

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«Санкт-Петербургский Государственный Университет» (СПбГУ)

Институт Наук о Земле
Кафедра почвоведения и экологии почв

Перминова Анастасия Владимировна

**Образование структурированных коллоидных мицелл гуминовых
веществ**

Выпускная бакалаврская работа
по направлению 06.04.02 «Почвоведение»

Научный руководитель:
д.с.-х.н., проф. А.И. Попов

_____ 2018
«__» _____

Заведующий кафедрой:
д.г.н., проф. А. В. Русаков

_____ 2018
«__» _____

Санкт –Петербург

2018

Оглавление

Введение	3
Глава 1. Обзор литературы по поставленной теме	5
1.1. Общие положения о гуминовых веществах	5
1.2. Классификация гуминовых веществ	5
1.3. Свойства гуминовых веществ	7
1.4. Строение гуминовых веществ	13
1.4.1. Гуминовые вещества — коллоидные дисперсные системы	15
1.4.2. Мицеллярное строение гуминовых веществ	16
Глава 2. Объекты и методы исследования	21
2.1 Объекты исследования	21
2.2. Методы исследования	30
Глава 3. Результаты исследования и обсуждение	36
Выводы	43
Список литературы	44
Приложение	53

Введение

Гуминовые вещества (ГВ) — тёмноокрашенные природные амфифильные (или дифильные) азотсодержащие органические рандомизованные редокс-гетерополимеры положительно заряженные функциональные группы, поэтому они — полифункциональные полиамфолиты, проявляющие кислотные свойства. Гуминовые вещества (ГВ) — это коллоиды, характеризующиеся трехмерным строением [60].

Актуальность данной работы в том, что в настоящее время существуют два основных представления о пространственном строении ГВ: полимерная и супрамолекулярная теории. В соответствии с первой, ГВ — макромолекулы, в виде системы полимеров с высоким коэффициентом полидисперсности, а со второй — супрамолекулярный ансамбль (например, структурированные коллоидные мицеллы), состоящий из относительно небольших молекул — амфифильных фрагментов с разной молекулярной массой.

Гуминовые вещества соответствуют по комплексу признаков поверхностно-активным веществам (ПАВ), так как они обладают амфифильными свойствами. Если рассматривать ГВ, как ПАВ, можно говорить о том, что они способны самопроизвольно образовывать трёхмерные супрамолекулярные ансамбли, как мицеллы (или «псевдомицеллы»), а молекулы в таких мицеллах (или «псевдомицеллах») отделены друг от друга гидратной оболочкой [60].

Одной из важных характеристик коллоидных ПАВ — гидрофильно-липофильный баланс (ГЛБ) — соотношение между гидрофильными свойствами полярной группы и лиофильными свойствами углеводородного радикала. Гидрофильно-липофильный баланс определяет агрегативную устойчивость коллоидов и зависит от состава и структуры ПАВ — от соотношения между гидрофильными и гидрофобными фрагментами [72].

Охарактеризовать поверхностно-активные свойства ГВ можно с помощью определения порога агрегативной неустойчивости (ПАН). Данная работа была связана с решением такого вопроса, как образование структурированных коллоидных мицелл гуминовых веществ.

Таким образом, целью работы было подтвердить супрамолекулярное строение гуминовых веществ, образующих структурированные коллоидные мицеллы.

Для достижения этой цели, были поставлены следующие задачи:

1. Охарактеризовать объекты исследования.
2. Определить усреднённую молекулярную массу исходных ГВ.
3. Определить порог агрегативной неустойчивости исходных ГВ.
4. Получить структурированные коллоидные мицеллы ГВ в сильноокислой среде и оценить их размеры.

По результатам работы имеется две публикации:

Перминова А.В., Крупа В.Р. Гуминовые вещества — супрамолекулярные соединения / Материалы Междунар. науч. конференции XXI Докучаевские молодежные чтения «Почвоведение — мост между науками / Под. ред. Б.Ф. Апарина. — СПб., 2018. С. 80–81.

Крупа В.Р., Перминова А.В. Гуминовые вещества — молекулярные сорбенты углеводов / Материалы Междунар. науч. конференции XXI Докучаевские молодежные чтения «Почвоведение — мост между науками / Под. ред. Б.Ф. Апарина. — СПб., 2018. С. 50–51.

Глава 1. Обзор литературы по поставленной теме

Глава 1.1. Общие положения о гуминовых веществах

Гуминовые вещества (ГВ) — это особые темно-коричневые или темно-бурые природные органические образования, широко распространенные в различных естественных объектах, таких как: почва, торф, уголь и сланец, морские и озерные отложения, а также в водах рек и озер [13, 26, 80]. Гуминовые вещества входят в состав органического вещества этих биокосных тел, являясь главным его компонентом. По мнению В.И. Вернадского [15], гуминовые вещества — наиболее термодинамически устойчивая и естественная форма сохранения органических веществ в биосфере. К ГВ также относятся и меланиновые (прогуминовые или парагуминовые) вещества, синтезируемые грибами и бактериями [19, 80, 94, 101].

Гуминовые вещества по своей экологической важности занимают центральное место в составе органического вещества почв, поскольку выполняют следующие важнейшие функции: аккумулятивную, транспортную, протекторную и физиологическую, а также трофическую [57].

Д.С. Орлов [51] считал, что ГВ являются связующим звеном в эволюции живой и неживой материи. Как считает М.И. Дергачева [24], функциональная роль ГВ заключается в регуляции устойчивости экосистем, на равне с этим она выделяла такую роль, как кодирование в составе и свойствах условий периода своего формирования (меморатная функция). Гуминовые вещества — биогеополимеры, то есть вещества, которые состоят из набора «сходных частей», отражающих характерное поведение полимера, включая свойства, зависимые от различных структур (в частности, третичной и четверичной) [85]. Гуминовые вещества, которые можно расценивать в качестве макромолекулярных разновидностей с фрактальными, мицеллярными или другими супрамолекулярными свойствами [105], обладают коллоидными свойствами [3, 9, 18, 23].

Глава 1.2. Классификация гуминовых веществ

В основу классификации ГВ положено их различие, связанное с извлечением этих специфических соединений из природных объектов теми или иными растворителями. Общепринято к ГВ относить гумусовые (перегнойные) кислоты, гумин (негидролизующий остаток) и прогуминовые вещества (иначе меланины или парагуминовые) вещества [60].

М.М. Кононова [33] писала о том, что гумусовые кислоты — это комплекс органических соединений коричневого, бурого и желтого цвета, выделяемых из

биокосных тел растворами щелочей, нейтральных солей или органическими растворителями. Если гумусовые кислоты, охарактеризовать, как класс органических соединений, то они не имеют строгого постоянства химического состава, характеризуются общим принципом молекулярного строения и сходством свойств [34].

В настоящее время наиболее изучены, такие способы исследования гумусовых кислот, которые основаны на различной растворимости в минеральных щелочах и кислотах, а также в некоторых солях или органических растворителях. При исследовании органического вещества для группового разделения гумусовых кислот используют явление прямого межфазного массообмена в тех вариантах растворения-осаждения, которые базируются на распределении макромолекул между раствором и осадком (гелем) в зависимости от их размера и состава [77]. При разделении щелочного раствора ГВ на сложную смесь веществ те, которые выделяются из фазы раствора при его подкислении, — гуминовые кислоты (ГК), а компоненты, остающиеся в надосадочной жидкости, — фульвокислоты (ФК).

Компоненты, которые переходят в раствор при обработке свежего осадка гуминовых кислот этанолом (реже ацетоном или диоксаном), определяют, как гиматомелановые кислоты.

В зависимости от способа выделения, ГК природных объектов (как биокосных тел) подразделяют на ГК, ФК, гиматомелановые кислоты [33, 34].

Гуминовые кислоты — высокомолекулярные азотсодержащие органические кислоты, которые имеют тёмно-бурую, а в сухом состоянии —чёрную окраску. К ГК различных объектов (почв, торфов, углей, меланинсодержащих организмов и др.) относятся вещества, которые извлекаются из почвы различными водными растворами, например, растворами едкого натра (NaOH), едкого калия (KOH), аммония (NH₄OH), бикарбоната натрия (NaHCO₃), пиррофосфата натрия (Na₄P₂O₇), фторида натрия (NaF) и др. и осаждаются из полученных растворов при подкислении последних минеральными кислотами (до pH ~ 1–2) в виде тёмноокрашенного геля. При осаждении ГК происходит межфазное разделение химически неоднородного образца ГВ по растворимости отдельных его молекул. В подкисленном растворе гумусовых кислот (при pH ~ 1–2) часть из них (в частности, ГК) теряют свою агрегативную устойчивость, что приводит к их коагуляции и, следовательно, осаждению.

В зависимости от свойств, гуминовые кислоты можно подразделить на *чёрные (ЧГК)* и *бурые (БГК)* [55, 56]. ЧГК характеризуются интенсивно чёрным цветом,

благодаря которому они придают биокосным телам очень тёмную окраску, имеют наименьшую средневзвешенную относительную молекулярную массу и наибольшую гомогенность. В сухом состоянии препараты ЧГК практически нерастворимы в воде; в состоянии свежесажённых гелей они полностью растворяются в воде. БГК придают биокосным телам бурю окраску. У БГК оптическая плотность приблизительно в 2 раза ниже, чем у ЧГК, больше относительная молекулярная масса, чем у ЧГК, а также они более гетерогенны, имеют рыхлую химическую структуру и более лиофильны. Свежесажённые гели БГК слаборастворимы в воде, при этом в сухом состоянии они несколько лучше растворимы, чем сухие ЧГК [49, 56].

Фульвокислоты (ФК) — группа гумусовых кислот, растворимых в воде, щелочах и кислотах. К ФК относят всю совокупность кислоторастворимых органических веществ, остающихся в растворе после осаждения ГК. Фульвокислоты так же, как и ГК — высокомолекулярные азотсодержащие органические кислоты, от ГК они отличаются более светлой окраской, большей окисленностью и меньшим содержанием углерода, а также большей гидрофильностью [4, 33, 49, 56, 68]. Д. С. Орлов [53] считал, что ФК появляются лишь аналитически в результате щелочного и/или кислотного гидролиза различных органических веществ, входящих в состав биокосных тел [53].

Гиматомелановые кислоты (ГМК) группа гумусовых кислот, растворимых в эталоне, имеющие тёмно-красную окраску. Единой точки зрения на генезис и классификационную принадлежность ГМК нет [4, 52].

Гумин (негидролизуемый остаток) — органическое вещество в составе биокосных тел, представляющее собой совокупность ГК и ФК, прочно связанных с минералами, а также некоторые неспецифические органические соединения (целлюлоза, хитин, лигнин, углистые частицы и др), причём ГК гумина наиболее трудно переходят в раствор при использовании общепринятых растворителей — щелочей, кислот и прочих [4, 33, 49, 56, 30].

Глава 1.3. Свойства гуминовых веществ

Гуминовые вещества — сложные по составу, природные, высокомолекулярные соединения могут быть охарактеризованы только с помощью комплекса физико-химических и физических методов [4, 33, 50, 76]. Анализ органических гетерополимеров должен включать помимо элементного состава еще содержание функциональных групп,

молекулярно-массовое распределение (ММР) и среднестатистическую молекулярную массу всего соединения, а также вещественный состав отдельных мономеров.

Элементный состав ГК, выделенных из биокосных тел и меланинов, одна из важнейших характеристик, которая используется как показатель протекания процесса гумификации, а также для суждения о степени окисленности ГК и о степени конденсированности молекул. Гуминовые вещества содержат: углерода (С) — 40–60, кислорода (О) — 30–50, водорода (Н) — 3–7, азота (N) — 1–5 массовых процентов на сухое беззольное вещество [83]. В ряду гумин — ГК — ФК в составе ГВ возрастает содержание кислорода, а содержание углерода и азота уменьшается [107].

Функциональные группы гумусовых кислот. Гуминовые вещества — неустойчивые отрицательно заряженные образования, в которых кислотные функциональные группы постепенно диссоциируют с увеличением pH [107]. В состав ГВ помимо отрицательно заряженных функциональных групп, таких как: спиртовые, фенольные и гидроксихинонные гидроксилы ($-\text{OH}$), альдегидные, кетонные и хинонные карбонилы ($>\text{C}=\text{O}$), карбоксилы ($-\text{COOH}$), метоксилы ($-\text{O}-\text{CH}_3$) входят и положительно заряженные функциональные группы: пептидные ($-\text{CO}-\text{NH}-$), азогруппы ($-\text{N}=\text{N}-$), амины ($-\text{NH}_2$, $-\text{NH}-$, $>\text{N}-$), амиды ($-\text{CO}-\text{NH}_2$), имины ($>\text{C}=\text{NH}$). Многие исследователи считали, что гумусовые кислоты — полифункциональные полиэлектролиты, а точнее полиамфолиты, которые в зависимости от pH среды ГВ, как амфолитные соединения, проявляют анионоактивные или катионоактивные свойства [4, 34, 42, 49, 50, 88].

Гуминовые вещества — гетерополимеры. Гуминовые вещества образуются в результате спонтанной полимеризации, то они, как конечные продукты этого процесса представляют собой разнообразные полимеры, имеющие разный химический состав [109].

По мнению И.В. Перминовой [51], гумусовые кислоты по химической природе представляют собой полимеры ароматических оксиполикарбонновых кислот, в структуру которых также входят азотсодержащие и углеводные фрагменты. В составе ГВ были идентифицированы различные соединения, такие как арены (бензолсодержащие), углеводы, аминоксахара, аминокислоты, жирные кислоты и другие [4, 33, 34, 49, 50, 52, 89, 107, 106].

По мнению А.И. Попова [60], гуминовые вещества в химическом отношении — нерегулярные гетерополимеры арилгликопротеидной природы (рис. 1).

