высушивания. Учитывая все имеющиеся факты, логично предположить, что обнаруженные различия фракционного состава ГВ из образцов М и Т одного и того же отложения – это отклик на оттаивание последнего. Возникает вопрос: отличается ли качество гуминовых фракций, выделенных из пар образцов Т и М?

На рис. 2 приведены спектры испускания флюоресценции гуминовых фракций, изолированных из образцов Т и М многолетнемерзлых отложений. Полученные спектры состоят из широкой бесструктурной полосы в видимой области, что характерно для гуминовых соединений различного происхождения. Согласно литературным данным [Шуршова и др., 2004; Bloom, Leenheer, 1989; Senesi et al., 1991; Chen et al., 2003], максимумы флюоресценции ГВ располагаются в области 425–520 нм, для ФК характерны интенсивные максимумы в коротковолновой части (420–460 нм), а максимумы химически зрелых ГК сдвинуты в длинноволновую область (445–520 нм) и менее интенсивны. Следует подчеркнуть, что при используемом подходе к анализу ГВ слабогумифицированные соединения являются аналогом ФК, на основе флюоресцентных параметров которых и определяется область флюоресцентных характеристик слабогумифицированного материала. В спектрах испускания гуминовых фракций, изолированных из образцов Т исследованных отложений, включая ГК (см. рис. 2, А, Б), максимумы локализованы в области, типичной для ФК, и (или) более коротковолновой области спектра. Это свидетельствует о том, что в многолетнемерзлых отложениях законсервировано значительное количество слабогумифицированного материала. При деградации мерзлоты биохимическая трансформация погребенных слабогумифицированных форм может сопровождаться образованием и эмиссией парниковых газов.

Судя по интенсивным коротковолновым максимумам в спектрах ГВ-S (образцы 1, 2, 4) либо ГВ-A (образец 3), концентрация слабогумифицированных компонентов происходит в одной из этих фракций. Особого внимания заслуживают характеристики наиболее подвижной фракции ГВ-S, компоненты которой могут вымываться в сопряженные экосистемы. В спектрах ГВ-S, ГК-S и ФК-S отложения 4/(N₂-Q₁) максимумы флюоресценции детектируются при 382–398 нм. Наблюдаемый синий сдвиг полосы за пределы области

ФК указывает на наличие в анализируемом образце неких *экстраслабогумифицированных* соединений. При этом спектр ФК-S имеет два максимума: при 395 нм (синий максимум) и при 449 нм (в области, типичной для ФК). Наличие экстраслабогумифицированных компонентов отмечено также в отложении 2/(Q_{III}). Здесь главные максимумы флюоресценции ГВ-S, равно как ГК-S и ФК-S (спектры не показаны), расположены при 410–416 нм, т. е. на синем краю ФК-области. Полученные данные позволяют предположить, что многовековое воздействие отрицательных температур приводит к перестройке или деградации молекулярной структуры слабогумифицированного материала в составе ГВ-S с вычленением/формированием экстраслабогумифицированных форм. В спектрах ГВ-S, ГК-S и ФК-S отложения 1/(Q_{IV}) максимумы флюоресценции расположены в области ФК; по-видимому, для накопления экстраслабогумифицированных форм требуется более длительное время пребывания в мерзлом состоянии. В отложении 3/(Q_{II}) слабогумифицированные компоненты входят в состав полимерного комплекса фракции ГВ-A, что в значительной степени и определяет особенности их флюоресцентного поведения.

