

УДК 662.73+547.992.2+631.811.98

DOI: 10.15372/ChUR2020213

Исследование зависимости биологической активности от структурных параметров нативных и модифицированных бурогольных гуминовых кислот

С. И. ЖЕРЕБЦОВ, Н. В. МАЛЫШЕНКО, К. С. ВОТОЛИН, К. М. ШПАКОДРАЕВ, З. Р. ИСМАГИЛОВ

*Институт углехимии и химического материаловедения ФИЦ УУХ СО РАН,
Кемерово (Россия)**E-mail: sizh@yandex.ru*

(Поступила 13.01.20; после доработки 17.02.20)

Аннотация

Получены и охарактеризованы с помощью элементного и технического анализа образцы нативных и модифицированных пероксидом водорода и *n*-бутанолом гуминовых кислот (ГК), выделенных из бурых углей. С использованием методов ¹³C ЯМР-, ИК-, ЭПР-спектроскопии показаны изменения структурных параметров и содержания парамагнитных центров (ПМЦ) модифицированных ГК. Методом фитотестирования на примере семян сортовой пшеницы “Ирень” проведена оценка биологической активности нативных и модифицированных ГК. Обнаружена тенденция к снижению биологической активности ГК при уменьшении содержания ПМЦ. Наблюдается повышение биологической активности с увеличением параметра Φ_1 , отражающего соотношение гидрофильных и гидрофобных элементов структуры ГК.

Ключевые слова: гуминовые кислоты, модифицирование, биологическая активность, индекс фитоактивности

ВВЕДЕНИЕ

Гуминовые кислоты (ГК) – природные высокомолекулярные соединения нерегулярного строения, которые содержатся в торфе, бурых и окисленных каменных углях, почве, донных отложениях. Полученные из разных источников ГК различаются по элементному составу, степени конденсированности, замещенности ароматических ядер, соотношению гидрофильных и гидрофобных фрагментов. В состав макромолекул ГК входят различные функциональные группы: карбонильные, карбоксильные, гидроксильные. Благодаря уникальности своего строения ГК способны вступать в окислительно-восстановительные реакции, реакции комплексообразования и ионного обмена с катионами металлов, что в свою очередь определяет широкий спектр их применения [1]. Как сорбенты катионов различных металлов ГК применяют-

ся для борьбы с химическими загрязнениями, очистки промышленных стоков, детоксикации загрязненных почв и т. д. Они используются для ремедиации и рекультивации деградированных почв, улучшая их структуру и повышая плодородие [2]. Известны положительные результаты применения солей ГК (гуматов) в растениеводстве, птицеводстве, животноводстве [3]. В последнее время возрос интерес к применению ГК и препаратов на их основе в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов роста растений. Известно, что при воздействии ГК в растениях активизируется синтез белка, нуклеиновых кислот, фосфорсодержащих соединений – переносчиков энергии. Гуминовые кислоты оказывают влияние на ферментативную деятельность растительной клетки, усиливают фотохимические процессы, транспорт электронов, фосфорилирование в хлоропластах [4]. При этом увеличивается проницаемость кле-

точной мембраны, что облегчает проникновение питательных веществ и микроэлементов внутрь клетки и ускоряет дыхание растений [3]. В результате сокращаются сроки созревания, повышается урожайность культур, резистентность к заболеваниям и устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды, снижается поступление тяжелых металлов и радионуклидов в растения. В настоящее время накоплен большой экспериментальный опыт, свидетельствующий о положительном влиянии гуминовых веществ на урожайность и качество сельскохозяйственных культур [5]. Однако взгляды на природу биологической активности ГК неоднозначны и противоречивы. Существует точка зрения, что биологическая активность ГК определяется способностью участвовать в окислительно-восстановительных реакциях в растительной клетке и зависит от содержания фенольных и хиноидных групп [6, 7]. Показано, что биологическая активность ГК растет с увеличением значения структурного параметра “степень ароматичности f_a ” [6, 8]. Обнаружена взаимосвязь биологической активности и содержания парамагнитных центров (ПМЦ) [9], а также соотношения гидрофильных и гидрофобных фрагментов в структуре ГК [10, 11]. Более высокая степень конденсированности, ароматичности, парамагнетизма, а также более высокое содержание функциональных групп, в частности хиноидных, обеспечивает более высокую биологическую активность ГК, выделенных из бурых углей, по сравнению с ГК торфа [12].