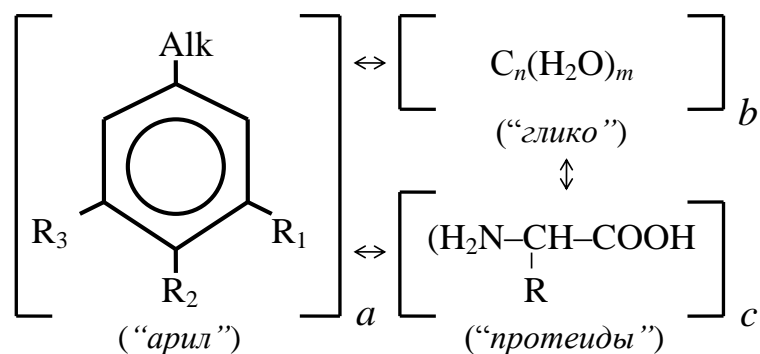


Рисунок 1. — Гуминовые вещества — арилгликопротеидные гетерополимеры (А. И. Попов, 2004): Ar-Alk — бензол-алкильный структурный фрагмент (например, фенилпропановый структурный фрагмент лигнина), где R_1 , R_2 , R_3 — заместители; a , b , c — коэффициенты пропорции гетерогенных мономеров.

По словам В. Фляйга [89], состав ГВ может меняться от набора молекул, из которых образуются ГВ (например, структурных фрагментов лигнина, состава аминокислот), от условий выделения, а также, как следствие влияния неорганических почвенных коллоидов или соединений тяжёлых металлов. Гуминовые вещества — это рандомизованные полимеры и не содержат в своем составе повторяющейся субъединицы [54, 67, 118].

Коллоидные свойства гуминовых веществ. Многие исследователи, как российские, так и зарубежные писали о том, что ГВ обладают коллоидными свойствами [5, 9, 18, 20, 22, 35, 74]. С точки зрения современной коллоидной химии [72, 71], размер диспергированных частиц находится в интервале от 1 до 1 000 нм, поэтому они являются коллоидными дисперсиями. Размер коллоидов ГВ входит в этот интервал и составляет 100–1000 нм [83]. Гуминовые вещества обладают всеми основными свойствами коллоидных поверхностно-активных соединений, в частности, электроповерхностными и поверхностно-активными.

Поверхностно-активные свойства ГВ определяются тем, что одни участки их молекул могут быть гидрофильными, а другие — гидрофобными, а их соотношение определяет свойства самого соединения и характер межмолекулярного взаимодействия вещества и среды. Органические вещества дифильного (или амфифильного) характера (имеющие и гидрофильные, и гидрофобные части молекул) способны адсорбироваться на поверхности раздела двух фаз, образуя мономолекулярный слой, и как следствие, они могут снижать поверхностное натяжение [71, 72]. Многие исследователи подтвердили экспериментально поверхностно-активный характер ГВ [14, 35, 44, 86, 97].

Одно из проявлений электроповерхностных свойств ГВ — самопроизвольное мицеллообразование (образование структурированных мицелл), которое можно наблюдать при подкислении щелочного раствора, содержащего только ГК или смесь гуминовых и фульвокислот (при концентрации ГК не менее 0,1 мг/мл по углероду) [58]. В этом случае наиболее агрегативно неустойчивая часть ГВ вследствие самопроизвольно происходящих процессов конформации выпадает в осадок [72]. При подкислении раствора, содержащего смесь ГК и ФК в концентрации выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ) система ГВ может стать агрегативно неустойчивой (системой, в которой могут самопроизвольно происходить процессы конформации и укрупнения частиц). Это происходит за счет того, что при взаимодействии в растворе ионов щелочных металлов с молекулами ГВ происходит замена ионов водорода карбоксильных групп ГВ на ионы K^+ или Na^+ , при том что гидрофильность карбоксильной группы ($-COOH$), замещенной ионом водорода, на порядок ниже таковой, но содержащей катионы натрия или калия ($-COONa$ и $-COOK$).

Ю.Г. Фролов [72] считал, что в результате, происходит увеличение гидрофильности данной функциональной группы приблизительно в 10 раз. При добавлении к щелочному раствору ГВ серной кислоты до $pH \sim 1$ катионы щелочных металлов, находящихся в карбоксильных группах, замещаются на катионы H^+ , вследствие чего происходит уменьшение гидрофильности молекул, гидрофильно-гидрофобный баланс ГВ еще больше сдвигается в гидрофобную сторону, ГВ теряют свою агрегативную устойчивость и выпадают в осадок [72].

Гуминовые вещества как редокс-соединения. Гуминовые вещества могут выступать как акцепторы электронов и протонов, и как следствие этому, они могут вступать в различные окислительно-восстановительные реакции (ОВР), что отражается на соответствующих биохимических реакциях, в первую очередь процессах дыхания и фотосинтеза. Российские исследователи считали, что ГВ, извлеченные из различных почв, способны усиливать дыхание высших растений [21, 69, 75]. По мнению И.Д. Комиссарова [32], под действием ГВ потребление кислорода листьями молодых растений увеличивалось, а в условиях засушливой погоды — уменьшалось. Л.А. Христева [75] с соавторами считали, что ГВ участвуют в активизации ферментативных систем, отвечающих за редокс-реакции.

Гуминовые вещества — окислительно-восстановительные полимеры. Гуминовые вещества относятся к окислительно-восстановительным полимерам (редокс-

полимерам), которые в 1949 году были выделены в отдельный класс [118-120]. К этому классу относятся многие природные вещества. Все живые организмы функционируют благодаря действию полимерных окислительно-восстановительных систем [31].

Редокс-полимеры — высокомолекулярные соединения, которые могут переносить или «обменивать» электроны с находящимися в контакте с ними реакционными ионами или молекулами (рис. 2). По своей природе окислительно-восстановительные полимеры — потенциальные ионообменники, это означает, что при переносе каждого электрона либо образуется (или исчезает) суммарный положительный заряд, либо исчезает (или образуется) положительно заряженный ион [31].

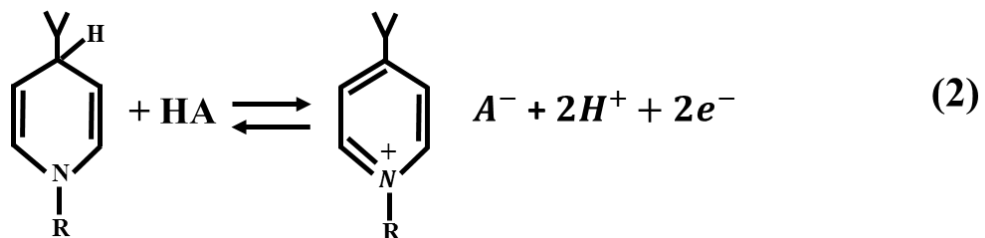
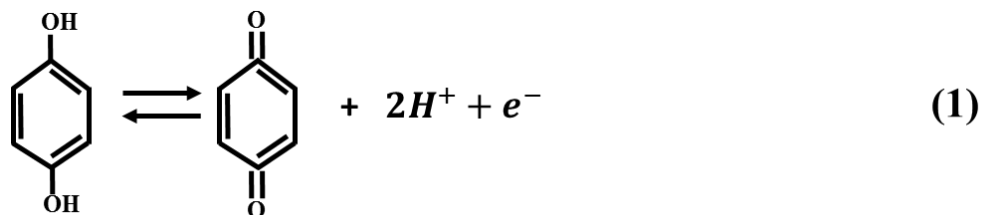


Рисунок 2. Органические окислительно-восстановительные системы

(по: Г. Дж. Кассиди, К. А. Кун, 1967): 1 — гидрохинон \leftrightarrow хинон; 2 — гидропиридин \leftrightarrow пиридин)

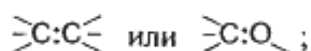
Разнообразны химические структуры окислительно-восстановительных полимеров. По мнению Г. Дж. Кассиди и К. А. Куна [31], носителями редокс-групп могут быть разнообразные физические структуры: линейные полимеры (гомополимеры); линейные сополимеры; сшитые сополимеры; инертные материалы, покрытые полимером или сополимером. Линейные и сшитые сополимеры могут представлять собой блок-полимеры, волокна, гранулы, пленки или мембраны. Иначе говоря, теми свойствами, которые Г. Дж. Кассиди и К. А. Кун [31] охарактеризуют редокс-полимеры, в полной мере обладают и ГВ.

По мнению В. Зихмана [120], гуминовые вещества представляют собой электронно-донорно-акцепторные комплексы. Гуминовые вещества могут выступать в качестве доноров и акцепторов электронов, а также участвовать в окислительно-

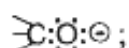
восстановительных реакциях (ОВР), т.к. содержат в своем составе специфические соединения свободных радикалов [102].

Изучая окислительно-восстановительные реакции фульвокислот, Н. Сенези и М. Шнитцер [104] показали, что они протекают в две стадии через промежуточные семихинонные радикалы, а ФК могут выступать как электронодонорные или электроноакцепторные системы. Систематизация элементарных структур ГВ основана на определенных связях, которая подразумевает специфические состояния электронов [104]. Могут быть выделены следующие состояния электронов [104]:

1) ковалентная связь, например



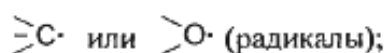
2) ионная связь



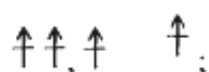
3) одиночная электронная пара



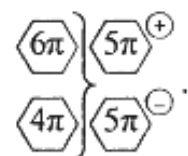
4) неспаренные электроны



5) триплеты (фосфоресценция)



6) \bar{e} -донорно-акцепторные взаимодействия



На термодинамические свойства окислительно-восстановительных полимеров влияют [31]:

1) внешние факторы: температурные и фазовые изменения;

2) условия протекания реакций: молекулярные факторы, изменение рН, растворителя, окислителя (или восстановителя), концентрации солей и их типов (эффекты комплексообразования);

3) внутримолекулярные факторы: гомологические изменения, введение заместителей и замена функциональных атомов, изменения внутримолекулярного сопряжения и силы связи в зависимости от чередования звеньев сшивания (мономеров).

Реакционная способность редокс-полимеров проявляется через окислительно-восстановительный потенциал, который чувствителен к природе редокс-группы и способен изменяться в определенных пределах. На величину редокс-потенциала оказывают влияние следующие условия среды: концентрация ионов водорода и солей электролитов, температура [31].

Гуминовые вещества — обязательная составляющая окислительно-восстановительных процессов в биокосных телах [66]. Они являются природными обратимыми окислительно-восстановительными системами, способные выступать в качестве потенциал определяющих образований [43, 106].

Глава 1.4. Строение гуминовых веществ

Модели строения гуминовых веществ отражают уровень знаний об их химических и физических свойствах. Вопрос о строении ГВ до сих пор остается одним из дискуссионных [119].

Существует несколько разных точек зрения на строение гуминовых веществ. По мнению многих российских исследователей минимальные единицы гуминовых веществ — макромолекулы с упорядоченными конденсированными ядрами и неупорядоченной периферической частью [4, 30, 33, 50, 70]. Модель А.И. Морозова и Е.М. Самойловой [33] также отражает макромолекулярное строение структурных единиц ГВ (рис. 3).

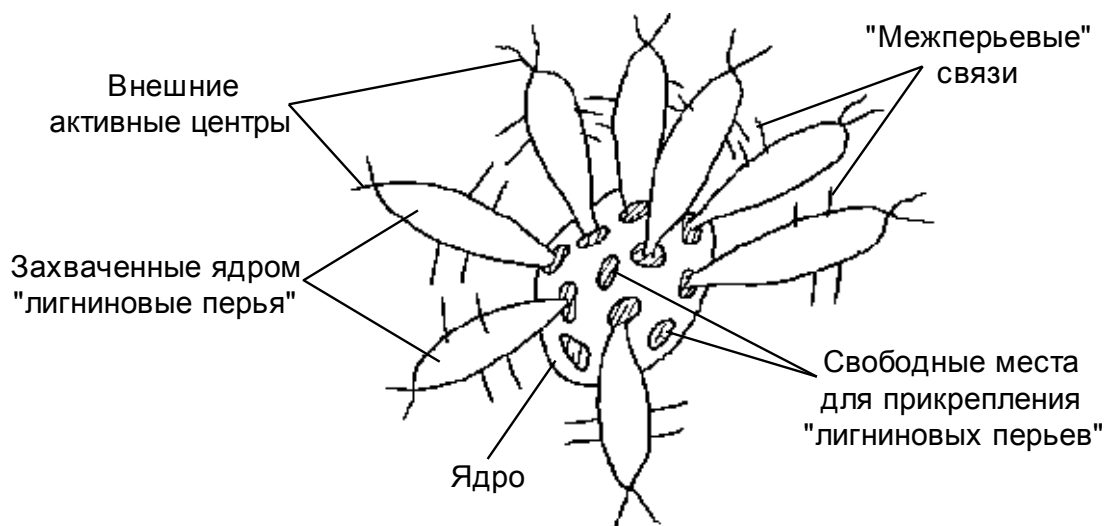


Рисунок 3. «Идиограмма» молекулы гуминовых веществ (цит по: Морозов А.И., Самойлова Е.М., 1993).

Согласно этой модели, макромолекула ГВ внешне похожа на «одуванчик»: вокруг ядра (продукты меланиногенеза грибов) расположены молекулы, образованные при трансформации лигнина, — «лигниновые перья», которые химически связаны с ядром и между собой; на «лигниновых перьях» находятся внешние активные центры, которые отвечают за агрегацию, химическую активность и связь с минеральными частицами почвы.

По мнению В. Флайга гуминовых веществ, представляют собой анионные сферические гетерополимеры [69]. Носители специфических свойств ГК — конденсированные ароматические ядра, которые соединены друг с другом цепями и имеют определенное количество сопряженных углерод-углеродных (С—С) связей, обеспечивающих свободное движение делокализованных электронов в пределах всей макромолекулы [89].

В.И. Ионенко на основе химических исследований и знаний о супрамолекулярной теории разработал концепцию о краун-клатратном строении макромолекул нативных ГВ [28]. Согласно этой теории, макромолекулы ГВ представляют собой структуру трех ступеней иерархии. Первая ступень — подвижные краун-комплексы, вторая — трубчатая клатратная структура, включающая в себя комплексы I ступени и образованная сшитой полимерной оболочкой, в которой все активные группы обращены вовнутрь, к аквагидратной оболочке комплексообразующих ионов, сгруппированных в цепочку. Третья ступень — упорядоченный квазикристаллический ансамбль элементов II ступени. Структуру гуминовых веществ на макромолекулярном уровне можно представить в виде металлорганических комплексных соединений, в которых сепарация фрагментов происходит вследствие эффекта координации [28].