Из сопоставления спектров испускания пар ГВ (Т) и ГВ (М) (см. рис. 2) следует, что при оттаивании отложений в спектрах отдельных гуминовых фракций отмечается сдвиг максимума и меняется его интенсивность. Происходящие изменения, так же как и качественные особенности гуминовых фракций отложений, удобнее детектировать по интенсивности флюоресценции, чем по положению широкого бесструктурного максимума. На рис. 1, Б, В для фракций ГВ, ГК и ФК многолетнемерзлых отложений и современных почв приведены значения нормализованной интенсивности F_{eff} , характеризующей относительную эффективность флюоресценции. Для фракций ГВ, выделенных из почв контрастных природных зон (образцы 5 и 6), значения F_{eff} лежат в интервале 1,4–0,4, для слабогумифицированных ФК характерны более высокие значения F_{eff} (3,3–1,8), химически зрелые ГК имеют относительно низкие значения F_{eff} (0,5–0,4). Гуминовые фракции, изолированные из образцов Т отложений, характеризуются более высокими значениями F_{eff} – от 3,7 до 0,5 для фракций ГВ, от 6,2 до 1,8 для ФК и от 3,2 до 0,4 для ГК. То есть по сравнению с почвами в исследованных отложениях наблюдается накопление слабогумифицированных форм. Как видно на рис. 1, В, ФК и ГК отложения 1 качественно близки к таковым для современных почв, тогда как в отложениях 2–4 определенные фракции характеризуются более высокими значениями F_{eff} , что свидетельствует о накоплении в них слабогу-

