
ХІМІЯ ҐРУНТІВ

УДК 631.4:631.872

И. И. Загорчевный, Л. Н. Михальская, В. В. Швартау

ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА И УДОБРЕНИЯ НА ИХ ОСНОВЕ

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины

В обзоре обобщены результаты исследований структуры и свойств гуминовых веществ. Рассмотрены особенности комплексных удобрений на основе гуматов, их преимущества и перспективы использования.

Ключевые слова: органические удобрения, гуминовые вещества, гумус.

I. I. Zakorchevnyi, L. N. Mychalskaja, V. V. Schwartau

Institute of plants physiology and genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine

ГУМІНОВІ РЕЧОВИНИ ТА ДОБРИВА НА ЇХ ОСНОВІ

В огляді узагальнено результати досліджень структури та властивостей гумінових речовин. Розглянуто особливості комплексних добрив на основі гуматів, їх переваги та перспективи використання.

Ключові слова: органічні добрива, гумінові речовини, гумус.

I. I. Zakorchevnyi, L. N. Mychalskaja, V. V. Schwartau

Institute of plants physiology and genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine

HUMIC SUBSTANCE AND FERTILIZERS ON THEIR BASIS

The present paper presents the results of the research of structure and properties of humic substances. Main features of complex humic fertilizers, their advantages and prospects of using are considered.

Keywords: organic fertilizers, humic substance, humus.

Современное растениеводство основано, с одной стороны, на получении максимального и качественного урожая с минимальными затратами, а с другой – сохранении и увеличении почвенного плодородия. Для решения первой задачи используются современные методы обработки почвы, внесения оптимальных доз минеральных и органических удобрений, сидератов и средств защиты растений. Сохранение плодородия почв в современных условиях является одной из самых сложных задач сельского хозяйства. Сюда входят проблемы сохранения органического вещества, физических характеристик и режимов, микробиологической активности и эрозионной устойчивости почв, сохранения гомеостаза элементов питания, отсутствия контаминации тяжелыми металлами (Моргун, 2010).

Известно, что применение в технологиях растениеводства гуминовых удобрений из различных источников позволяет комплексно решить изложенные выше проблемы с минимальными затратами (Шнюков, 2011). Гуминовые вещества являются одними из самых распространенных углеродсодержащих материалов на земной поверхности, они встречаются в почвах, углях, морской и пресной воде, торфах и сапропелях (Кононова, 1963).

© Загорчевный И. И., Михальская Л. Н., Швартау В. В., 2012

Гуминовые вещества (далее – ГВ) – это сложные системы природных органических и минерал-органических соединений, динамически устойчивых к биоразложению, образующихся в результате вторичного синтеза путем самоорганизации в молекулярные ансамбли с высокой степенью неупорядоченности структуры и полидисперсности молекулярных масс (Перминова, 2000).

Согласно общепринятой классификации, основанной на различной растворимости в кислотах и щелочах, различают следующие группы ГВ:

- 1) гуминовые кислоты, растворимые только в щелочных растворах;
- 2) гиматомелановые кислоты, извлекаемые из сырого остатка гуминовых кислот этиловым спиртом;
- 3) фульвокислоты, растворимые в воде, щелочных и кислых растворах. В понимании У. Форсита, в составе последних различают истинные фульвокислоты, которые отделяют из кислоторастворимой фракции на активированном угле, тогда как согласно пониманию И. В. Тюрина, фульвокислотами называют все вещества, находящиеся в кислом фильтрате после осаждения и отделения гуминовых кислот;
- 4) гумин – практически нерастворимое и неизвлекаемое из природных тел и компостов органическое вещество (Орлов, 1993).

Обо всех этих группах гуминовых кислот обычно говорят во множественном числе (например, гуминовые кислоты), так как их состав и свойства меняются в зависимости от источника ГВ. Даже в препаратах, полученных из одного источника – того же типа почв, торфа, угля – они неоднородны, полидисперсны и представлены большим набором сходных по строению, но неидентичных молекул.