Р.С. Свифт считает, что макромолекулы гуминовых веществ имеют хаотичную структуру. Такое строение ГВ объясняет беспорядочную химическую структуру, растворимость и сольватационные свойства, а также характеристики заряда этих соединений [108].

Многие авторы считали, что гуминовые вещества образуют квазимacroмолекулы, представляющие собой ассоциированные (структурированные) мицеллы, которые состоят из относительно небольших структурных единиц ГВ [17, 39, 40, 42, 86, 93, 95]. В литературе есть мнение, что наиболее вероятной молекулярной структурой ГВ является перекрестно-связанное образование, состоящее из ароматических соединений с различными функциональными группами и боковыми цепями [113].

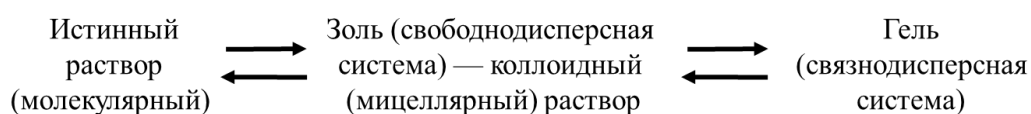
Глава 1.4.1. Гуминовые вещества — коллоидные дисперсные системы

Гуминовые вещества — дисперсные системы, то есть это образования, состоящие из двух или большего числа фаз, с развитой поверхностью раздела между ними и площадью поверхности молекул ГВ может составлять от 20 до 800 м²/г [83]. Свойства и площадь поверхности дисперсных систем зависят от природы молекул поверхностно-активных веществ, их концентрации, а также от формы и размера мицелл [65]. По мнению большого числа исследователей, [4, 7, 11, 33, 34, 49, 50], водные растворы ГВ — коллоидные растворы.

По кинетическим свойствам дисперсной фазы все коллоидные дисперсные системы можно разделить на два класса: свободнодисперсные (золи) и связнодисперсные (гели). В результате конденсации из истинного раствора может образовываться устойчивая свободнодисперсная система, в которой дисперсная фаза равномерно распределена по всему объему дисперсной среды. Водные растворы коллоидных дисперсий занимают промежуточное положение между истинными растворами и грубодисперсными системами. Жидкие коллоидные системы — золи и они характеризуются тем, что частицы дисперсной фазы находятся в состоянии броуновского движения и потому седиментационно устойчивы [50].

Потеря агрегативной устойчивости молекул, входящих в устойчивую дисперсную систему, приводит к коагуляции, первый этап которой состоит в сближении частиц и взаимной фиксации их на небольших расстояниях друг от друга. После коагуляции частиц, между ними остается прослойки среды. В результате образуются флокулы (рыхлые агрегаты, которые состоят из нескольких частиц, разделенных прослойками среды) или же коагуляционные тиксотропные структуры, отличающиеся подвижностью частиц относительно друг друга под воздействием сравнительно небольших нагрузок [50].

В результате более глубокого процесса коагуляции происходит разрушение прослоек среды и непосредственному контакту частиц. Вследствие этого образуются или жесткие агрегаты из твердых частиц, или происходит полное слияние молекул в системах с жидкой или газообразной дисперсной фазой. Изменяя условия существования дисперсных систем (например, концентрацию или температуру), можно осуществлять обратимые переходы [65]:



При малых концентрациях дифильных молекул образуются близкие к истинным растворы. Если содержание поверхностно-активных веществ становится близким к критической концентрации мицеллообразования (ККМ), то в дисперсной среде начинают формироваться структурированные мицеллы [73]. Чаще формируются сферические мицеллы, а дисперсная фаза, которая представляет собой свободнодисперсную систему, характеризуется как ультрамикрорегетерогенная, так как, ассоциаты из дифильных молекул образуют новую мицеллярную фазу. Если концентрация поверхностно-активных веществ становится выше точки гелеобразования, то система становится связнодисперсной, ввиду возникновения сплошной гелеобразной структуры из ассоциированных мицелл [73].

Глава 1.4.2. Мицеллярное строение гуминовых веществ

Дисперсные системы гуминовых веществ, обладая поверхностно-активными свойствами, при изменении содержания или химического состава дисперсионной среды также могут образовывать различные коагуляционные структуры. Например, в дисперсных системах гуминовых веществ возможны следующие преобразования: молекулярно-дисперсное состояние ↔ коагуляционная структура первого рода ↔ компактное агрегирование ↔ коагуляционная структура второго рода [41].

По мнению, М. М. Кононовой [33], отдельное существование молекул гуминовых веществ, выделенных из биокосных тел, возможно лишь в сильно щелочной среде (рН 11-12). А.А. Шинкарев [77] писал о том, что ГВ даже в щелочных растворах представляют собой сложную смесь химически неоднородных макромолекул различной величины и рода надмолекулярные образования.

В составе биокосных тел (почв, сапрпелей, торфов и др.) гуминовые вещества представлены надмолекулярными комплексами (гели или грубые дисперсии), которые связаны с минералами или с отмершими остатками растений. И.Б. Арчегова [11] писала о том, что тонкодисперсные гуминовые вещества, перемещаясь с влагой, адсорбируются минеральными коллоидами и образуют сложные и различные по характеру связей органо-минеральные соединения.

В молекулярно-дисперсионном состоянии структурные единицы гуминовых веществ находятся в водной среде (в реках, озерах, морях и др.) и при этом они обладают всеми специфическими свойствами, присущими данному классу органических веществ [114].

По величине молекулярной массы (ММ) гумусовых кислот из природных вод можно судить о размерах структурных единиц ГВ. Например, ММ ГВ из рек Колумбия и Миссисипи находится в диапазоне от 530 до 3 100 Дальтон [100]. Приведенные данные свидетельствуют об относительно небольшой ММ молекул гумусовых кислот в водных объектах.

Н.И. Лактионов [39] писал о том, что водные растворы ГВ биокосных тел свобододисперсные системы ГВ представляют собой гидрозоль и не могут быть классифицированы как типичные коллоидные системы и как типичные высокомолекулярные соединения (полимеры). Лиофильные дисперсные системы отличаются от лиофобных интенсивностью молекулярного взаимодействия фаз. Так, в лиофильных системах молекулярное взаимодействие фаз достаточно велико и поверхностное натяжение на межфазной границе очень мало. Лиофильные системы образуются самопроизвольно и характеризуются высокой дисперсностью [73]. Кроме того, в лиофильных коллоидных растворах за счет сильной сольватации обращенных к дисперсной среде лиофильных участков дифильных молекул обеспечивается сродство мицелл к раствору [65]. Исходя из этого можно сделать вывод, что ГВ — лиофильные золи и они способны образовывать устойчивые дисперсные системы.

По своей коллоидно-химической природе, гуминовые вещества — дифильные молекулы, именно поэтому за счет сил индукции они могут самопроизвольно образовывать сфероидные ассоциированные коллоидные мицеллы. В этих мицеллах структурные единицы гуминовых веществ отделены друг от друга гидратными оболочками, при этом поверхностная энергия снижается вследствие уменьшения удельной поверхности.

Некоторые исследователи [27, 41, 59, 86, 93, 97] считают, что относительно небольшие структурные единицы ГВ в водных средах образуют квазимакромолекулы в виде сферических ассоциированных (структурированных) мицелл.

Кинетические единицы коагуляционных структур первого рода — рыхлые физически и химически неоднородные ассоциаты ГВ — глобулы [41]. Размер ассоциатов гуминовых веществ, которые имеют сфероидальное строение, расположен в интервале от 6-10 до 20 нм [32, 41, 49].

По мнению Р. ван Вандруски с соавторами [116], при ассоциации гуминовые вещества образуют «псевдомицеллы», а не настоящие мицеллы, которые обычно формируются из синтетических ПАВ. Этим же автором установлено, что с увеличением

количества поверхностно-активных структурных единиц ГВ, участвующих в организации псевдомицеллярных агрегатов, в дисперсной среде происходило уменьшение концентрации «мономеров».

Структурированные мицеллы ГВ способны также «разбираться», например, при разбавлении раствора на составляющие структурные единицы [115].

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод о том, что дисперсная фаза свобододисперсных систем гуминовых веществ может представлять собой структурированные мицеллы, где молекулы отделены друг от друга сольватными оболочками. Сфероидные структуры ГВ могут быть ассоциированы в агрегаты, напоминающие мицеллярные сфероиды ГВ, которые способны образовывать разветвленные губчатого строения надмолекулярные комплексы — связнодисперсные коллоидные системы (гели).

Электроотрицательность отдельных звеньев и ассоциированных молекул гуминовых веществ способствует созданию рыхлых надмолекулярных структур ГВ [41]. Ассоциаты молекул ГВ в водной среде приобретают максимальный объем за счет внутримолекулярных электростатических сил отталкивания, а также ввиду высокой плотности отрицательного заряда [84]. Согласно результатам исследования И. И. Лиштвана [41], для связнодисперсных коллоидных систем ГВ характерно пространственное сетчатое строение.

В создании пространственного структурного каркаса дисперсных систем ГВ участвуют водородные связи и связи, образуемые при конденсации ароматических колец. Такой тип взаимодействия приводит к образованию рыхлой сети надмолекулярных комплексов. Рыхлая структура ГВ создает условия для иммобилизации значительного количества дисперсионной среды и облегчает течение процессов структурообразования [41]. В плотных структурах гуминовых веществ наряду с водородными связями имеет место быть гидрофобные взаимодействия, играющие большую роль в агрегации молекул [48]. И.И. Лиштван [48] писал о том, что чем меньше неорганических соединений в составе гуминовых кислот, тем больше энергия связи частиц друг с другом или отдельных агрегатов частиц в пространственном структурном каркасе.

В макромолекулярные цепи гуминовых веществ, формирующих матрицу, вовлечены группы сложного эфира, а образование эфирных связей должно происходить с помощью ферментов [91]. Наибольшая склонность к образованию пространственных коагуляционных структур отмечена у ГК, наименьшая у гуматов алюминия.

Формирование пространственного структурного каркаса гуминовых веществ зависит от состава поглощенных катионов и концентрации дисперсной фазы. Например, образование гелей у гуминовых кислот в H^+ -форме происходит при их содержании 5,5 %, у гуматов кальция — 7,5, а у гуматов алюминия — 11 % [41].

Дисперсная фаза связнодисперсных систем гуминовых веществ представляет собой прочно связанные между собой структурированные мицеллы (гели), образующие губчатое тело. Жесткие агрегаты ГВ образуются при высушивании свободнодисперсных и связнодисперсных систем. Высушивание зелей или гелей ГВ сопровождается потерей гидратных оболочек у структурных единиц, в результате молекулы ГВ сближаются и химически реагируют друг с другом.

Н.М. Ребачук [64] с соавторами было установлено, что при высушивании коллоидных дисперсий гуминовых веществ наблюдается частичная утрата растворимости вследствие процессов самоассоциации молекул.

По мере насыщения водных растворов ГВ неорганическими катионами золи ГВ постепенно изменяют свои коллоидно-химические свойства и агрегативную устойчивость [41]. Высушивание зелей или гелей ГВ приводит к образованию грубодисперсных систем. Именно такие системы ГВ и могут представлять собой гигантские макромолекулы, которые включают в свою структуру упорядоченные конденсированные ядра и неупорядоченную периферическую часть.

По мнению А.И. Попова [60], в ассоциированных коллоидных мицеллах гуминовых веществ, которые представляют собой сфероидные образования, можно выделить так называемые ядро и периферическую часть (рис. 4). Данный тезис согласуется с общепризнанной точкой зрения о том, что макромолекулы ГВ имеют ароматическое ядро и периферическую алифатическую часть с функциональными группами.

Ввиду того, что функциональные группы в молекуле ГВ распределены по всей длине структурных единиц [107], в ядерной части и в периферических участках ассоциатов ГВ находятся способные к диссоциации кислотные и основные функциональные группы, придающие этим соединениям свойства полиэлектролитов [38].

Функциональные группы вокруг полимера обеспечивают высокую связывающую способность с полярными соединениями (цит. по [81]). Структурные фрагменты гуминовых веществ посредством функциональных групп могут связываться между собой

с помощью металлических мостиков (рис. 4), в результате структуры молекул ГВ приобретают жесткость.

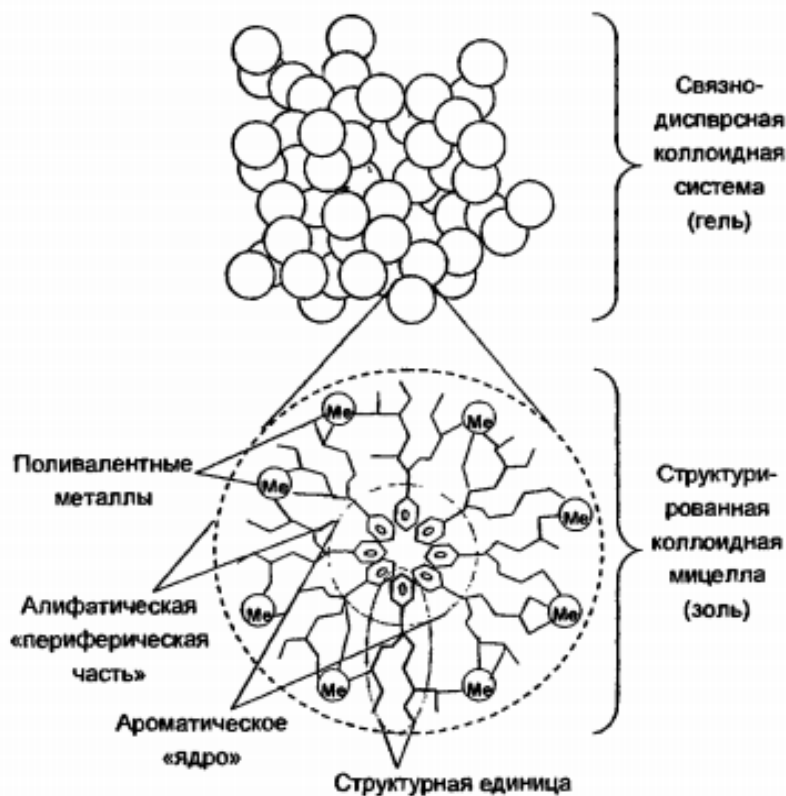


Рисунок 4. Строение структурированной мицеллы гуминовых веществ

Ароматические и алифатические фрагменты в структурной единице ГВ отвечают за гибкость молекул. Гибкие алифатические структурные блоки соединяются с жесткими кольцами бензола губчатого ядра [82, 96, 103].