В последнее время большой интерес исследователей вызывает химическое модифицирование ГК, что дает возможность получать препараты на их основе с ценными свойствами, превосходящими свойства исходных ГК. С помощью направленного химического модифицирования за счет изменения функционально-группового состава можно регулировать окислительно-восстановительные свойства, повысить сорбционную способность, биологическую активность [13, 14]. Для модифицирования применяются различные реакции, например: окислительно-восстановительные, гидролиз, алкилирование, ацилирование и т. д. Показано [15], что ГК, окисленные перманганатом калия, а также алкилированные метилом, являются наиболее эффективными для стимулирования роста растений по сравнению с исходными ГК. В настоящее время повышение урожайности и качества сельскохозяйственной продукции невозможно без использования передовых технологий, в том числе

и применения биологически активных субстанций. Изменяя структурно-групповой состав в результате воздействия химическими методами на макромолекулу ГК, можно прогнозировать биологическую активность.

Цель настоящей работы – исследование биологической активности нативных и модифицированных пероксидом водорода и *n*-бутанолом гуминовых кислот, выделенных из бурых углей.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

Для получения ГК использовали образцы бурого угля Тюльганского месторождения Южно-Уральского бассейна (БУТ), Тисульского месторождения Канско-Ачинского бассейна (БУТС) и его окисленной в пласте формы (БУТСО). Гуминовые кислоты выделяли из угля обработкой раствором гидроксида натрия и последующим осаждением соляной кислотой [16]. Характеристики образцов исследуемых бурых углей и полученных из них ГК приведены в табл. 1. Окисленный уголь (БУТСО) отличается более высокой степенью ароматичности (соотношение $C/N = 1.72$) и более высоким выходом ГК.

Методики исследования

Модифицирование ГК пероксидом водорода проводилось следующим образом: к определенному объему растворов, содержащих 5 г гумата натрия (ГумNa), при постоянном перемешивании на магнитной мешалке из бюретки добавляли по каплям с одинаковой скоростью пероксид водорода (концентрация 32 %, объем $V = 5, 10, 15$ мл). После добавления H_2O_2 перемешивали еще 5 мин и осаждали ГК соляной кислотой. Полученные осадки отфильтровывали, промывали до pH дистиллированной воды, высушивали при температуре 70 °С до постоянной массы.

Для алкилирования навеску ГК (5 г) растворяли в 100 мл *n*-бутилового спирта, подкисляли соляной кислотой до pH 2–3 и кипятили 3 ч при температуре кипения бутанола с последующим охлаждением до комнатной температуры. Полученную смесь разбавляли двумя литрами дистиллированной воды. Выпавший осадок фильтровали на воронке Бунзена, промывали большим количеством воды и сушили до постоянной массы.

Для установления связи “структурный параметр – биологическая активность” проведены

ТАБЛИЦА 1

Технический и элементный анализ исследуемых образцов углей и гуминовых кислот, %

Образец	W ^a	A ^d	V ^{daf}	Элементный состав на daf			C/H атом.	(НА) _t ^{daf}
				С	Н	(O + N + S), по разности		
БУТС	8.0	6.1	48.1	64.3	4.7	31.0	1.1	21.3
ГК БУТС	4.9	9.2	–	59.1	4.9	36.1	1.0	–
БУТСО	13.5	46.6	90.8	55.1	2.7	42.3	1.7	60.9
ГК БУТСО	7.0	15.2	–	61.6	5.4	33.1	1.0	–
БУТ	9.1	21.5	64.4	63.7	5.9	30.4	0.9	38.5
ГК БУТ	0.7	13.4	–	53.2	10.5	36.3	0.4	–

Примечание. 1. W^a – влага аналитическая; A^d – зольность на сухую пробу; V^{daf} – содержание летучих веществ; С, Н, О, N, S – содержание элементов; (НА)_t^{daf} – выход гуминовых кислот; daf – сухое беззольное состояние образца. 2. Прочерк – не определялось.