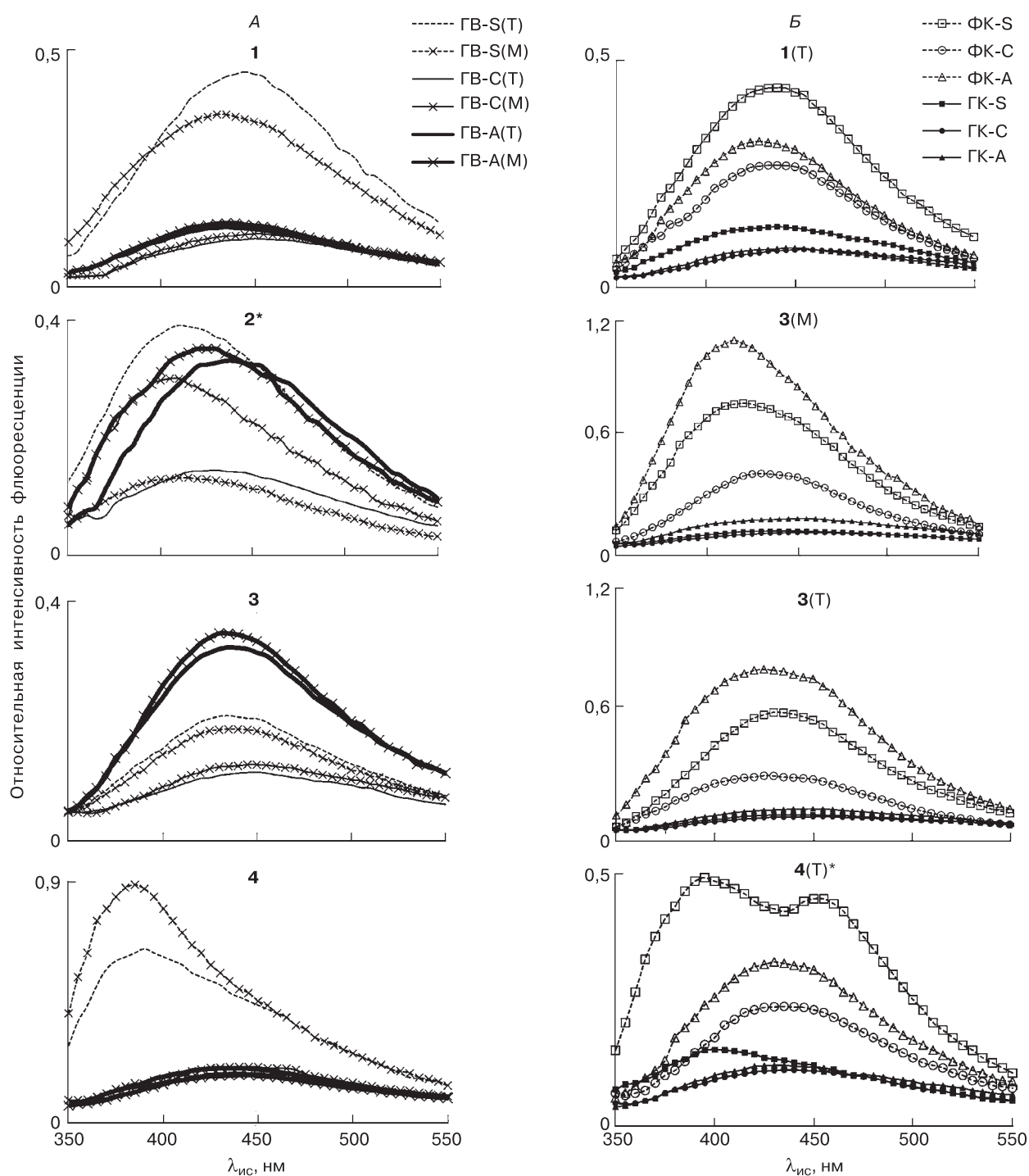


Рис. 2. Спектры испускания флуоресценции гуминовых фракций многолетнемерзлых отложений с вычитом главной рамановской полосы воды:

А – фракции ГВ, экстрагированные последовательно сульфосмоллой (ГВ-S), карбоксилатной смолой (ГВ-C) и 0,1 М NaOH (ГВ-A); Б – ГК и ФК, изолированные из фракций ГВ. Длина волны возбуждения флуоресценции $\lambda_{\text{в}} = 337$ нм.

*Спектры записаны для образцов различной концентрации (см. текст).

мифицированного материала. Во всех отложениях спектральные различия между гуминовым материалом из пар образцов М и Т проявляются во фракциях с наиболее высоким значением F_{eff} (см. рис. 1, Б, В), хотя картина этих изменений неоднозначна. Таким образом, оттаивание сопровождается спектральными изменениями слабогумифицированных фракций. В отложениях 1 и 4 изменения затрагивают слабогумифицированную фракцию ГВ-S (см. рис. 1, Б). В отложении 3, где слабогумифицированные формы концентрируются во фракции ГВ-А, спектральные изменения обнаруживаются только после изолирования слабогумифицированного материала в составе ФК (см. рис. 1, В; 2). Что касается отложения 2, то здесь слабогумифицированные компоненты преобладают во всех фракциях ГВ (см. рис. 1, Б), но фракцию ГВ-А спектральные изменения затрагивают в наименьшей степени. Полученные экспериментальные результаты могут быть объяснены на основе гипотезы агрегатной структуры гуминовых соединений [Ширшова, 1991; Ширшова, Ермолаева, 2001], согласно которой фракции ГВ представляют собой динамичную систему макроагрегатов, различающихся составом и характером взаимодействия субъединиц. Во фракциях ГВ-S и ГВ-С макроагрегаты стабилизированы на основе более слабых взаимодействий (гидрофобные, водородные и т. д.), чем таковые во фракции ГВ-А (сложноэфирные связи и др.). Поэтому флуоресцентные свойства ГВ-S определяются преобладающими здесь “рыхлосвязанными” компонентами ФК. В составе ГВ-А за счет более прочного связывания ФК их флуоресценция, равно как и ее изменения, в той или иной степени гасятся. Принципиально важно, что наблюдаемые спектральные изменения ГВ связаны с ФК-составляющими. Вероятно, это обусловлено лабильностью агрегатной структуры ФК, которая легко диссоциирует на низкомолекулярные субъединицы, что и способствует ее перестройке при изменении внешних условий. Следует отметить, что во всех отложениях изменения флуоресцентных свойств отмечены именно в тех фракциях ГВ, где слабогумифицированным ФК сопутствуют слабогумифицированные формы ГК.

Особого внимания заслуживает то обстоятельство, что в большинстве случаев флуоресценция самой слабогумифицированной фракции из свежезамороженного образца (М) выше, чем у соответствующих фракций из “прогретого” (Т) аналога (см. рис. 1, Б, В). По-видимому, при оттаивании в первую очередь активируются наименее химически зрелые компоненты, что способствует диссоциации и(или) перестройке их агрегатной структуры. Учитывая это, логично предположить, что циклы промерзания–оттаивания в вековом

масштабе могут приводить к вычленению-функционационированию и накоплению слабогумифицированных форм, в том числе экстраслабогумифицированных, обнаруженных в отложениях 2 и 4. Отсутствие экстраслабогумифицированных компонентов в отложении 3 можно объяснить особенностями структурной организации ГВ. Здесь исходные слабогумифицированные формы прочно связаны в составе полимерного комплекса фракции ГВ-А, что препятствует их перестройке. Ниже с помощью синхронных спектров будет дана более детальная оценка компонентного состава выделенных гуминовых фракций.