Структурированные коллоидные мицеллы ГВ, реагируя друг с другом, способны образовывать связнодисперсные системы — гели или студни. Л.Н. Александрова [2] считала, что гумус представляет систему полимерных гетерогенных рядов, тесно ассоциированных друг с другом.

По мнению А.И. Попова [60], мицеллы гуминовых веществ могут взаимодействовать как с различными органическими макромолекулами индивидуальной природы (например, с лигнином), так и с минералами.

Глава 2. Объекты и методы исследования

Глава 2.1. Объекты исследования

В качестве объектов исследования для данной работы были выбраны гуминовые вещества, выделенные пирофосфатным раствором из гумусовых горизонтов следующих почв заповедника «Белогорье»:

1. Чернозёма миграционно-мицелярного среднесуглинистого на карбонатных лессовидных суглинках (Белгородская область, заповедник «Белогорье», участок «Острасьевы яры»);

2. Тёмно-серой среднесуглинистой маломощной глубококарбонатной на карбонатном лессовидном суглинке (Белгородская область, Скифское городище, правобережье Ворсклы,);

3. Серой маломощной легкосуглинистой на бескарбонатном лессовидном суглинке (Белгородская область, заповедник «Белогорье», VI квартал участка «Лес на Ворскле»).

Образцы исследованных почв были отобраны в Белгородской области, но на различных участках и относящихся к различным типам растительных сообществ (1 — степь; 2, 3 — лес), а также занимают различную позицию в рельефе.

Описание объектов исследования

1. Чернозём миграционно-мицелярный среднесуглинистый на карбонатных лессовидных суглинках

Пункт заложения: Белгородская область, заповедник «Белогорье», участок «Острасьевы яры», Юго-западный склон Среднерусской возвышенности, останец плакора, на поверхности кочки от выбросов слепышей

Растительность: разнотравно-кострицовая-олуговельная степь (*Bromopsis inermis*, *Festuca protensis*, *F. valensica*, *Poa angustifolia*, *Vupleurum faleatum*, *Agrimonia eupatoria*, *Salvia nutens*, *Falcoria vulgaris*).

Морфологическое описание разреза

Горизонт, см	Описание горизонта
AU1 (0-17)	свежий, темно-серый, заметно уплотнен за счет корней, зернисто-комковатый, средний суглинок, обильно пронизан корнями, потрескивает от HCl, переход ясный по обилию корней, граница слабоволнистая

AU2 (17-50)	свежий, темно-серый, светлее предыдущего, к нижней части интенсивность окраски уменьшается до серо-палевого, уплотнен, каштаново-ореховатый, средний суглинок, в нижней части с 45 см вскипает от HCl, с 18-33 см обратная кротовина диаметром до 20 см, переход заметный по цвету, граница слабоволнистая
BCAmc (50-95)	свежий, серый, с большими палевыми и серо-палевыми пятнами, уплотнен, непрочнокомковатый, средний суглинок, тонкие корни, по граням структурных отдельностей и корням карбонатные новообразования в виде псевдомицелия, с 82–96 см выявлена обратная кротовина диаметром 13 см, интенсивная реакция с HCl, переход постепенный
BCsa (95-170)	свежий, неоднородно окрашен, в верхней части светло-серый с серо-палевыми пятнами, палевые пятна увеличиваются к низу горизонта, уплотнен, непрочно-мелкокомковатый, средний суглинок, вскипает от HCl, по всей толще отдельные прожилки от CaCO ₃ , переход постепенный
Csa (170-195)	свежий, палевый с белесыми прожилками, уплотнен, средний суглинок, бесструктурный

2. Тёмно-серая средне суглинистая маломощная глубоко карбонатная на карбонатном лессовидном суглинке

Пункт заложения: правобережье Ворсклы, Скифское городище, ПГТ Борисовка, Белгородская область, южный склон Среднерусской возвышенности, высокая ровная поверхность водораздела.

Растительность: широколиственный лес.

Морфологическое описание разреза

Горизонт, см	Описание горизонта
AU (0–12(13))	свежий, тёмно-серый, среднесуглинистый, комковато-зернистый, уплотненный, содержит много густых корней, переход

	постепенный
AUe (12(13)–26(28))	свежий, серый с белесым оттенком, среднесуглинистый, мелкокомковатый, более плотный чем АУ1, встречаются зерна кварца, содержание корней меньше, переход ясный по окраске, граница волнистая
BEL[hh] (26(28)–48(50))	свежий, тёмно-серый с белесыми силтанами, самый тёмный в профиле, внутripедная масса (ВПМ) тёмно-бурая, тяжелосуглинистый, хорошо оструктуренный, многопорядковая мелко-ореховатая структура, плотный, встречается много корней с максимумом в нижней части горизонта, переход ясный по окраске, граница волнистая
BT (48(50)–88(90))	свежий, неоднородно окрашен, желто-бурый с буровато-серыми кутанами по граням отдельностей, ВПМ буровато-жёлтая, тяжелосуглинистый, ореховато-призматическая структура, плотный, пористый. Есть силтаны до глубины 80 см, обилие кутан. Переход постепенный, граница слабоволнистая
BCt (88(90)–120)	влажный, буровато-желтый с серовато-бурыми кутанами, менее прогумусированный, тяжелосуглинистый, призматическая структура, менее плотный, пористый, на глубине 85–95 см расположена кротовина, переход резкий, граница слабоволнистая
Cca (120–140)	влажный, желто-палевый и буро-палевый, легкосуглинистый, бесструктурный, плотный (менее плотный, чем предыдущий), наблюдаются карбонаты в виде тонких трубочек по порам, вскипает

3. Серая маломощная легкосуглинистая на бескарбонатном лессовидном суглинке

Пункт заложения: Белгородская область, заповедник «Белогорье», VI квартал участка «Лес на Ворскле», 51В-17, Юго-западный склон Среднерусской возвышенности

Рельеф: склон южной экспозиции крутизной 2°; 200 м до водораздела; порои кабанов, повышения и понижения амплитудой до 10 см.

Растительность: листопадный широколиственный лес (*Quercus robur*, *Acer platanoides*, *Tilia cordata*, *Corylus avellana*); *Asarum europium*, *Pulmonaria obscura*, *Urtica dioica*, *Lamium maculatum*, *Stellaria holostea*).

Морфологическое описание разреза

Горизонт, см	Описание горизонта
О 0-(+1)	листовые пластинки на поверхности
АУ (0-15(20))	увлажненный, темно-серый со слабым бурым оттенком, легкий суглинок, комковатая структура, уплотненный, рыхлый в верхней части из-за пороев кабанов; новообразования: отмытые зерна кварца; обильные включения корней, переход в нижележащий горизонт ясный по цвету; характер границы — волнистая
АЕL (15(20)-25(28))	увлажненный, темно-серый, темнее предыдущего, средний суглинок, комковатая структура с тенденцией к горизонтальной делимости, уплотненный, плотнее предыдущего; новообразования: более обильные отбеленные зерна кварца; включения грибного мицелия и корней (обильные), переход в нижележащий горизонт ясный по структуре и плотности; характер границы — волнистая
ВЕL (25(28)-37)	увлажненный, неоднородная окраска: бурые, темно-серые пятна с белесовато присыпкой, средний суглинок, ореховатая структура, уплотненный; новообразования: гумусово-глинистые кутаны, отмытые зерна кварца; включения: корни крупнее, чем в предыдущем горизонте. Переход в нижележащий горизонт четкий по плотности, структуре и цвету; характер границы — слабоволнистая
ВТ1 (37-72)	увлажненный, неоднородная окраска: бурые, темно-серые, белесоватые пятна, ВПМ бурая с желтоватым оттенком; средний-тяжелый суглинок, ореховато-призматическая, многопорядковая структура, плотный; новообразования: гумусово-глинистые кутаны и скелетаны; включения: корни, переход постепенный

BT2
(72-120)

увлажненный, неоднородная окраска: бурые, темно-бурые, белесоватые пятна, ВПМ желтовато-бурая; средний суглинок, крупно-призматическая, делится на агрегаты с ореховатой структурой, очень плотный; новообразования: глинистые кутаны и скелетаны; включения: корни, переход в нижележащий горизонт постепенный

BCth
(120-132)

увлажненный, желто-палевый с бурыми и белесыми пятнами; средний суглинок, призматическая структура, очень плотный; новообразования: по трещинам глинистые кутаны и силтаны; включения: единичные корни.

В таблицах 1 и 2 представлена характеристика физико-химических, химических и физических свойств исследуемых объектов.

Таблица 1

Физико-химические свойства объектов исследования

Объект исследования:	рН		Нг	S	ЕКО	V, %
	H ₂ O	KCl	мэкв./100 г почвы			
AУ (0-15(20)) серая почва на лёссовидном суглинке (лес)	6,4	5,5	5,3	21,9	27,2	80,5
AУ (0-12(13)) , тёмно-серая на карбонатном лёссовидном суглинке	6,5	5,9	3,2	27,0	30,2	89,4
AУ1 (0-17) , чернозём миграционно-мицеллярный на лёссовидном суглинке	6,4	6,0	1,2	44,2	45,4	97,4

Химические и физические свойства объектов исследования

Объект исследования:	Содержание фракции < 0,01 мм, %	ГВ, %	ППП, %	С _{общ.} , %	С _{ГК/СФК}
АУ (0-15(20)) серая почва на лёссовидном суглинке (лес)	27	4,15	8,56	3,62	1,21
АU (0-12(13)) , тёмно-серая на карбонатном лёссовидном суглинке	31	4,52	9,81	4,17	1,65
АU1 (0-17) , чернозём миграционно-мицеллярный на лёссовидном суглинке	38	5,21	10,71	3,82	1,38

Условия почвообразования на выбранной территории

Участок "Лес на Ворскле" — охраняемая 300-летняя дубрава — был расположен в окрестностях посёлка Борисовка Белгородской области на правом берегу верховий реки Ворскла.

Общая площадь участка составляет 1038 га, под охраной находится 488 га территории [122].

Климат

Участок расположен в лесостепной зоне суббореального пояса. Климат — умеренно-континентальный с тёплым летом и умеренно — мягкой зимой. Особенность зоны — неравномерное распределение осадков, как в разные годы, так и в течение одного года [79, 123]. В таблице 3 указаны основные климатические показатели для лесостепной зоны.

Основные климатические показатели лесостепной зоны в целом.

Среднегодовая t°С	Средняя t°С января	Средняя t°С июля	Сумма активных t°С	Осадки, мм/год	КУ
+8,8	-4 – -8	+18 – +22	2450-3200	450-700	0,6-1,2

Снежный покров распределен неравномерно (сдувается в отрицательные формы рельефа), лежит 3–4 месяца и имеет мощность до 25 см. Почвы за зимний период могут промерзнуть на глубину до 20 см.

Большая часть осадков выпадает в летний период и имеет ливневый характер. Увлажнение территории можно назвать неравномерным и нерегулярным [61].

Мезорельеф заповедника определяет особенности климата. Так, для склонов южной экспозиции характерно более высокое поступление солнечной радиации и более быстрое снеготаяние, на склонах северной экспозиции происходит более интенсивное промачивание почвенного профиля.

Таким образом, климат создаёт оптимальные условия для формирования тёмно-серых и серых почв на территории заповедника [61].

Рельеф

Территория участка "Лес на Ворскле" располагается на юго-западном склоне Среднерусской возвышенности с максимальными абсолютными отметками 200–250 м. Мезорельеф — увалисто-долинно-балочный и состоит из следующих компонентов: увалы (вытянутые плоские или слабовыпуклые возвышенности с плоскими склонами) и речные долины [61].

Местоположение разреза тёмно-серой среднесуглинистой маломощной глубоко карбонатной почвы и серой маломощной легкосуглинистой почвы в рельефе приурочены к ровной поверхности водораздела. Разрез чернозёма миграционно-мицелярного среднесуглинистого приурочен к останцу плакора.

Гидрографическая сеть

Основным элементом гидрографической сети является река Ворскла, являющаяся притоком Днепра. Правый "нагорный" берег обрывистый, изрезан оврагами, возвышается над уровнем реки на 50–70 м. Левый берег пологий, на нём отчётливо выделяются

надпойменные террасы и пойма. На территории заповедника располагаются два её притока — Готня с Локней (правые) и Гостинка (левый).

Глубокая расчленённость рельефа гидрографической сетью, наличие больших перепадов высот, крутых склонов приводит к развитию водной эрозии, которая способствует формированию современных форм рельефа: оврагов и балок. Овраги (по-местному — яры) — узкие крутостенные ложбины, обычно ветвящиеся в верховьях, с голыми незадернованными бортами. Балки (поздняя стадия развития оврага) — сухие или с временным водотоком долины с полого-вогнутым дном, с выпуклыми задернованными склонами [123].

Почвообразующие породы

Среднерусская возвышенность располагается в пределах Русской платформы, в основании которой залегают граниты, гнейсы, кристаллические сланцы и кварциты [123].

Дочетвертичные (коренные) породы.

С глубины 57 м от поверхности залегает толща писчего мела. На территории участка "Лес на Ворскле" мелоподобные отложения не вскрываются выше абсолютной отметки 140 м и не являются почвообразующей породой [61].