тесты (фитотестирование) [17, 18] с использованием сортовых семян пшеницы “Ирень”. Определение биологической активности ГК в виде гуматов натрия (концентрации 0.01, 0.005 и 0.0005 %), полученных как из исходных, так и модифицированных пероксидом водорода и бутанолом образцов ГК (ГК–H₂O₂ и ГК–Bu соответственно) проводили согласно ГОСТ 12038–84 и ГОСТ 54221–2010 [19, 20]. Для этого семена проращивали при постоянной температуре 20 °С в темноте в специальных растильнях (лотках). Биологическую активность нативных и модифицированных ГК оценивали по величине интегрального индекса фитоактивности (ИФ) с учетом трех тест-функций: энергии прорастания семян (ЭП), длины корня (ДК) и высоты проростка (ВП). Индекс фитоактивности является обобщающим показателем, величина которого отражает отклонения от контроля и вычисляется как среднее арифметическое суммы показателей ЭП, ДК и ВП, выраженное в долях единицы:

$$\text{ИФ} = \frac{\text{ЭП} + \text{ДК} + \text{ВП}}{3 \cdot 100}$$

где ЭП, ДК и ВП – средние величины по трем лоткам.

Повторность эксперимента трехкратная: по 50 семян в каждом лотке для каждого вида ГК и столько же для контроля. Для контрольного теста использовалась дистиллированная вода. Показатели ЭП, ВП и ДК, а также количество корней (КК) замеряли на 5-е сут. Относительная ошибка во всех экспериментах составляла 3–5 % для уровня значимости $\alpha = 0.05$.

Методы исследования

Спектры ЭПР исследуемых образцов регистрировали при комнатной температуре с помощью ЭПР-спектрометра EMX-m40X (Bruker,

Германия) на частоте 9.86 ГГц при уровне мощности 1.8–1.9 мВт и частоте модуляции 100 кГц. Для определения количества органических парамагнитных центров (ПМЦ) в качестве стандарта использовали ионы Mn²⁺ в MgO. Характеристики спектров ЭПР рассчитывали с помощью программы BrukerWinEPR.

Спектры ЯМР ¹³C высокого разрешения в твердом теле регистрировались на приборе AVANCE III 300 WB (Bruker, Германия) на частоте 75 МГц с использованием стандартной методики кросс-поляризации и вращением под магическим углом (CPMAS).

Запись ИК-спектров проводилась на спектрометре с Фурье-преобразованием “Инфралюм-ФТ 801” (Россия) в таблетках с KBr.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Гуминовые кислоты характеризуются типичными полосами поглощения ИК-спектров различной интенсивности [21]. Широкая полоса с максимумом поглощения ~3400 см⁻¹ указывает на наличие гидроксильных групп, связанных водородной связью. Полосы 2940–2920 и 2860–2840 см⁻¹ соответствуют валентным колебаниям групп CH₃ и CH₂; 1630–1610 см⁻¹ – валентным колебаниям сопряженных двойных связей C=C и ароматических фрагментов; 1370–1450 см⁻¹ – деформационным колебаниям связи C–H в алифатических группах CH₃ и CH₂; 1280–1240 см⁻¹ – связи C–O карбоновых кислот, сложных эфиров, связи O–H фенолов; 1100–1030 см⁻¹ – связи C–O циклических и алифатических эфиров и спиртов; 800 см⁻¹ – связи C=C и C–H ароматических колец. Для всех образцов исследуемых исходных ГК проявляются полосы различной интенсивности в области 1720–1710 см⁻¹ – валентные колебания связи C=O карбоновых кис-