Изложенные результаты показывают, что при таянии многолетнемерзлых пород: 1) в той или иной степени меняются оптические свойства включенных ГВ, что свидетельствует об изменении электронных свойств макромолекул и, соответственно, реакционной способности; 2) характер наблюдаемых изменений связан с особенностями структурной организации ГВ; 3) происходит активация наименее химически зрелых гуминовых форм (будучи относительно простыми фенольными соединениями, они могут обладать токсичными свойствами). Для выделения представительного гуминового материала рекомендуется использовать воздушно-сухие образцы многолетнемерзлых отложений, выдержанные при положительной температуре. Для оценки актуального состояния ГВ мерзлых пород следует анализировать свежеразмороженные образцы.

На рис. 3, А представлены синхронные спектры фракций ГВ (Т) и ГВ (М), на рис. 3, Б – спектры ГК и ФК. В приведенных спектрах присутствует система полос (a, b, c, d), расположенных соответственно в областях: 330–365, 365–380, 380–420 и 480–520 нм, что характерно для ГВ различного происхождения [Ширшова и др., 2004; Shirshova et al., 2009]. Согласно существующим представлениям, полосы в области (a, b) обусловлены слабогумифицированными компонентами, в области (c) – присутствием промежуточных незрелых структур, а полосы в области (d) – наличием химически зрелых форм [Senesi et al., 1991; Chen et al., 2003; Sierra et al., 2005; Fuentes et al., 2006; Shirshova et al., 2009]. Для всех фракций ФК (см. рис. 3, Б) характерны интенсивные пики (a) и (b), а набор пиков в спектрах ГК (a–d) специфичен для каждого исследуемого образца. Следует особо подчеркнуть, что наблюдаемые при оттаивании изменения синхронных спектров касаются интенсивности пиков, в то время как их локализация практически не меняется. То есть одноименные фракции ГВ, ГК и ФК из образцов Т и М имеют один и тот же, во-первых, набор флуоресцентных полос; во-вторых, главный (характеристический) максимум. Поэтому независимо от состояния ис-