Над мелом лежит мощная толща песчаных или супесчаных отложений зеленоватой либо оливковой окраски, обусловленной наличием в них глауконита – олигоценые супеси.

Локально олигоценые супеси перекрыты незначительной (2-5 м) толщиной красновато-бурых и коричневых тяжёлых суглинков или глин континентального (но на данное время не совсем ясного с точки зрения их генезиса) происхождения, приуроченных к наиболее повышенным участкам коренного берега.

Четвертичные отложения.

Практически повсеместно коренные породы перекрыты сплошным чехлом четвертичных отложений. К ним относят лёссы и лессовидные суглинки. Лёсс — порода палевого цвета, пористая (до 25 % от объёма), с содержанием частиц крупной (0,05–0,01) и средней (0,01–0,005) пыли до 50 и 20 % соответственно. Мощность лессовидных пород на водоразделах достигает 10 м, на склонах — уменьшается или вовсе отсутствует [61].

Четвертичные породы представлены также древнеаллювиальными песками. Эти светлоокрашенные мелко или среднезернистые пески, на 90 % состоящие из кварца. Они распространены по речным долинам на борových террасах.

Также на территории заповедника встречаются двучлены и овражно–балочные наносы.

Объекты исследования: чернозём миграционно-мицелярный среднесуглинистый и тёмно-серая средне суглинистая маломощная глубоко карбонатная почвы, сформированы на карбонатных лёссовидных суглинках, а серая маломощная легкосуглинистая почва на бескарбонатном лёссовидном суглинке.

Растительность

Для дубравы заповедника "Белогорье" участка "Лес на Ворскле" преобладающим растительным сообществом являются широколиственные леса. Основным типом леса является липово–дубняк осоково–снытевый. В некоторых кварталах сохранились 300–летние дубравы. Главными древесными породами 1 яруса являются дуб черешчатый (*Quercus robur*), липа мелколистная (*Tilia cordata*), ясень обыкновенный (*Fraxinus excelsior*), клён платанолистный (*Acer platanoides*), вяз гладкий (*Ulmus laevis*), вяз шершавый (*Ulmus glabra*). Изредка встречается осина дрожащая (*Populus tremula*), сосна обыкновенная (*Pinus silvestris*). 2 ярус образуют дикая яблоня (*Malys silvestris*), дикая груша (*Pyrus communis*), клён полевой (*Acer compestre*). Из кустарников распространены, хотя и не образуют ярус подлеска, бересклет европейский (*Euonymus europea*), бересклет бородавчатый (*Euonymus verrucosa*), боярышник согнутостолбиковый (*Crataegus curvisepala*) [122].

Характерным элементом дубравы является травяной покров. Распространены сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria*), копытень европейский (*Asarum europaeum*), медуница неясная (*Pulmonaria obscura*), фиалка удивительная и приятная (*Viola mirabilis*, *V. suavis*), крапива двулистная (*Urtica dioica*), яснотка (*Lamium maculatum*), звездчатка ланцетовидная (*Stellaria holostea*).

Существенным фактором, влияющим на растительное сообщество, является популяция кабанов. Животные в поисках пищи буквально распахивают лес, поэтому распространённое явление - порои кабанов. Таким образом проективное покрытие травяно-кустарничкового яруса становится настолько мало, что формируются мёртво-покровные сообщества [61].

Почвенные разрезы тёмно-серой средне суглинистой маломощной глубоко карбонатной почвы и серой маломощной легкосуглинистой почвы были заложены под широколиственным лесом.

Растительность чернозёма миграционно-мицелиарного среднесуглинистого представлена разнотравно-кострицовая-олуговелым сообществом.

Почвенный покров

Для дубравы наиболее характерными являются серые почвы и темно-серые, формирующиеся на лессовидных суглинках. Серые почвы характеризуются наличием серогумусового аккумулятивного горизонта. В условиях активного поступления органического материала в виде листового опада и травяного опада формируется серогумусовый горизонт, хоть и не особо мощный. Это связано с преобладанием дубового опада, в котором содержится большое количество дубильных веществ, препятствующих процессам гумификации. Хорошее увлажнение территории и высокая инфильтрация почв способствуют образованию субэлювиального горизонта, вещество которого переносится в нижележащий текстурный горизонт [79].

Антропогенный фактор

На данной территории антропогенный фактор не является преобладающим, так как дубрава является заповедником и запрещена для посещения людей без специальных документов, разрешающих деятельность на территории заповедника.

Глава 2.2. Методы исследования

В ходе выполнения выпускной квалификационной работы исследуемые почвенные образцы были характеризованы рядом методов:

1. Морфогенетическое описание исследованных почв;
2. Аналитически определены физико-химические свойства в образцах исследуемых объектов:
 - гранулометрический состав пипет-методом по Качинскому;
 - содержание гигроскопической влаги (ГВ) — термостатно-весовым методом (при 105° С);
 - потери при прокаливании — прокаливанием в муфеле при 900° С.
 - содержание углерода органических соединений — по Тюрину;
 - содержание обменных Ca^{2+} и Mg^{2+} — титрометрически;
 - величина суммы обменных оснований — по Каппену;
 - значения $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ и pH_{KCl} — потенциометрически;

- углерод органического вещества в водных растворах — по Цыплёнку-Попову (Абакумов, Попов, 2005);
- групповой состав гумуса — по Кононовой-Бельчиковой.

Для данных определений использовались следующие методологические указания: «Физика почв» [63] и «Руководство по химическому анализу почв» [10], а также методические указания по химии почв [2, 46].

3. Непосредственное выделение гуминовых веществ щелочным раствором пирофосфата натрия.
4. В исходных растворах ГВ определялись показатели: молекулярно-массовое распределение (с помощью плоскостной гель-фильтрации), порог агрегативной неустойчивости и размер ассоциатов.

Пробоподготовка почвенного образца:

- *Для определения органического углерода и азота:* проба массой 5 г тщательно отделялась от включений и новообразований, а затем растиралась в фарфоровой ступке фарфоровым пестиком и просеивалась через сито с диаметром 1 мм (для разделения скелетной части и мелкозема) и затем через сито с диаметром равным 0,25 мм (для получения однородного почвенного образца);
- *Для физических показателей* использовалась почва, просеянная через сито диаметром 1 мм, тщательно отделенная от включений и новообразований [10].

Гранулометрический состав пипет-методом по Качинскому: метод основан на распределении по размеру частиц с учетом удельной массы. Навеска почвы массой 10 г смачивалась 4 % раствором пирофосфата натрия, перемешивали и переносили в стеклянный цилиндр $V=1000$ мл через сито с диаметром отверстий = 0,25 мм, которое было помещено в стеклянную воронку. Объем в цилиндре довели до 1000 мл дистиллированной водой и отбирали пробы с определенной глубины через определенные промежутки времени. Определялась только фракция $<0,001$ мм. Далее пробы доводились до постоянного веса в термостате при $t=105^{\circ}\text{C}$.

Определение гигроскопической влаги (ГВ): в стеклянные бюксы помещалась навеска воздушно-сухой почвы равная 1 г и доводилась до постоянного веса с помощью прокаливании в термостате ($t = 105^{\circ}\text{C}$) и взвешивания на аналитических весах [46].

Определение потери при прокаливании (ППП) — убыль/изменение массы почвы при нагревании до $t=900^{\circ}\text{C}$. В доведенный до определенного веса тигель помещают

навеску почвы массой 1 г и доводят до постоянного веса с помощью прокаливания в муфеле ($t = 900^{\circ}\text{C}$) и взвешивания на аналитических весах [46].

Содержание углерода органических соединений – по Тюрину: из почвенной пробы с диаметром частиц 0,25 мм в сухую термостойкую (ТС) колбу берут навеску 0,1 г, добавляют 10 мл хромовой смеси из бюретки (0,4н раствор дихромата калия на H_2SO_4), закрывают «слезкой» и помещают в термостат ($t=150^{\circ}\text{C}$; 20 минут). После вынимают и остужают колбы, обмывают «слезку» H_2O и добавляют 5 капель 0,2% раствора фенилантраниловой кислоты и далее титруют 0,2н раствором соли Мора до перехода лилово-бурой окраски в изумрудно-зеленую, не исчезающей в течение 1 минуты [33].

Содержание обменных Ca^{2+} и Mg^{2+} :

- *Вытеснение Ca^{2+} и Mg^{2+} в раствор:* на технических весах берут навеску почвы 5 г и помещают в фарфоровую чашку, заливают 1 н. раствором NaCl при $\text{pH} = 6,5$, перемешать и оставить на ночь. Затем фильтруют, при этом многократно обрабатывая NaCl до объема фильтрата 300 мл и проводят реакцию на полноту вытеснения Ca^{2+} (нагревание 5 мл фильтрата + 1 капля 4 % раствора оксалата аммония + 10 % CH_3COOH).
- *Определение ΣCa^{2+} и Mg^{2+} :* отбирают пробы по 50 мл и разбавляют в 2 раза H_2O дистиллированной, добавляют 5 капель раствора гидроксилamina, 3 капли раствора Na_2S и 5 мл хлоридно-аммиачного буфера, а также индикатор — хромоген черный. Полученный раствор титруют 0,05н раствором трилона Б до перехода окраски из ярко-розовой в ярко-голубую.
- *Определение Ca^{2+} :* отбирают пробы по 50 мл и разбавляют в 2 раза H_2O дистиллированной, добавляют 5 капель раствора гидроксилamina, 3 капли раствора Na_2S и 10% KOH , а также индикатор — мурексид. Полученный раствор титруют 0,05н раствором трилона Б до перехода окраски из ярко-розовой в фиолетово-розовую.
- *Определение Mg^{2+} :* вычисляется по разнице между суммой и содержанием Ca^{2+} (Аринушкина, 1970).

Величина суммы обменных оснований по Каппену: навеску почвы диаметром частиц 1 мм массой 20 г помещают в коническую колбу и приливают 100 мл 0,1 н. раствора HCl , оставляют на сутки. По прохождении суток, суспензию фильтруют через складчатый фильтр и пипеткой отбирают 10 мл фильтрата, добавляют 2 капли фенолфталеина и титруют 0,1н раствором NaOH до слабо-розовой окраски [10].

Определение рН (водной и солевой):

- Для измерения pH_{H_2O} : к 10 г почвы приливают 25 мл дистиллированной воды, взбалтывают и в полученную взвесь помещают электрод рН-метра, фиксируют данные;
- Для измерения pH_{KCl} : к 10 г почвы приливают 25 мл 1 н. раствора KCl, взбалтывают и в полученную взвесь помещают электрод рН-метра, фиксируют данные [46].

Выделение гуминовых веществ проводилось по методу Кононовой-Бельчиковой [33]. Для этого 20 г почвы помещают в коническую колбу на 500 мл и добавляют 200 мл свежеприготовленного раствора смеси 0,1М $Na_4P_2O_7$ + 0,1н NaOH. Колбу плотно закрывают пробкой, размешивают и оставляют на сутки. Полученную пирофосфатную вытяжку гумусовых кислот (ГК) отфильтровывают в сухую колбу, после чего осаждали гуминовые кислоты при $pH = 1$. Разделение гумусовых соединений на ГК и ФК не производилось.

Определение углерода органического вещества в водных растворах. Данное определение выполнялось по методу В.П. Цыпленкова и А.И. Попова (1979) с колориметрическим окончанием. Анализ выполнялся следующим образом: 5 мл раствора, содержащего органические соединения, помещали в пробирку объёмом 50 мл, добавляли 200 мг сухого дихромата калия, перемешивали и после полного растворения из бюретки приливали 5 мл концентрированной H_2SO_4 . Исследуемую пробирку с получившейся смесью помещали в термостат ($t = 140^\circ C$; 20 минут). После истечения времени, пробирки вынимали из термостата, остужали. Углерод определялся на фотоэлектроколориметре (ФЭК) на оранжевом светофильтре с шириной кюветы 10 мм при длине волны 590 нм. Калибровка готовилась на основе глюкозы [33].

Определение молекулярно-массового распределения (с помощью плоскостной гель-фильтрации в толстом слое ($h = 1$ мм)). Молекулярно-массовое разделение ГВ проводилось на декстрановом геле марки Сефадекс G-50 (тонкий) — позволяет разделить органические молекулы на фракции с молекулярными массами, которые лежат в пределах от 1500 Да до 30 кДа.

Сефадекс — декстрановый гель, получаемый на основе полисахарида, который продуцирует особый вид бактерий. Сущность данного метода заключается в разделении молекул по их эффективному диаметру за счёт диффузионного обмена между подвижной (элюент) и неподвижной (находящейся в порах гелей) жидкими фазами. Молекулы разделяемого вещества, размеры которых малы по сравнению с порами геля, свободно

диффундируют во всем объеме матрицы геля (чем меньше молекулы, тем дольше они задерживаются); крупные молекулы в поры геля не проникают и остаются во внешнем объеме элюента, расположенном между отдельными гранулами геля [51].

Для компенсации гидрофильно-гидрофобного и электростатического взаимодействия, которые, по мнению И.В. Перминовой [54], могут возникать между гумусовыми кислотами и матрицей геля и существенно влиять на получаемые результаты, в качестве элюента в данном анализе был использован 0,05 М раствор фосфатного буфера (рН ~ 8) с добавлением мочевины в количестве, позволяющем получить 6 М раствор.

Фракционирование гуминовых веществ проводилось на плоской пластине, на которую ровным слоем (в 1 мм) наносился гель Sephadex G-50 sf. В качестве элюента был использован 0,05 М раствор трис-буфера (2-амино-2-(гидрометил)-1,3 пропандиол) с уксусной кислотой (рН ~ 8) с добавлением неионного детергента Тритон Х-100 (0,1 %) для предотвращения сорбции гуминовых веществ на геле [78]. В качестве маркирующей пробы использовалась смесь дихромовокислого калия и черной туши. Раствор гумусовых кислот наносился на гель с помощью пипетки объемом в 100 мкл. Результаты хроматографии фиксировались с помощью цифрового фотоаппарата. Затем с помощью программы Adobe PhotoShop определялась оптическая плотность и площадь хроматографических зон, на основании чего и вычислялась средневзвешенная молекулярная масса.