ТАБЛИЦА 2

Величины тест-функций и интегральный индекс фитоактивности гуминовых препаратов

Образец	Концентрация, %	% к контролю				ИФ	ПМЦ · 10 ⁻¹⁸ , спин/г (ГК)
		КК	ДК	ВП	ЭП		
ГумNa БУТС	0.005	115	118	109	115	1.14	7.57
ГумNa БУТС	0.0005	102	96	108	107	1.04	–
ГумNa БУТС	0.01	102	94	100	93	0.96	–
ГумNa БУТС-Н ₂ O ₂ (5)	0.005	113	104	118	112	1.11	3.77
ГумNa БУТС-Н ₂ O ₂ (10)	0.005	107	91	88	93	0.91	3.12
ГумNa БУТС-Н ₂ O ₂ (15)	0.005	103	83	78	101	0.87	2.72
ГумNa БУТС-Vu	0.005	106	125	137	110	1.24	4.40
ГумNa БУТСО	0.005	104	123	138	106	1.22	0.87
ГумNa БУТСО	0.0005	–	101	103	108	1.04	–
ГумNa БУТСО-Н ₂ O ₂ (5)	0.005	101	101	125	103	1.10	0.56
ГумNa БУТСО-Н ₂ O ₂ (10)	0.005	99	105	120	98	1.08	0.29
ГумNa БУТСО-Н ₂ O ₂ (10)	0.0005	–	101	103	108	1.04	–
ГумNa БУТСО-Н ₂ O ₂ (15)	0.005	101	85	79	107	0.90	0.28
ГумNa БУТСО-Vu	0.005	102	130	145	106	1.27	1.93
ГумNa БУТ	0.005	–	125	149	107	1.27	0.31
ГумNa БУТ	0.0005	–	112	149	107	1.22	–
ГумNa БУТ-Н ₂ O ₂ (10)	0.005	–	122	147	112	1.27	0.47
ГумNa БУТ-Н ₂ O ₂ (10)	0.0005	–	116	134	108	1.19	–
ГумNa БУТ-Vu	0.005	–	151	142	124	1.39	1.42

Примечание. 1. Прочерк – не определялось. 2. Здесь и в табл. 3: в скобках указано количество Н₂O₂ (мл), применяемое при модифицировании образца; Vu – образец, модифицированный *n*-бутанолом.

лот. На ИК-спектрах модифицированных пероксидом водорода ГК серии БУТС и БУТ увеличиваются интенсивности полос 1710, 1260, 1100–1030 см⁻¹. Спектры ГК БУТСО отличаются снижением интенсивности полосы, характеризующей связь С=О карбоксильных групп. На ИК-спектрах ГК, модифицированных *n*-бутанолом, наблюдается увеличение (в разной степени) интенсивностей полос 2930 и 2870, 1450 и 1380, 1240 см⁻¹.

В табл. 2 приведены экспериментальные данные по определению биологической активности ГК посредством фитотестирования, в процессе которого были установлены не только эффекты, стимулирующие развитие растений, но и подавляющие те или иные тест-функции. Одним из факторов, влияющих на биологическую активность, является концентрация используемых гуматов. При концентрации 0.005 % наблюдается наибольшее значение ИФ для всех исследуемых образцов (см. табл. 2). В контрольном опыте с водой ИФ = 1. Следует отметить положительное влияние ГК на ЭП, ДК и ВП. Более высокая биологическая активность свойственна гуматам, полученным из естественно-окисленной формы бурого угля (ГумNa БУТСО), применение которого приводит к максимальному увеличению

значений ВП и ДК (+38 и +23 % к контролю, соответственно).

Химическое модифицирование пероксидом водорода и *n*-бутанолом изменяет функционально-групповой состав ГК и оказывает влияние на биологическую активность ГК. Действительно, применение модифицированных пероксидом водорода ГК приводит к уменьшению значений тест-функций и ИФ для всех исследуемых образцов по сравнению с нативными (см. табл. 2). При этом наблюдается незначительное уменьшение КК. При обработке семян препаратами ГумNa БУТС(10), ГумNa БУТС(15), ГумNa БУТСО(15) (в скобках указан применяемый для модифицирования объем (мл) Н₂O₂) значения ИФ ниже, чем в контрольных опытах с водой. Величины всех тест-функций ДК, ВП и ЭП в этих опытах также ниже контрольных. Индекс фитоактивности модифицированных *n*-бутанолом гуматов превышает аналогичный показатель нативных препаратов и составляет 1.24 (+24 % прироста к контролю) для ГумNa БУТС; 1.27 (+27 %) для ГумNa БУТСО и 1.39 (+39 %) для ГумNa БУТ. Применение алкилированных *n*-бутанолом препаратов оказывает положительное влияние на ВП (+37 % для ГумNa БУТС; +45 % для ГумNa БУТСО; +42 %