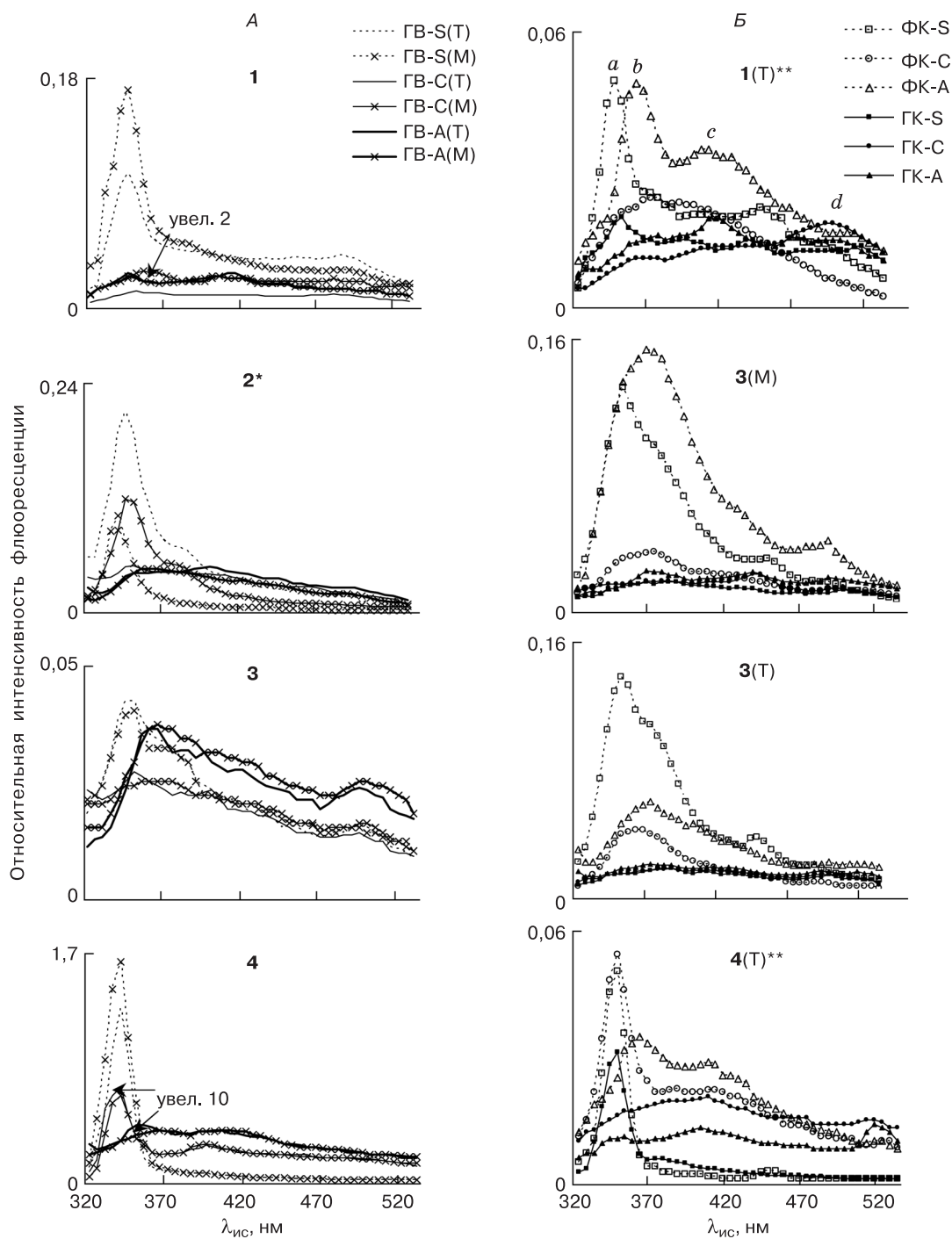


Рис. 3. Спектры синхронной флуоресценции гуминовых фракций многолетнемерзлых отложений с вычетом спектра воды:

А – фракции ГВ, экстрагированные последовательно сульфосмоллой (ГВ-С), карбоксилатной смоллой (ГВ-С) и 0,1 М NaOH (ГВ-А); Б – ГК и ФК, изолированные из фракций ГВ.

*Спектры записаны для образцов различной концентрации.

**Интенсивности нормализованы к наименее низким значениям, полученным для исследованных гуминовых фракций.

ходного образца многолетнемерзлых пород для оценки химической зрелости включенных ГВ можно использовать положение главного максимума в синхронных спектрах ГК. В составе суммарного материала ГВ интенсивно флуоресцирующие слабогумифицированные компоненты могут маскировать сигналы химически зрелых форм.

В таблице представлены характеристические максимумы фракций ГК, изолированных из воздушно-сухих образцов отложений, в сравнении с таковыми из современных почв. Согласно приведенным флуоресцентным параметрам, исследованные отложения могут быть разделены на две группы. В первую группу входят эпикриогенные отложения **1** и **4**, где ГК определяются набором сигналов (*a–d*), характерным для ГК современных почв. Это указывает на то, что при формировании органического материала отложений **1** и **4** были относительно длинные периоды положительных температур, необходимых для химической эволюции новообразованных гуминовых форм [Орлов, 1990; Ширшова, 1991; Humic..., 1985; Stevenson, 1994]. Во вторую группу входят синкриогенные отложения **2** и **3**, здесь доминируют пики (*a*, *b*) и (*c*), что свидетельствует о преобладании в гуминовом материале химически незрелых форм. Повидимому, данные отложения формировались в более суровых температурных условиях, замедляющих биохимическую трансформацию слабогумифицированного материала. Следует добавить, что в предыдущих исследованиях было отмечено сходство характеристических максимумов ГВ образцов ледового комплекса и природного органического материала водного происхождения [Shirshova et al., 2009]. Возможно, значительные различия в подвижности гуминового материала из образцов Т и М отложения **2** обусловлены тем, что в этом образце присутствуют значительные включения замерзших РОВ, растворимость которых существенно снижается в результате промерзания [Fellman et al., 2008].