Понятием «гумусовые кислоты», обычно, обобщают гуминовые и фульвокислоты (далее – ГФК). Это наиболее подвижные и реакционноспособные компоненты ГВ, участвующие во многих химических процессах природных экосистем (Stevenson, 1982). ГФК представляют собой сложную смесь высокомолекулярных полифункциональных соединений алициклической, ароматической и гетероциклической природы. Несмотря на то, что ГВ – это смесь органических веществ нерегулярной структуры, их макромолекулам присущ ряд внутренних закономерностей. Гуминовые кислоты относят к классу полиоксиполикарбонновых кислот, которые являются природными полиэлектролитами. В общем виде брутто-формула ГВ следующая: $C_xH_yN_zO_pS_qM_r + (Al_2O_3)_l(SiO_2)_m(H_2O)_n$, где М – ионы металлов (Орлов, 1990).

Решение задачи разделения гумусовых кислот на группы заключается в использовании прямого межфазного массообмена в тех вариантах растворения-осаждения, которые основаны на распределении макромолекул между раствором и осадком в зависимости от их размера и состава. Такие варианты обычно включают разделение щелочного раствора ГВ на сложную смесь веществ, одни из которых, выделяющиеся из фазы раствора при его подкислении – гуминовые кислоты, а компоненты, остающиеся в надосадочной жидкости – фульвокислоты. Гиматомелановые кислоты определяют как компоненты, переходящие в раствор при обработке свежего осадка гуминовых кислот этанолом (реже ацетоном или диоксаном). Результаты разделения ГВ в значительной степени зависят от условий проведения эксперимента. Способы расчета равновесия между раствором и осадком для ГВ не разработаны, а процесс разделения описывается на феноменологическом уровне (Шинкарёв, 2000).

Указанные моменты связаны с отсутствием работ по методологии аналитического исследования и численного описания строения органических объектов стохастического характера. В связи с этим, особое внимание уделяется рассмотрению аналитических методов и подходов, которые наиболее часто используются для исследования строения и свойств гуминовых веществ.

Элементный состав ГВ – один из важнейших факторов, который обуславливает выбор методов их химического и физико-химического анализа. По набору элементов

и их количественному содержанию ГК существенно отличаются от живых организмов, минералов и горных пород (Орлов, 1997), как показано на рис. 1 (Перминова, 2000; Perdue, 2003).

Основными элементами, образующими молекулы ГФК, являются углерод, водород и кислород. Азот и сера содержатся на уровне 1–5 % (Орлов, 1992), обязательной составной частью являются микроэлементы и вода (Кононова, 1963). Средний элементный состав органической части ГФК различного происхождения приведен в табл. 1, являющийся результатом статистической обработки данных по элементному составу 650 препаратов ГФК, опубликованных в более чем 400 литературных источниках (Rice, 1991).