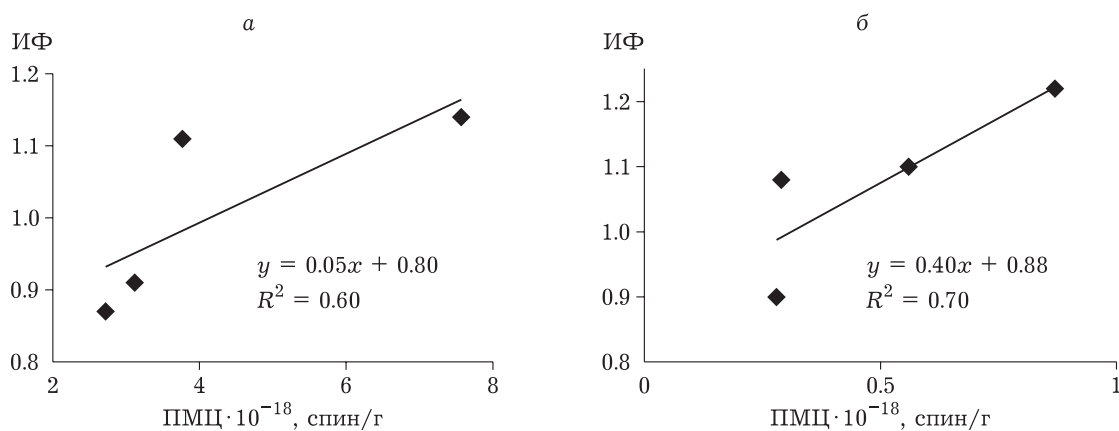


Рис. 1. Зависимость индекса фитоактивности (ИФ) от содержания парамагнитных центров (ПМЦ) нативных и модифицированных пероксидом водорода гуминовых кислот, полученных из бурых углей БУТС (а) и БУТСО (б).

для ГумНа БУТ по отношению к контролю) и ДК. Максимальное увеличение ДК (в 1.5 раза) наблюдается при применении ГумНа БУТ. Таким образом, модифицирование пероксидом водорода приводит к уменьшению ИФ, модифицирование *n*-бутанолом – к увеличению ИФ в ряду: ГК-Бу > ГК > ГК-Н₂O₂(5) > ГК-Н₂O₂(10) > ГК-Н₂O₂(15).

Данные табл. 2 свидетельствуют о снижении значений ИФ с понижением содержания ПМЦ в процессе модификации ГК пероксидом водорода. Оценивая связь биологической активности ГК с парамагнитными свойствами, следует отметить, что прямолинейная зависимость ИФ от содержания ПМЦ имеет довольно низкие коэффициенты корреляции: 0.77 (для ГК БУТС) и 0.83 (для ГК БУТСО) (рис. 1). Модифицирование ГК *n*-бутанолом, как отмечено выше, приводит к повышению ИФ для всех образцов. При этом для ГК серии БУТСО и БУТ наблюдается повышение содержания ПМЦ, а для ГК БУТС – снижение. Вероятно, связь между содержанием ПМЦ и биологической активностью ГК не является простой и однозначной. Есть мнение, что парамагнетизм ГК обусловлен синергическим эффектом взаимодействия ароматических систем полисопряжения и водородных связей, образованных функциональными группами, прежде всего карбоксильными [12]. Хиноидные группы и фенольные гидроксилы, способные образовывать стабильные свободные радикалы, также могут быть причиной парамагнетизма ГК [7].

Хотя исследуемые ГК имеют общий тип строения, что подтверждается наличием сигналов ЯМР в одних и тех же областях, но различаются значениями интегральных интенсив-

ностей этих сигналов. Анализируя данные табл. 3, можно предположить, что изменения структурно-группового состава при модифицировании ГК зависит от природы исходного сырья. Например, ГК, выделенные из окисленного угля БУТСО, отличаются от ГК БУТС более высоким содержанием карбоксильных групп, которое снижается в процессе окисления Н₂O₂, вероятно, из-за реакций декарбоксилирования. Для ГК БУТС наблюдается обратная тенденция – в процессе окисления содержание карбоксильных групп повышается. Реакция этерификации карбоновых кислот в процессе алкилирования [22] приводит к снижению их содержания во всех образцах ГК. Низкое содержание хиноидных групп (менее 1 %) не позволяет выявить зависимость ИФ от их содержания.

