

как более точный. Пригодный для целей научных исследований и в производстве, он также позволяет получить более репрезентативные результаты, так как основан на прямом учете двуокиси углерода, образующейся при сжигании органического вещества почв.

ЛИТЕРАТУРА

Руководство по современным биохимическим методам исследования водных экосистем, перспективных для промысла и марикультуры / Под ред. А.И. Агатовой. М.: Изд-во ВНИРО, 2004. 123 с.

Горбов С.Н., Безуглова О.С. Специфика органического вещества почв Ростова-на-Дону // Почвоведение. 2014. № 8. С. 1–11.

ОЦЕНКА КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ПОЧВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИМАС-ХРОМАТОГРАФИИ (НА ПРИМЕРЕ ИОНОВ МЕДИ)

А.А. Дымов¹, Е.Ю. Милановский²

¹ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
E-mail: aadymov@gmail.com

Органогенные горизонты почв – мощнейший геохимический барьер для загрязняющих компонентов. Одними из приоритетных загрязнителей являются тяжелые металлы (ТМ). Именно от свойств почв зависит дальнейшая «судьба» загрязнителей – фиксация в почве, либо миграция в геохимически подчиненные ландшафты и водоемы. Общепризнанна и не вызывает сомнения приоритетная роль почвенного органического вещества (ПОВ) в закреплении ТМ. Однако механизмы протекающих при этом реакций, объясняющих особенности поведения ТМ в почвах и геохимически сопряженных ландшафтах, не раскрыты. В современном почвоведении и химии гумуса, ПОВ рассматривается с позиций супрамолекулярной химии (Piccolo et al., 1999). Расширение инструментального потенциала аналитической химии обуславливает постепенное переосмысление роли и функций отдельных химических соединений и групп, обладающих близкими функциональными свойствами. Перспективным методом изучения функциональных свойств ПОВ является металл аффинная хроматография, позволяющая из совокупности органических веществ выделить компоненты, вступающие в координационные взаимодействия (Милановский, 2009; Hutta et al., 2011). Данный тип хроматографии

широко применяется для очистки белков и аминокислот при биохимических исследованиях (Даванков и др., 1990; Porath et al., 1975; Andersson, Porath, 1986; Protein purification..., 1998) и изучения органических соединений морских вод (Donat et al., 1997). Цель данной работы заключалась в оценке возможностей аффинной хроматографии с иммобилизованными металлами (ИМАС) для изучения комплексообразующих свойств почвенного органического вещества почв европейского Севера на примере ионов меди.

Хроматографическое фракционирование проводили на геле агарозы с ковалентно-сшитыми хелатными группами (ИМАС Sepharose 6 FF, GE Healthcare) на колонке 1x10 см (Bio-Rad) на хроматографической системе Biologic LP (Bio-Rad, USA). В качестве стартового буферного раствора использовали 0.02 моль/дм³ Na₄P₂O₇, содержащем 0.5 моль/дм³ NaCl (рН 7.4). Все используемые в эксперименте элюенты фильтровали через мембранные фильтры (0.45 мкм) с последующей дегазацией. Динамическая связывающая емкость геля – 25 мг (Cu²⁺) / мл геля. Средний размер геля 90·10⁻³ мм. Гель устойчив при значениях рН от 2 до 14. Гумусовые вещества (ГВ) выделяли щелочным раствором при соотношении почва:раствор 1:10 в течение 20–24 ч из исследуемых почв. Исследовали органическое вещество, экстрагируемое из органических горизонтов подзолистых почв. От минеральных примесей экстракт ГВ очищали центрифугированием (12000 об./мин., 15 мин). Оптическую плотность элюата детектировали при длине волны 280 нм. В ходе работ опробованы несколько вариантов разделения экстракта органических веществ на молекулярно-гомогенные фракции, в основе которых лежали приемы, используемые для разделения белков (Даванков и др., 1990): 1) понижение рН элюента, приводящее к протонированию донорных групп ГВ; 2) лигандный обмен при помощи имидазола, образующего более устойчивый комплекс с ионами металла; 3) разрушение хелатных соединений сильным хелатирующим агентом (ЭДТА), приводящее к освобождению соединений и десорбции металла.

Применение различных вариантов проведения эксперимента показало, что для эффективного фракционирования органического вещества необходимо предварительное удаление низкомолекулярных фракций методом гель-фильтрации на Сефадексе G-25, элюирование с имидазолом при негативном градиенте рН. В выбранных стандартных условиях было проведено фракционирование органических соединений. Выявлено, что в составе экстрагируемых компонентов ПОВ присутствуют молекулярно-гомогенные фракции, различающиеся по способности связывать ионы меди. Система органических соединений подзолистых почв включа-

ет компоненты: 1) «инертных» соединений, не вступающих во взаимодействие с ионами меди; 2) фракции, образующие комплексные соединения, но обладающие меньшей константой устойчивости по сравнению с имидазолом; 3) органические соединения, образующие прочносвязанные хелатные комплексы с ионами меди. Основную долю (до 60–70%) составляют соединения, не вступающие в реакцию комплексообразования. Доля соединений, образующих прочные комплексные соединения, составляет 25–30 % от общего содержания органических соединений. Использование данного метода позволит ранжировать почвенное органическое вещество по способности связывать ионные формы металлов, и, следовательно, оценить их устойчивость к загрязнению тяжелыми металлами.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для молодых кандидатов наук МК-1027.2013.4 и инновационного проекта УРО РАН 14-4-ИП-21.

ЛИТЕРАТУРА

Даванков В.А., Навратил Дж., Уолтон Х. Лиганднообменная хроматография / Пер. с англ. М.: Мир, 1990. 294 с.

Милановский Е.Ю. Гумусовые вещества почв как природные гидрофобно-гидрофильные соединения. М.: ГЕОС, 2009. 186 с.

Donat J.R., Kango R.A., Gordon A.S. Evaluation of immobilized metal affinity chromatography (IMAC) for isolation and recovery of strong copper-complexing ligands from marine waters // *Marine Chemistry*. 1997. Vol. 57. P. 1–10.

Andersson L., Porath J. Isolation of phosphoproteins by immobilized metal (Fe^{3+}) affinity chromatography // *Analytical Biochemistry*. 1986. Vol. 154. P. 250–254.

Hutta M., Gora R., Halko R., Chalanyova M. Some theoretical and practical aspects in separation of humic substances by combined liquid chromatography methods // *Journal of Chromatography A*. 2011. Vol. 1218. P. 8946–8957.

Porath J., Carlsson J., Olsson I., Belfrage G. Metal chelate affinity chromatography a new approach to protein fractionation // *Nature*. 1975. Vol. 258. P. 598–599.

Protein purification: Principles, High Resolution Methods, and Application. Second edition / Eds. J.-C. Janson, L. Ryden. N.-Y., 1998. 695 p.

Piccolo A., Conte P., Cozzolino A. Effects of mineral and monocarbohylic acids on the molecular association of dissolved humic substances // *European Journal of Soil Science*. 1999. Vol. 12. P. 687–694.