Как следует из рис. 3, путем поэтапного анализа синхронных спектров фракций ГВ и изолированных из них ФК и ГК можно выявить конкретные структуры и фракции, подверженные изменению при оттаивании многолетнемерзлых пород. Здесь хорошо видно, что оттаивание сопровождается значительным снижением интенсивности сигнала слабогумифицированных структур (*a*, *b*) во фракциях ГВ и это касается в основном ФК-составляющих, тогда как интенсивность специфичных для ГК сигналов (*c*, *d*) меняется незначительно. Особого внимания заслуживает тот факт, что изменению подвержены фракции ГВ с доминированием сигнала (*a*, *b*) в ГК-составляющих. Возможно, на основании характеристических максимумов ГК можно судить о потенциальной

изменчивости ГВ мерзлых пород под влиянием факторов внешней среды.

Суммируя полученные результаты, можно предложить следующие объяснения наблюдаемому накоплению слабогумифицированных форм в составе гуминового комплекса криолитозоны: 1) низкие температуры, препятствующие биохимической трансформации новообразованных форм ГВ; 2) перестройка и(или) диссоциация макроагрегатов ГВ в процессе промерзания–оттаивания. Оптические параметры, представленные на рис. 1–3 и в таблице, дают информацию о специфике гуминового материала, законсервированного в многолетнемерзлых отложениях, а также о масштабах и характере спектральных изменений гуминовых фракций при оттаивании последних.

ВЫВОДЫ

Гуминовые фракции органического вещества многолетнемерзлых отложений различного возраста изучены методами оптической спектроскопии (спектры поглощения, эмиссии и синхронной флуоресценции). Согласно результатам спектрального анализа, особенностью гуминовых веществ исследованных отложений является высокое содержание слабогумифицированных компонентов. Выявлены существенные различия оптических характеристик гуминовых фракций, изолированных из свежеразмороженных и выдержанных при положительной температуре воздушно-сухих образцов каждого отложения. Наблюдаемые спектральные изменения зависят от структурной организации гуминовых веществ. Предложена система оптических параметров, позволяющих характеризовать специфику гуминовых веществ, законсервированных в многолетнемерзлых породах, а также изменение их состояния при деградации мерзлоты.

Литература

- Дергачева М.И. Система гумусовых веществ почв / М.И. Дергачева. Новосибирск, Наука, 1989, 110 с.
- Ермолаев А.М., Ширшова Л.Т. О динамике растительного органического вещества и некоторых фракций гумуса в серой лесной почве под сеяным лугом // Экология, 1988, № 1, с. 12–18.
- 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 поверхностных почв и глин // Почвоведение, 1994, № 7, с. 72–78.

- Холодов А.Л., Ривкина Е.М., Гиличинский Д.А. и др.** 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., 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., 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 // Агрехимия, 2004, № 4, с. 78–85.
- 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. Chichester, 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.
- Chen R.F., Gardner G.B.** High-resolution measurements of chromophoric dissolved organic matter in the Mississippi and Atchafalaya River plume regions // Marine Chemistry, 2004, vol. 89, iss. 1–4, p. 103–125.
- 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.
- 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.
- Humic Substances in Soil, Sediment, and Water** / Ed. by G.R. Aiken, D.M. McNight, R.L. Wershaw, P. MacCarthy. N.Y., Wiley, 1985, 692 p.
- Hur J., Lee D.H., Shin H.S.** Comparison of the structural, spectroscopic and phenanthrene binding characteristics of humic acids from soils and lake sediments // Organic Geochemistry, 2009, vol. 40, iss. 10, p. 1091–1099.
- Miano T.M., Senesi N.** Synchronous excitation fluorescence spectroscopy applied to soil humic substances chemistry // Science Total Environ., 1992, vol. 117–118, p. 41–51.
- 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.
- Sierra M.M.D., Giovanela M., Parlanti E., Soriano-Sierra E.J.** Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques // Chemosphere, 2005, vol. 58, iss. 6, p. 715–733.
- Stevenson F.J.** Humic Chemistry: Genesis, Composition, Reactions: 2nd ed. N.Y., 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.
- Wang Gen-Shuh, Hsieh Shu-Ting.** Monitoring natural organic matter in water with scanning spectrophotometer // Environ. Intern., 2001, vol. 26, iss. 4, p. 205–212.

Поступила в редакцию
31 ноября 2012 г.