В табл. 3 приведен комплексный структурный параметр Φ_1 , который характеризует отношение в ГК количества активных функциональных групп и C_{alk}O-фрагментов к величине ароматической составляющей и вычисляется по данным спектроскопии ЯМР ¹³C: $\Phi_1 = (\text{COOH} + \text{C}_{\text{ar}}\text{O} + \text{C}_{\text{alk}}\text{O}) / \text{C}_{\text{ar}}\text{C,H}$ [11]. Этот параметр также определяет соотношение гидрофильных и гидрофобных свойств макромолекулы ГК. Практически для всех исследуемых образцов ГК, модифицированных *n*-бутанолом, возрастает интенсивность ЯМР-сигналов в области 160–140 м. д. (C_{ar}O) и 106–54 м. д. (C_{alk}O), что вызывает значительное увеличение параметра Φ_1 для алкилированных образцов и повышение ИФ.

Полученные результаты позволяют сделать вывод: модифицирование пероксидом водорода и *n*-бутанолом существенно изменяет структурно-групповой состав ГК, содержание ПМЦ,

ТАБЛИЦА 3

Интегральные интенсивности спектральных областей по данным ¹³C ЯМР-спектров образцов, %

Образец	Химический сдвиг, м. д.							Φ ₁
	220–187	186–180	179–165	164–140	140–106	106–54	54–0	
	C=O	C _{хин}	COOH	C _{ар} O	C _{ар} C,H	C _{алк} O	C _{алк}	
ГК БУТС	0.99	<0.2	5.70	10.30	24.37	3.57	55.07	0.80
ГК БУТС-H ₂ O ₂ (5)	1.21	<0.2	6.01	9.16	25.10	4.06	54.44	0.76
ГК БУТС-H ₂ O ₂ (10)	1.29	<0.2	6.43	9.40	24.88	4.15	53.86	0.80
ГК БУТС-H ₂ O ₂ (15)	1.18	<0.2	6.75	9.00	24.84	4.60	53.63	0.82
ГК БУТС-Bu	0.47	0.30	5.32	15.18	37.55	13.13	28.05	0.89
ГК БУТСО	0.59	1.03	14.48	3.61	43.82	4.27	32.22	0.51
ГК БУТСО-H ₂ O ₂ (5)	1.17	0.67	11.76	3.18	37.52	5.80	39.90	0.55
ГК БУТСО-H ₂ O ₂ (10)	0.50	0.80	13.16	3.84	44.38	5.26	32.06	0.50
ГК БУТСО-H ₂ O ₂ (15)	0.80	0.70	12.89	2.81	39.00	5.36	38.45	0.54
ГК БУТСО-Bu	0.42	0.68	9.70	7.94	34.19	10.69	36.37	0.82
ГК БУТ	0.75	<0.2	7.30	7.67	33.19	8.33	42.81	0.70
ГК БУТ-H ₂ O ₂ (5)	0.70	<0.2	6.84	7.14	31.43	8.60	45.30	0.72
ГК БУТ-H ₂ O ₂ (10)	0.51	<0.2	7.61	7.32	33.28	7.99	43.29	0.69
ГК БУТ-Bu	0.66	<0.2	6.52	7.46	28.40	14.37	42.76	0.99

Примечание. Обозн. см. табл. 2.

гидрофильно-гидрофобные свойства и, как следствие, биологическую активность.

следований (грант № 18-55-91033) с использованием оборудования ЦКП ФИЦ УУХ СО РАН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В опытах с семенами пшеницы установлено, что индекс фитоактивности гуминовых кислот, выделенных из бурых углей, повышается на 14–27 % по сравнению с контрольным тестом и зависит от концентрации применяемых гуматов. Наибольший эффект проявляется при концентрации 0.005 %. В результате химического модифицирования изменяется структурно-групповой состав и биологическая активность гуминовых кислот. Гуминовые кислоты, модифицированные пероксидом водорода, проявляют более низкую, а модифицированные *n*-бутанолом, – более высокую биологическую активность по сравнению с нативными образцами. Обнаружена тенденция к уменьшению индекса фитоактивности гуминовых кислот при снижении содержания парамагнитных центров в процессе модифицирования пероксидом водорода, однако наблюдается увеличение этого показателя с повышением гидрофильно-гидрофобного фактора Φ₁ в процессе модифицирования *n*-бутанолом.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИУХМ ФИЦ УУХ СО РАН (проект № АААА-А17-117041910148-9) и при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных ис-