Определение порога агрегативной неустойчивости (ПАН). Устойчивость к агрегации (агрегативная устойчивость) дисперсной системы определяют по скорости коагуляции.

В нагретый до 80°C раствор $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, доведенный до рН ~ 1 добавлялось по 5 мл, исследуемых пирофосфатных вытяжек ГВ до появления лёгкого осадка. Минимальное количество ГВ соответствовало величине ПАН (мг С/л).

Формула для расчета порога агрегативной неустойчивости (ПАН):

$$\text{ПАН} = \frac{C_{\text{ПВ}} \cdot V_2}{V_1}, \text{ мг/мл,}$$

где $C_{\text{ПВ}}$ — концентрация углерода в пирофосфатной вытяжке ГВ, мг/мл; V_1 — объем подкисленного пирофосфата, в который добавлялась исследуемая вытяжка, мл; V_2 — объем исследуемой вытяжки, при котором произошла потеря агрегативной неустойчивости системы ГВ, мл.

Определение размера структурированных коллоидных мицелл ГВ (размер ассоциатов) проводили с помощью универсального лазерного дифракционного анализатора размера частиц SALD-2201 фирмы Shimadzu (Япония), комплектованного ёмкостной кюветой.

Все выполненные физико-химические исследования проводились в пяти параллельных определениях, а в представленных данных взято усредненное значение.

Глава 3. Результаты исследования и обсуждение

На основании результатов исследования, получено, что усредненная ММ ГВ, выделенных из серой и тёмно-серой почв была равновеликой и отличалась от таковой чернозёма (рис. 5). То есть, при введении неионного детергента в раствор ГВ не происходило образование структурированных мицелл, а тем более макромолекул.

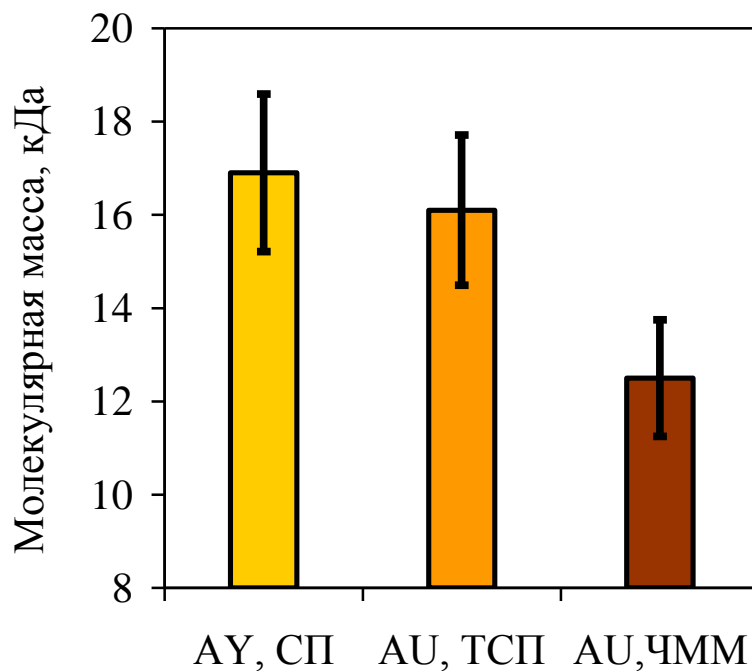


Рисунок 5. Усредненная молекулярная масса (ММ) ГВ

Выявлено, что при подкислении растворов ГВ до pH ~ 1, быстрее всего теряли свою агрегативную устойчивость ГВ из тёмно-серой почвы и чернозёма (рис. 6). Иными словами, ГВ выпадали в осадок только при концентрации выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ).

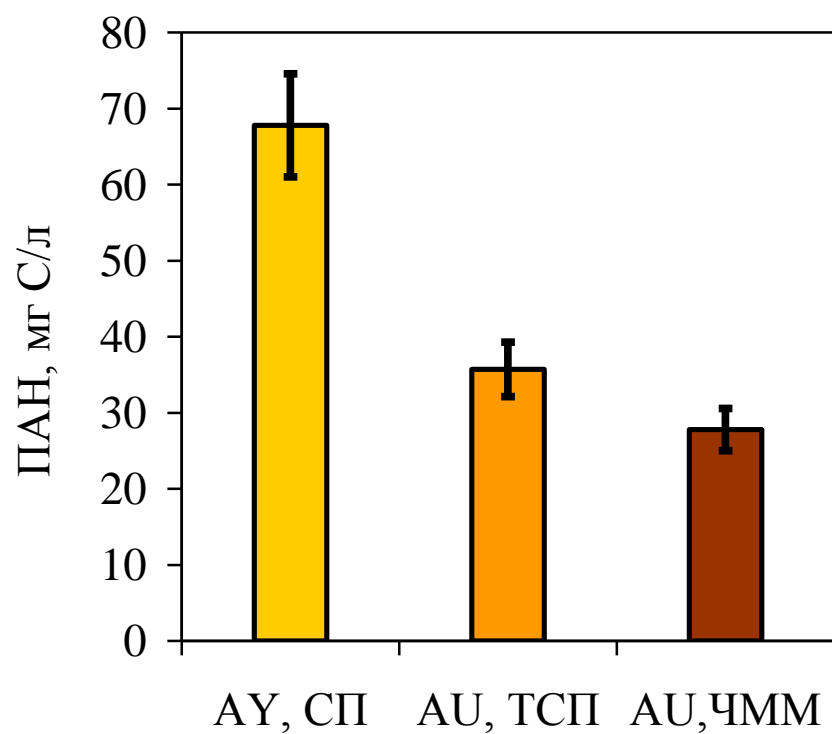


Рисунок 6. Порог агрегативной неустойчивости (ПАИ) ГВ

Установлено, что при подкислении растворов ГВ происходит образование надмолекулярных ассоциатов — больше 1 мкм, то есть больше размерности коллоидов — 1–1000 нм (рис. 7). Иначе говоря, если считать, что часть ГВ (только гуминовые кислоты) являются кислотонерастворимыми соединениями, то образовывался бы некрупный, в пределах коллоидных систем, осадок размером, не превышающим 1000 нм. В силу того, что произошло образование ассоциатов надмолекулярного размера – свыше 7,5 мкм, то можно констатировать, что произошло формирование супрамолекулярных соединений, что подтвердило нашу рабочую гипотезу.

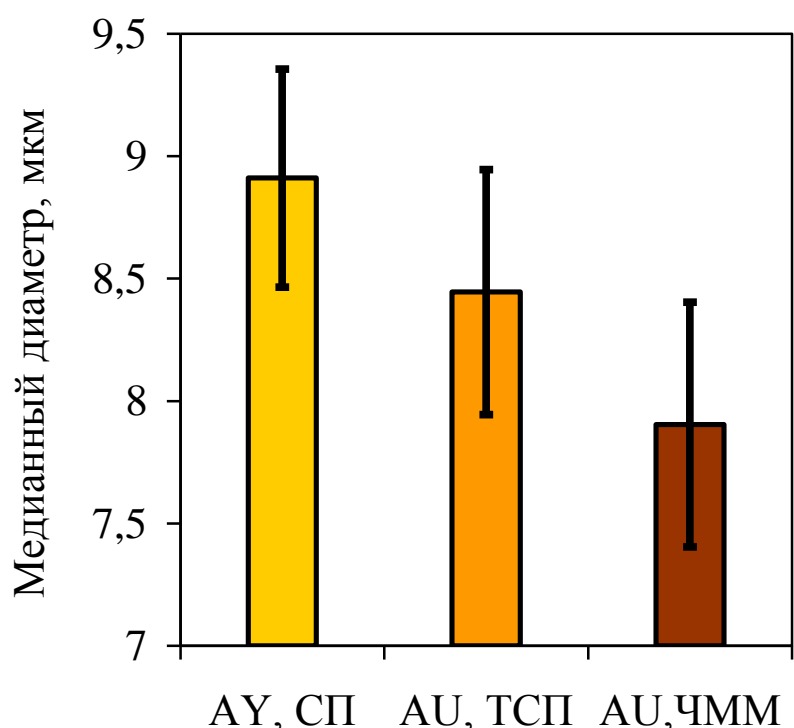


Рисунок 7. Усредненный размер структурированных коллоидных мицелл ГВ, мкм

Как известно [45], молекулы гуминовых веществ —дифильны, то есть одна часть молекул гидрофильна, а другая — гидрофобна (липофильна).

Образование гуминовых надмолекулярных комплексов определяется размерами и амфифильностью молекул, из которых они собираются. Одна из важных характеристик коллоидных ПАВ — гидрофильно-липофильный баланс (ГЛБ) — соотношение между гидрофильными свойствами полярной группы и липофильными свойствами углеводородного радикала. Именно ГЛБ определяет агрегативную устойчивость коллоидов, включая ГВ. Гидрофильно-липофильный баланс зависит от состава и

структуры ПАВ, в частности, от соотношения между гидрофильными фрагментами (например, полярными группами) и липофильными фрагментами (например, углеводородными радикалами). Каждая структурная единица вносит свой вклад в ГЛБ. Так, гидрофильными группами являются $=N-$, $-NH-$, $-NH_2$, $-OH$, $>C=O$, $-COOH$, $-COONa$ и $-COOK$, а липофильными (гидрофобными): $=CH-$, $-CH_2-$, $-CH_3$ и $=C=$ [72, 40 а].

Исходя из компонентного состава ГВ, гидрофобные свойства могут быть обусловлены наличием в их составе как углеводородных фрагментов (алканов и алкенов), так и бензол-углеводородных соединений (аренов). Гидрофильные свойства гуминовых веществ определяются наличием полярных функциональных групп (спиртовых и фенольных гидроксидов, карбоксидов, карбонидов и др.). Благодаря кислотной природе, ГВ могут выступить в качестве ПАВ [72, 73].

Для количественной характеристики соотношений гидрофильных и липофильных свойств молекул гуминовых веществ, можно использовать понятие гидрофильно-липофильного баланса или чисел ГЛБ. В настоящее время не существует теории, позволяющей определить значение ГЛБ [72, 40а].

Числа ГЛБ различных ПАВ вычисляются по специальным формулам как сумма групповых чисел. Чем больше в молекуле ПАВ преобладает гидрофильная часть над гидрофобной, иначе говоря, чем больше баланс сдвинут в сторону гидрофильности, тем выше число ГЛБ. Числа ГЛБ для всех известных ПАВ составляют шкалу («шкала Гриффина») от 1 до 40. Число 10 — приближенная граница между липофильными и гидрофильными ПАВ [72, 40 а].

Существует ряд методов расчета чисел ГЛБ. Несмотря на то, что шкала ГЛБ является достаточно условной, эти числа широко используются для характеристики ПАВ [72, 40 а]. В нашей работе был использован метод Дэвиса. Этот метод основан на том, что величина ГЛБ складывается аддитивно из инкрементов групп, входящих в молекулу ПАВ. Можно вычислить групповые числа для различных полярных и неполярных групп, комбинируя которые можно рассчитать ГЛБ всей молекулы ПАВ по уравнению:

$$\text{ГЛБ}_{\text{ПАВ}} = 7 + \Sigma(\text{ГЛБ})_{\text{г}} + \Sigma(\text{ГЛБ})_{\text{л}},$$

где $\Sigma(\text{ГЛБ})_{\text{г}}$ — сумма чисел ГЛБ всех гидрофильных групп; $\Sigma(\text{ГЛБ})_{\text{л}}$ — сумма чисел ГЛБ всех липофильных групп. Для большинства функциональных групп значения и чисел ГЛБ приведены в таблице 3.

Числа ГЛБ

Гидрофильные группы	ГЛБ	Липофильные группы	ГЛБ
-COONa	19,1	-CH ₂ -	-0,475
-COOK	21,1	-CH ₃	-0,475
-COOH	2,1	-CH=	-0,475
-N (третичный амин)	9,4	-(CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -O-)	-0,62
-N (четвертичный амин)	9,4	-(CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -O-)	-0,15
Сложный эфир (свободный)	2,4		
-OH (свободный)	1,9		
-O-	1,3		
-(CH ₂ -CH ₂ -O-)	0,33		

На основании существующих моделей строения ГВ Ф.Дж. Стивенсона [106], К. Стилинка [116а] и М.А. Мирзы с соавторами [85а] (см.: рис 8-10) были рассчитаны числа ГЛБ для молекул в кислотной (-COOH) и щелочной (-COONa) (рис. 11). Получено, что числа ГЛБ после насыщения карбоксильных групп ионами натрия (щелочная среда) по сравнению с протонированными мономерами ГВ возросло для модели Ф.Дж. Стивенсона в два раза, для модели К. Стилинка — в три раза, для модели М.А. Мирзы с соавторами — почти в четыре раза. Иначе говоря, в щелочном растворе ГЛБ ГВ сильно сдвигается в гидрофильную сторону, а в кислотном — в гидрофобную (липофильную). Поэтому в кислой среде и происходит потеря агрегативной неустойчивости ГВ.

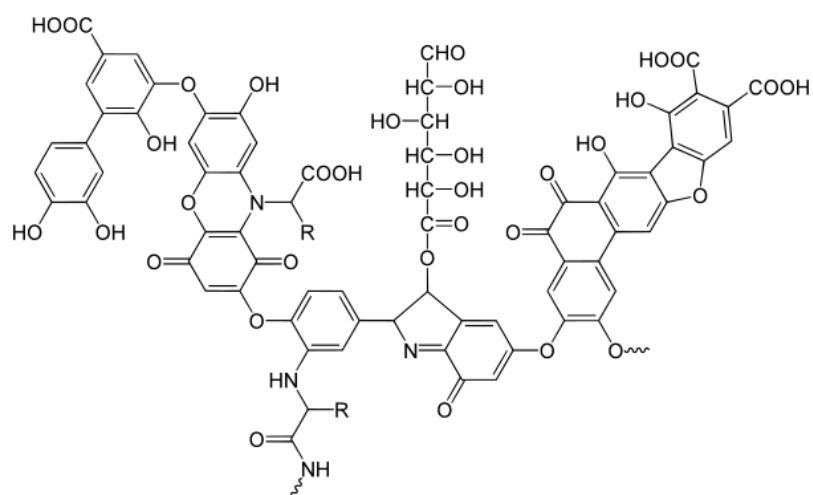


Рисунок 8. Модель строения мономера ГВ Ф. Дж. Стивенсона (цит. по: von Stevenson F.J., 1994).