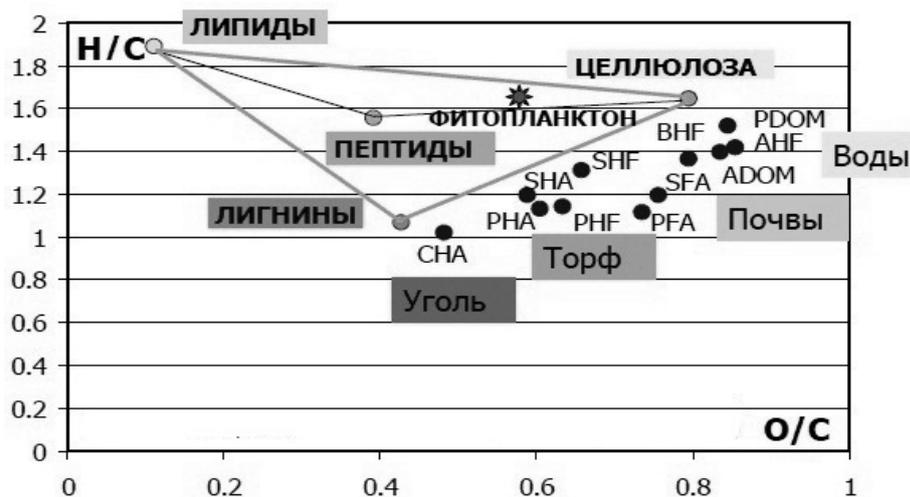


Рис. 1. Элементный состав гуминовых веществ и живого органического вещества (Перминова, 2000; Perdue, 2003)

Примечание. Для ЖВ приведены медианы значений опубликованных данных, приведенные в Perdue and Ritchie, 2003. Для ГВ приведены средние значения для классов ГВ, как описано в работе Перминовой, 2000.

Как видно из табл. 1, содержание углерода в ГК различного происхождения варьирует от 50 до 60 %, кислорода – от 30 до 40 %. Для ГК характерны более низкие значения атомного соотношения Н/С, чем для ФК, что указывает на их большую ненасыщенность. Данный показатель убывает в следующем ряду: морские донные отложения > пресные воды > торфа ≈ почвы. ФК характеризуются более низким содержанием углерода и более высоким – кислорода, что предполагает большую степень замещения ароматического каркаса ФК кислородсодержащими функциональными группами. Максимальное содержание кислорода характерно для ФК пресных вод (Коваленко, 2003).

По элементному составу можно получить только общее представление о типе строения гумусовых кислот. Например, атомные соотношения Н/С и О/С позволяют оценить такие параметры структуры, как содержание ненасыщенных фрагментов и кислородсодержащих функциональных групп. Так, при соотношении Н/С < 1 можно говорить о преобладании в структуре ГК ароматических фрагментов. Если это отношение находится в диапазоне 1,0 < Н/С < 1,4, то структура ГК носит преимущественно алифатический характер (Орлов, 1992).

Следует отметить, что наиболее узкими диапазонами стандартных отклонений (5–10 % (отн.) от среднего) характеризуются содержания С и О. Разброс значений для Н гораздо больше (10–20 % от среднего), но максимальные значения стандартных отклонений достигаются для содержаний N и S. По-видимому, это

связано с большими ошибками в определении N и S из-за их низкого содержания по сравнению с C, H и O. Нельзя исключать и того, что содержание N и S в гумусовых кислотах не подчиняется каким-либо устойчивым закономерностям, а является довольно случайным (Перминова, 2000).

Таблица 1

**Средний элементный состав гумусовых кислот различного происхождения
в расчете на беззольную навеску**

Препарат	Содержание элементов					Атомные отношения	
	C	H	O*	N	S	O/C	H/C
ГК почв (n=215)	55,4±3,8	4,8±1,0	36,0±3,7	3,6±1,3	0,8±0,1 (n=67)	0,50±0,09	1,04±0,25
ФК почв (n=127)	45,3±5,4	5,0±1,0	46,2±5,2	2,6±1,3	1,3±0,5 (n=45)	0,78±0,16	1,35±0,34
ГК торфа (n=23)	57,1±2,5	5,0±0,8	35,2±2,7	2,8±1,0 (n=21)	0,4±0,2 (n=12)	0,47±0,06	1,04±0,17
ФК торфа (n=12)	54,2±4,3	5,3±1,1	37,8±3,7	2,0±0,5	0,8±0,2 (n=11)	0,53±0,09	1,20±0,33
ГК вод (n=56)	51,2±3,0	4,7±0,6	40,4±3,8	2,6±1,6	1,1±0,3 (n=13)	0,6±0,08	1,12±0,17
ФК вод (n=63)	46,7±4,3	4,2±0,7	45,9±5,1	2,3±1,07	1,2±0,7 (n=14)	0,75±0,14	1,10±0,13

Примечание. n – число препаратов, ± – стандартное отклонение. Подавляющее число данных по содержанию кислорода получено по разности (Rice, 1991).