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Stevenson F. J. Humus Chemistry. 2nd Edition. New York: John Wiley&Sons, 1994. 496 p.
- 2 Курочкина Г. Н. Влияние адсорбции гуминовой кислоты на коагуляционную устойчивость почвенных суспензий // Почвоведение. 2020. № 1. С.69–80.
- 3 Щербан В. С., Луковников А. В. Безопасность жизнедеятельности в сельскохозяйственном производстве. М.: Колос, 2004. 495 с.
- 4 Кашинская Т. Я. Использование торфа для получения продуктов на основе гуминовых кислот // Химия тв. топлива. 2017. № 6. С. 47–52.
- 5 Senesi E. N., Miano T. M. Humic Substances in Global Environment and Implication on Humin Health. Amsterdam: Elsevier Sci., 1994. 910 p.
- 6 Драгунов С. С. Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. Днепропетровск: ДСХИ, 1980. С. 5.
- 7 Кухаренко Т. А. Структура гуминовых кислот, их биологическая активность и последствие гуминовых удобрений // Химия тв. топлива. 1976. № 2. С. 24–31.
- 8 Zherebtsov S. I., Malyshenko N. V., Votolin K. S., Androkhyanov V. A., Sokolov D. A., Dugorjiev J., Ismagilov Z. R. Structural-group composition and biological activity of humic acids obtained from brown coals of Russia and Mongolia // Solid Fuel Chemistry. 2019. Vol. 53, No. 3. P. 145–151.
- 9 Чуков С. Н., Талашкина В. Д., Надпорожская М. А. Физиологическая активность ростовых стимуляторов торфов и гуминовых кислот почв // Почвоведение. 1995. № 2. С. 169–173.
- 10 Бямбагар Б., Кушнарев Д. Ф., Федорова Т. Е., Новикова Л. Н., Яковлева Ю. Н., Островская Р. М., Пройдаков А. Г., Калабин Г. А. Взаимосвязь фрагментного со-

- става гуминовых кислот с их физиологической активностью // *Химия тв. топлива*. 2003. № 1. С. 83–90.
- 11 Калабин Г. А., Каницкая Л. В., Кушнарев Д. Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. М.: Химия, 2000. 408 с.
 - 12 Наумова Г. В., Стригуцкий В. П., Жмакова Н. А., Овчинникова Т. Ф. Связь молекулярной структуры гуминовых кислот и их биологической активности // *Химия тв. топлива*. 2001. № 2. С. 3–13.
 - 13 Жеребцов С. И., Малышенко Н. В., Смотрина О. В., Брюховецкая Л. В., Исмагилов З. Р. Сорбция катионов меди нативными и модифицированными гуминовыми кислотами // *Химия уст. разв.* 2016. Т. 24, № 3. С. 399–403.
 - 14 Лебедева Г. Ф., Яркова Т. А., Платонов В. В., Проскуряков В. А., Чернышева Н. И. Гидробромирование – метод повышения биологической активности гуминовых препаратов // *Журн. приклад. химии*. 2005. Т. 78, № 5. С. 870–872.
 - 15 Dobbss L. B., Canellas L. P., Olivares F. L., Aguiar N. O., Peres L. E., Azavedo M., Spaccini R., Picollo A., Facanha A. R. Bioactivity of chemically transformed matter from vermicompost on plant root growth // *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58, No. 6. P. 3681–3688.
 - 16 Тайц Е. М., Андреева И. А. Методы анализа и испытания углей. М.: Недра, 1983. 301 с.
 - 17 Воронина Л. П., Якименко О. С., Терехова В. А. Оценка биологической активности промышленных гуминовых препаратов // *Агрохимия*. 2012. № 6. С. 50–57.
 - 18 Вавилов П. П., Гриценко В. В., Кузнецов В. С. Практикум по растениеводству. М.: Колос, 1983. 352 с.
 - 19 ГОСТ 12038–84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. М.: Изд-во стандартов, 1984. 30 с.
 - 20 ГОСТ Р 54221–2010. Гуминовые препараты из бурых и окисленных каменных углей. Методы испытания. М.: Стандартинформ, 2012. 10 с.
 - 21 Шакс И. А., Файзуллина Е. М. Инфракрасные спектры ископаемого органического вещества. М.: Недра, 1974. 131 с.
 - 22 Жеребцов С. И., Малышенко Н. В., Исмагилов З. Р. Механизм алкилирования спиртами твердых горючих ископаемых низкой стадии углефикации // *Химия уст. разв.* 2015. Т. 23, № 1. С. 139–145.