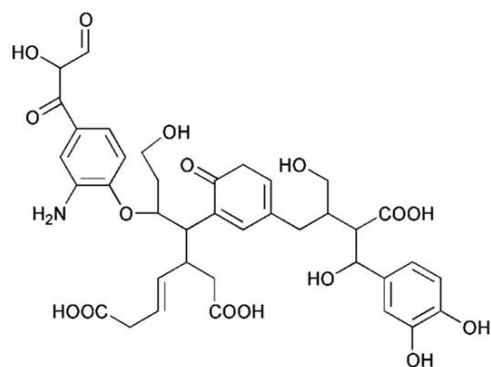


Рисунок 9. Модель строения мономера ГВ К. Стилинка (цит. по: von Wandruszka R., 2000).

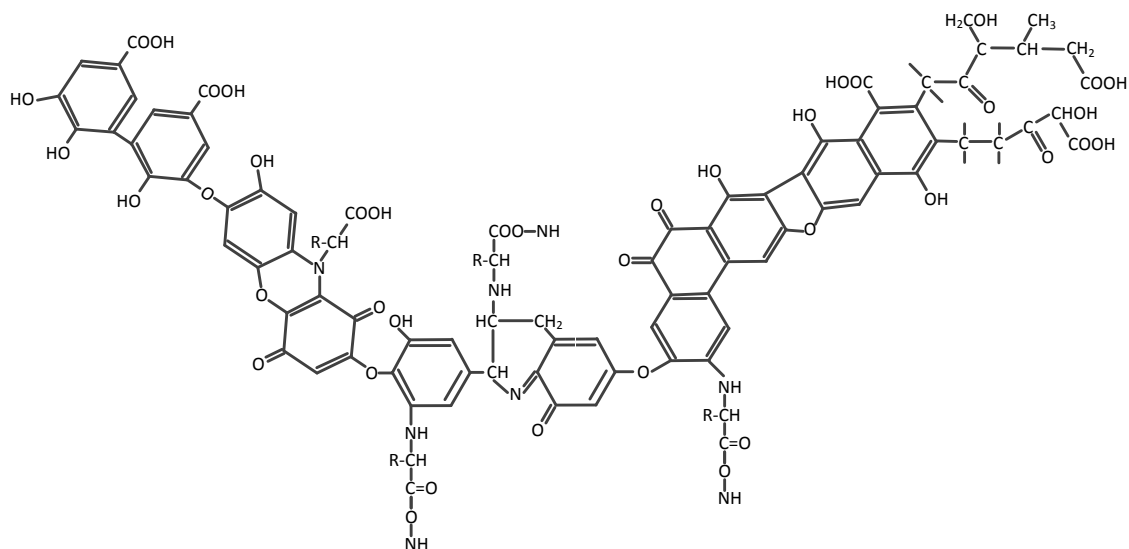


Рисунок 10. Модель строения мономера ГВ М.А. Мирзы с соавторами (цит. по: de Melo V.A.G., 2016).

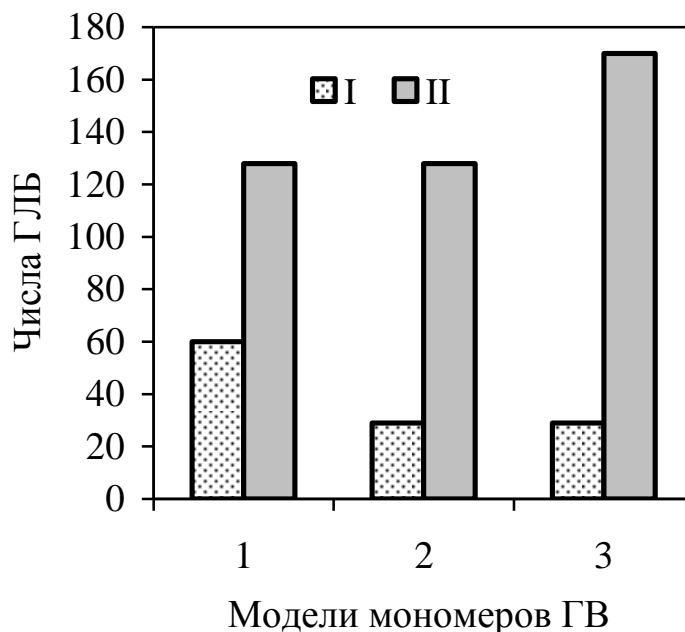


Рисунок 11. Значения ГЛБ, рассчитанных для разных моделей строения мономеров ГВ Ф. Дж. Стивенсона (1), К. Стилинка (2) и М.А. Мирзы с соавторами (3):
I — кислая среда и II — щелочная среда.

Таким образом, усредненная молекулярная масса гуминовых веществ, выделенных из серой и тёмно-серой почв была равновеликой и отличалась от таковой чернозёма. Молекулярная масса исследуемых гуминовых веществ находилась в диапазоне от 12,5 до 17 тысяч Дальтон.

При подкислении растворов гуминовых веществ до рН ~ 1, быстрее всего теряли свою агрегативную устойчивость гуминовых веществ из тёмно-серой почвы и чернозёма, то есть, ГВ выпадали в осадок только при концентрации выше ККМ и сдвиге ГЛБ в гидрофобную сторону.

Установлено, что при подкислении растворов ГВ происходит образование надмолекулярных ассоциатов — свыше 7,5 мкм и можно констатировать, что произошло формирование супрамолекулярных соединений, что подтвердило нашу рабочую гипотезу.

Выводы

1. Получено, что усредненная молекулярная масса ГВ, выделенных из серой и тёмно-серой почв была равновеликой и отличалась от таковой чернозёма. Молекулярная масса исследуемых ГВ находилась в диапазоне от 12,5 до 17 тысяч Дальтон.
2. Выявлено, что при подкислении растворов ГВ до рН ~ 1 , быстрее всего теряли свою агрегативную устойчивость ГВ из тёмно-серой почвы и чернозёма, то есть, ГВ выпадали в осадок только при концентрации выше критической концентрации мицеллообразования и сдвиге гидрофильно-липофильного баланса в гидрофобную сторону.
3. Установлено, что при подкислении растворов ГВ происходит образование надмолекулярных ассоциатов – свыше 7,5 мкм, то можно констатировать, что произошло формирование супрамолекулярных соединений, что подтвердило нашу рабочую гипотезу.

Список литературы

1. Абакумов Е.В., Попов А.И. Определение в одной пробе почвы углерода, азота, окисляемости органического вещества и углерода карбонатов // Почвоведение. 2005. № 2. С. 186-194.
2. Александрова Л. Н., Найденова О. А. Лабораторно-практические занятия по почвоведению. Л., 1986.
3. Александрова Л. //., Надь М. О природе органо-минеральных коллоидов и методах их изучения// Почвоведение. 1958. № 10.
4. Александрова Л. Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации. Л., 1980.
5. Александрова Л. Н. О природе перегноя// Записки Ленингр. с.-х. ин-та. Вып. 9. Л.; Пушкин, 1955.
6. Александрова И. В. О физиологической активности гумусовых веществ и продуктов метаболизма микроорганизмов // Органическое вещество целинных и освоенных почв. М., 1972.
7. Александрова Л. Н. Процессы гумусообразования в почве// Гумусовые вещества почвы (их образование, состав, свойства и значение в почвообразовании и плодородии)/ Там же. Т. 142. Л.; Пушкин, 1970.
8. Алёшин С.Н., Тюнеева Т.Н. О питании растений молекулярными органическими соединениями почвы // Известия Моск. с.-х. акад. им. К. А. Тимирязева. 1956. Вып. 2 (12). С. 231–232.
9. Антипов-Каратаев И. Н., Келлерман В. В., Горбунов Н. И. О коллоидно-химической природе почвенного агрегата// Труды Третьей Всесоюз. конф. по коллоидной химии. М., 1956
10. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв: учеб. пособие для вузов / Е. В. Аринушкина. 2 – е изд., знач. доп. М.: МГУ, 1970. – 488 с.
11. Арчегова И. Б. Гумусообразование на севере Европейской территории СССР. Л., 1985
12. Брэдфильд Р. Новейшие исследования в области почвенных коллоидов и значение их для классификации почв// Почвоведение. 1936. № 30.
13. Ваксман С. А. Гумус: происхождение, химический состав и его значение в природе. М.; Л., 1937.

14. Вахмистров Д. Б., Мишустина Н. Е., Зверкова О. А., Дебенец Е. Ю. Поверхностная активность гуминовых кислот — одна из причин их стимулирующего действия на рост растений// Физиол. растений. 1989. Т. 36.
15. Вернадский В. И. Биогеохимические очерки. 1922-1932. М.; Л., 1940
16. Власюк П. А. Значение органических веществ для питания растений// Studies about Humus: Proc. Symp. Humus and Plant/ Eds S. Prát, V. Rypáček. Prague, 1962.
17. Гамаюнов Н. К., Масленников Б. И., Шульман Ю. А. Исследование электрических свойств водных суспензий гуминовых кислот// Биол. науки: Науч. докл. высш. школы. № Ю (334). 1991.
18. Гедройц К. К. Коллоидная химия в вопросах почвоведения. I. Коллоидные вещества в почвенном растворе. Образование соды в почве. Щелочные солонцы и солончаки//Журн. опыт, агрономии. 1912. Т. 13. Кн. 3.
19. Гельцер Ф. Ю. Значение микроорганизмов в образовании перегноя и прочности структуры почв. М., 1940.
20. Геммерлинг В. В. Опыт характеристики гумусовых веществ почвы на основании их коллоидно-химических свойств// Уч. записки Моск. ун-та. 1952. Вып. 141.
21. Гуминский С. А. Механизм и условия физиологического действия гумусовых веществ на растительные организмы// Почвоведение. 1957. № 12.
22. Горбунов Н. И. Почвенные коллоиды и их значение для плодородия. М., 1967.
23. Горбунов Я. И. Почвенные коллоиды и их значение для плодородия. М., 1967
24. Дергачева М. И. Экологические функции гумуса/ Гуминовые вещества в биосфере/ Тез. докл. 2-й Междунар. конф. М.; СПб., 2003.
25. Драгунов С. С. Химическая характеристика гуминовых кислот и их физиологическая активность// Гуминовые удобрения: Теория и практика их применения. Т. 7. Днепропетровск, 1980.
26. Дрэгшер Дж. Геохимия природных вод/ Пер. с англ. М., 1985
27. Ермаков Е. И., Попов А. И. Аспекты управления круговоротом органического вещества в системе почва-растение// Вестн. Россельхозакадемии. 2001. №1
28. Ионенко В. И. Краун-клатратная концепция структуры гумуса// Млиор. и химиз. земледелия Молдавии/ Тез. докл. Респ. конф. В 2 ч. Ч. 1. Кишинев, 1988.
29. Карпухин А. И. Влияние фульвокислот и их органо-минеральных производных на рост и развитие сельскохозяйственных растений// Гуминовые удобрения, теория и практика их применения. Т. 7. Днепропетровск, 1983.

30. Касаточкин В. И., Кухаренко Т. А., Золотаревская Э./О., Разумова Л. Л. Рентгенографическое исследование гуминовых кислот// Докл. АН СССР. 1950. Т. 74. № 4
31. Кассиди Г. Дж., Кун К. А. Окислительно-восстановительные полимеры (редокс-полимеры)/ Пер. с англ. Л., 1967.
32. Комиссаров И. Д., Климова А. А. Влияние гуминовых кислот на фотосинтез и дыхание растений// Гуминовые препараты/ Науч. труды Тюмен. с.-х. ин-та. Т. 14. Тюмень, 1971.
33. Кононова М. М. Органическое вещество почвы, его природа, свойства и методы изучения. М., 1963
34. Кононова М. М. Проблема почвенного гумуса и современные задачи его изучения. М., 1951.
35. Крупский Н. К., Лактионов Н. И. К вопросу о коллоидно-химических исследованиях гумуса чернозема как дисперсной системы// Труды Укр. науч.-исслед. ин-та почвоведения. 1959. Т. 4.
36. Куликова Н.А. Защитное действие гуминовых веществ по отношению к растениям в водной и почвенной средах в условиях абиотических стрессов // Дисс. доктора биологических наук. М. МГУ. 2008.
37. Кулебякина А. И. Полимерные мицеллы с гидрофобным ядром и ионогенной амфифильной короной / Автореф. дисс. ... канд. химич. наук. М., 2010. 16 с.
38. Кухаренко Т. А. Химия и генезис ископаемых углей. М., 1960
39. Лактионов Н. И. Гумус как природное коллоидное поверхностно-активное вещество. Харьков, 1978
40. Лактионов Н. И. Органическая часть почвы: Лекция. Харьков. 1988.
- 40 а. Ланге К.Р. Поверхностно-активные вещества. Синтез, свойства, анализ и применение / Перевод с англ. под ред. Л.П. Зайченко. СПб.: Профессия, 2005, 240 с.
41. Лиштван И. И., Король И. Т. Основные свойства торфа и методы их определения. Минск, 1975
42. Лиштван И. И., Круглицкий Н. Н., Третинник В. Ю. Физико-хими-ческая механика гуминовых веществ. Минск, 1976.
43. Логинов Л. Ф. Комиссаров И. Д. Окислительно-восстановительные состояния гуминовых кислот// Теория действия физиологически активных веществ/ Труды Днепропетровск. с.-х. ин-та. Т. 8. Днепропетровск, 1983
44. Милановский Е. Ю., Шеин Е. В., Степанов А. А. Лиофильно-лиофобные свойства органического вещества и структура почвы// Почвоведение. 1993. № 6.

45. Милановский Е.Ю. Гумусовые вещества почв как природные гидрофобно-гидрофильные соединения М.: ГЕОС, 2009. 186 с.
46. Минеев В. Г. Практикум по агрохимии / Под ред. М., 1989.
47. Морозов А. Я., Самойлова Е. М. О методах математического моделирования динамики гумуса// Почвоведение. 1993. № 6.
48. Новоторов А. Ц., Третинник В. Ю., Лозовская Н. Ф. Физико-химические исследования процессов структурирования гумусовых веществ// Studies about Humus. Humus et Planta: Abstr. 7th Trans. Ini. Symp. S. 1. Brno, 1979
49. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв. М., 1974.
50. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М., 1990
51. Орлов Д. С. Свойства и функции гуминовых веществ// Гуминовые вещества в биосфере. М., 1993.
52. Орлов Д. С., Бирюкова О. Н., Суханова Н. И. Органическое вещество почв Российской Федерации. М., 1996.
53. Орлов Д. С. Почвенные фульвокислоты: история их изучения, значение и реальность// Почвоведение. 1999. № 9.
54. Перминова И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот. М., 2000. – 359 с.
55. Пономарева В. В., Плотникова Т. А. Миграционная и седимента-ционная способность черных и бурых гуминовых кислот, и их соединений с кальцием// Проблемы почвоведения. М., 1978.
56. Пономарева В. В., Плотникова Т. А. Гумус и почвообразование (методы и результаты изучения). Л., 1980.
57. Попов А. П., Чертов О. Г. О трофической функции органического вещества почв// Вестн. С.-Петербур. ун-та. 1993. Сер. биол. Вып. 3. № 17.
58. Попов А. И., Бурак А. Ю. Коллоидно-химические свойства гуминовых веществ// Гумус и почвообразование/ Сб. науч. трудов С.-Петербур. гос. аграрн. ун-та. СПб., 1998.
59. Попов А. И. О механизме влияния гуминовых веществ на продукционный процесс растений// Там же. СПб., 2000.
60. Попов А.И. Гуминовые вещества: свойства, строение, образование / Под ред. Е.И. Ермакова / А.И. Попов. СПб.: Изд – во С. – Петерб. ун – та, 2004. – 248 с.
61. Практикум по зональной практике для студентов СПбГУ;

62. Прат С. Влияние гуминовых соединений на метаболизм растений// Вестн. Моск. ун-та. 1965. Сер. 6. № 1.
63. Растворова О.Г. Физика почв (практическое руководство) Л.: 1983. – 193 с.
64. Ребачук Я. М., Кулеш Я. Я., Максимов О. Б. О нативности гуминовых кислот// Почвоведение. 1976. №11
65. Слесарев В. И. Химия: Основы химии живого. СПб., 2001.
66. Тарарина Л. Ф. Органическое вещество как фактор окислительно- восстановительных процессов в почве// Тез. докл. 8-го Всесоюз. Съезда почвоведов. В 3 кн. Кн. 2. Новосибирск, 1989
67. Тейт Ш Р. Органическое вещество почвы: Биологические и экологи-ческие аспекты/ Пер. с англ. М., 1991.
68. Тюрин И. В. Органическое вещество почв и его роль в плодородии. М., 1965.
- 69.Флайг В. О влиянии гумусовых веществ на обмен веществ растений. Л., 1963.
70. Фокин А. Д. Почва, биосфера и жизнь. М., 1986.
71. Фридрихсберг Д. А. Курс коллоидной химии. Л., 1984.
- 72.Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы. – М.: Химия, 1988. – 464 с.
73. Фролов Ю. Г. Курс коллоидной химии. М., 1998.
74. Хан Д. В. Органо-минеральные соединения и структура почвы. М., 1969.
75. Христева Л. А. Стимулирующее влияние гуминовой кислоты на рост растений// Гуминовые удобрения: Теория и практика их применения. Харьков, 1957.
76. Черников В. А. Структурно-групповой состав как показатель трансформации гуминовых кислот интенсивно используемой дерново-подзолистой почвы// Почвоведение. 1984. № 5.
77. Шинкарев А. А., Лютахина Н. Б., Гневашов С. Г. Разделение гумусовых веществ на группы при многократной обработке растворителями// Почвоведение. 2000. № 7.
78. Ширшова Л. Т. Использование методов ионообменного разделения и гель-хроматографии на сефадексах для характеристики гумусовых веществ зональных типов почв СССР. Пущино, 1979.
79. Шишов Л.Л., Тонконогов В.Д., Лебедев И.И., Герасимова М.И. //Классификация и диагностика почв России/. – Смоленск; Ойкумена, 2004. – 342 с.
80. Adhikari M., Mandal B. Soil organic matter humus// Sci. and Cult. 1979. Vol. 45. N 4

81. Beyer L. The chemical composition of soil organic matter in classical humic compound fractions and in bulk samples a review//Z. Pflanzenem&hr. Bodenk. 1996. Bd 159
82. Bracewell J. M., Abbt-Braun G., de Leeuw J. W. et al. The characterization and validity of structural hypothesis// Humic Substances and Their Role in the Environment: S. Bernhard. Dahlem Konferenzen/ Eds F. H. Frimmel, R. F. Christman. N.Y., 1988.
83. Brady N. C., Weil R. R. The Nature and Properties of Soils. New Jersey, 2002.
84. Ceccanti ft., Calcinai M., Bonmati-Pont A/. et al. Molecular size distribution of soil humic substances with ionic strength// Sci. Total Environ. 1989. Vol. 81-82.
85. Cook R. L. Langford C И. A Biogeopolymeric View of Humic Substances with Application to Paramagnetic Metal Effects on UC NMR// Understanding Humic Substances. Advanced Methods, Properties and Applications/ Eds E. A. Cihabbour, G. Davies. Cambridge, 1999.
- 85a. de Melo B.A.G., Motta F.L., Santana M.H.A. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments // Materials Science and Engineering C. 2016. V. 62. P. 967–974.
86. Engebretson R. R., Von Wandruszka R. The effect of molecular size on humic acid associations// Org. Geochem. 1997. Vol. 26. Is. 11-12.
87. Ferretti M., Ghisi R., Nardi S., Passera C. Effect of humic substances on photosynthetic sulphate assimilation in maize seedlings// Canad. J. Soil Sci. 1991. Vol. 71.
88. Flaig W. Uptake of organic substances from soil organic matter by plant and their influence on metabolism // Pontif. Acad. Sci. Scri. 1968. V. 32. P. 723–770.
89. Flaig W. Generation of Model Chemical Precursors// Humic Substances and Their Role in the Environment: S. Bernhard. Dahlem Konferenzen/ Eds F. H. Frimmel, R. F. Christman. Dahlem, 1988
90. Forester S., Plantenberg T. From self-organizing polymers to nanohybrid and biomaterials. // Angew Chem. Int. Ed. 2002. V. 41. № 5. P. 688–714.
91. Grasset L., Ambles A. Structure of humin and humic acid from an acid soil as revealed by phase transfer catalyzed hydrolysis// Org. Geochem.. 1998. Vol. 29. Is. 4.
92. Griffin W.C. Classification of surface-active agents by “HLB”// Journal of Cosmetic Science. 1949. V. 1. No. 5. P. 311–326.
93. Guetzloff T. F., Rice J. A. Does humic acid form a micelle?// Sci. Total Env. 1994. Vol. 152
94. Haider K., Martin J. P. Abbau und Umwandlung von Pflanzenrückständen und ihren Inhaltsstoffen durch die Mikroflora des Bodens// Z. Pflanzenem2hr. Bodenk. 1979. Bd 142. N 3

95. Hayase K., Tsubota H. Sedimentaiy humic acid and fulvic acid as surface active substances// *Geochim. Cosmochim. Acta.* 1983. Vol. 47.
96. Hempfling R, Schulten H.-R. Chemical charactererization of the organic matter in forest soils by Curie point pyrolysis-GC/MS and pyrolysis-field ionization mass spectrometry//*Org. Geochem.* 1990. Vol. 15
97. Kawahigashi M., Fujitake N., Tsurudome T. et al. Change in Configurations and Surface Active Properties of Humic Acid with Increasing Concentration of NaCl// *The Role of Humic Substances in the Ecosystems and in Environmental Protection: Proc. 8th Meeting IHSS/ Eds J. Drozd, S. S. Gonet, N. Senesi, J. Weber. Wroclaw, Poland, 1997.*
98. Khokhlov A.R., Kramarenko E.Yu. Polyelectrolyte/ionomer behavior in polymer gel collapse // *Macromol. Theory Simul.* 1994. V. 3. P. 45–59.
99. Kramarenko E.Yu., Erukhimovich I.Ya., Khokhlov A.R. The influence of ion pair formation on the phase behavior of polyelectrolyte solutions // *Macromol. Theory Simul.* 2002. V. 11. P. 462–471.
100. Reuter J. H., Perdue E. M. Inportance of heavy metal organic matter interaction in natural waters// *Geochim. Cosmochim. Acta.* 1976. Vol. 41.
101. Robert-Gero M, Vidal G.t Hardisson C.. et al. Etude des polymers humiques. Relations entre polymers humiques naturels, d'origine microbienne rt lignine// *Ann. Inst. Pasteur.* 1967. Vol. 113. N 6.
102. Schnitzer M. Humus Substances: Chemistry and Reactions// *Soil Organic Matter/ Eds M. Schnitzer, S. U. Khan/ Development of Soil Science. N 8. Ottawa. 1978.*
103. Schulten H.-R, Plage B., Schnitzer M. A chemical structure for humic substances //*Naturwissenschaften.* 1991. Vol. 78.
104. Senesi N., Schnitzer M. Free radicals in humic substances// *Environ. Biogeochem. and Geomicrobiol./ Proc. 3rd Int. Symp. Vol. 2. 1978.*
105. Steelink C. What is I lumic Acid? A Perspective of the Past Forty Years// *Understanding Humic Substances. Advanced Methods, Properties and Applications/ Fds E. A. Ghabbour, G. Davies. Cambridge, 1999.*
106. Stevenson F. J. *Humus Chemistry.* N.Y., 1982.
107. Swift R. S. *Organic Matter Characterization// Methods of Soil Analysis/ Part 3. Chemical Methods/ SSSA Book Series no. 5. Madison, 1996.*

108. 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 et al. Chichester, England, 1989.
109. Tombácz E., Rice J. A. Changes of Colloidal State in Aqueous Systems of Humic Acids// Understanding Humic Substances. Advanced Methods, Properties and Applications/ Eds E. A. Ghabbour, G. Davies. Cambridge, 1999.
110. Nardi S., Concheri G., Dell'Agnola G., Scrimin P. Nitrate uptake and ATPase activity in oat seedlings in the presence of two humic fractions// Soil Biol. Biochem. 1991. Vol. 23.
111. Nardi S., Pizzeghello D., Gessa C. et al. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings// Soil Biol. Biochem. 2000. Vol. 32.
112. Nardi S., Pizzeghello D., Muscolo A., Vianello A. Physiological effects of humic substances on higher plants review// Soil Biol. Biochem. 2002. Vol. 34. Is. 11.
113. Tombacz Rice J A. Changes of Colloidal State in Aqueous Systems of Humic Acids// Understanding Humic Substances. Advanced Methods, Properties and Applications/ Eds E. A. Ghabbour, G. Davies. Cambridge. 1999.
114. Thurman E. M. Organic geochemistry of natural water. Wagen ingen, 1985.
115. Tombacz £ . Rice J. A., Ren S. Effect of Conformational Change on Aggregation Processes in Humic Acid Solutions// The Role of Humic Substances in the Ecosystems and in Environmental Protection: Proc. 8th Meeting IHSS/ Eds J. Drozd, S. S. Gonet, N. Senesi, J. Weber. Wroclaw, Poland, 1997
116. van Wandruska R., Engebretson R. R., Yates III L M. Humic Acid Pseudomicelles in Dilute Aqueous Solution: Fluorescence and Surface Tension Measurements// Understanding Humic Substances. Advanced Methods, Properties and Applications/ Eds E. A. Ghabbour, G. Davies. Cambridge, 1999.
- 116a. von Wandruszka R. Humic acids: Their detergent qualities and potential uses in pollution remediation // Geochem. Trans., 2000, 2. DOI: 10.1039/b001869o
117. Venev S.V., Reineker P., Potemkin I.I. Direct and inverse micelles of diblock copolymers with a polyelectrolyte block: effect of equilibrium distribution of counterions // Macromolecules 2010. V. 43. Is. 24. P. 10735–10742
118. Ziechmann W. Evolution of Structural Models from Consideration of Physical and Chemical Properties// Humic Substances and Their Role in the Environ-ment/ S. Bernhard. Dahlem Konferenzen/ Eds F. H. Frimmel, R. F. Christman. Dahlem, 1988
119. Ziechmann W. Über Eigenschaften und Aufbau der Huminstoffe// Telma. 1981. Bd II. 815.

120. Ziechmann W. Molekulkomplexe bei Huminstoffen durch δ -Donator und Akzeptor-Strukturen// Ztschr. Pflanz. Bodcn. 1977. Bd 140. 814.

121. <http://pharmspravka.ru/zhidkie-lekarstvennyie-formyi/emulsa/gidrofilno-lipofilnyiy-balans.html>

122. http://www.zapovednik-belogorye.ru/les_na_vorskle

123. https://ru.wikipedia.org/wiki/Лес_на_Ворскле

Приложение

Таблица 1.

Усредненная молекулярная масса, порог агрегативной неустойчивости и размер структурированных коллоидных мицелл гуминовых веществ.

Объект исследования	Горизонт, мощность, см	Усредненная молекулярная масса, кДа	Порог агрегативной неустойчивости, мг С/л	Усредненный размер структурированных коллоидных мицелл ГВ, км
Чернозём миграционно-мицелярный среднесуглинистый на карбонатных лёссовидных суглинках	AU1 (0-17)	12,5	27,8	8,911
Тёмно-серая среднесуглинистая маломощная глубококарбонатная на карбонатном лёссовидном суглинке	AU (0-12(13))	16,1	35,7	8,445
Серая маломощная легкосуглинистая на бескарбонатном лёссовидном суглинке	AY (0-15(20))	16,9	67,8	7,904