Варьирование опубликованных данных элементного состава вызвано тремя основными причинами: изменчивостью условий гумификации, как следствие и самих гумусовых веществ, в пространстве и времени; различиями приемов выделения гумусовых веществ из почвы; ошибками при подготовке проб к анализу и в ходе самого анализа (Орлов, 1992).

Структурно-групповой состав гуминовых кислот

К настоящему времени в гумусовых кислотах обнаружено более десяти различных типов кислород-, азот- и серосодержащих функциональных групп: карбоксильные, фенольные и спиртовые гидроксильные, карбонильные, хинонные, метоксильные, сложноэфирные, энольные, аминок-, амидо- и имидогруппы, тиольные и дисульфидные группы (Schnitzer, 1972).

Поскольку суммарное содержание серы и азота в ГФК обычно не превышает 5 %, можно с уверенностью считать, что химическое поведение гумусовых кислот определяется, в основном, кислородсодержащими функциональными группами (Stevenson, 1982).

Согласно литературным данным (Perdue, 1984), в зависимости от источника происхождения, варьирует и содержание функциональных групп в ГФК. Так, препараты водного происхождения, как правило, характеризуются повышенным содержанием карбоксильных групп (Schulten, 1993). Однако, более отчетливо прослеживается следующая тенденция: независимо от источника происхождения, ФК характеризуются более высоким содержанием карбоксильных групп, чем ГК.

Все традиционные методы функционального анализа (титриметрические, ЯМР-спектроскопия и др.) лишь ограниченно применимы для исследования ГФК. Это обусловлено низкой растворимостью ГФК в нейтральных водных средах и большинстве органических растворителей, а также протеканием побочных процессов (окисление, дегидратация и др.) (Schnitzer, 1972).

Так, титриметрические методы основаны на нейтрализации кислотных групп ГФК сильными и слабыми основаниями, позволяющие определять только кислотные

группы. Тогда как методы химической модификации делают возможным определение не только кислотных, но и не проявляющих кислотных свойств функциональных групп. Например, реакции алкилирования реагентами, вводящими метильные, триметилсилильные и другие группы, используют для определения карбоксильных групп в ГФК. А для определения гидроксильных групп используют как алкилирование, так и ацилирование, которые переводят гидроксильные группы как в простые, так и в сложные эфиры (Данченко, 1997).

В целом, методы, основанные на химической модификации, не нашли широкого применения в анализе ГФК. Однако, в последнее время они все чаще используются в сочетании с методом ЯМР-спектроскопии на различных ядрах (Leenheer, 1989).

Титриметрические методы анализа гуминовых кислот

Потенциометрическое титрование

Потенциометрическое титрование является общепринятым методом определения содержания кислотных групп (Сиггя, 1983). Однако использование этого простого метода для анализа ГФК сопряжено со значительными трудностями:

1. Кривые титрования ГФК не содержат четких перегибов, поэтому для установления конечной точки титрования требуется их математическая обработка (Bowles, 1994).

2. Для полноты определения слабокислотных групп требуется достижение очень высоких концентраций щелочи, при которых точные измерения рН раствора затруднены (Скуг, 1979). Несмотря на указанные проблемы, данный метод широко используется для оценки кислотности ГФК.

Наиболее распространенный способ определения точки эквивалентности при анализе ГФК заключается в титровании до фиксированного значения рН (Herbert, 1993). Так, рН=7,0 считают окончанием титрования карбоксильных групп, а рН=10,3 – всех кислотных групп (Frimmel, 1985). Очевидно, что такой способ определения вклада карбоксильных групп весьма условен, ибо рН точки эквивалентности при титровании многих органических кислот лежит выше 7, а слабых фенольных гидроксидов – выше 11.

Другой способ заключается в подборе с помощью какой-либо математической модели минимального набора типов кислотных групп и их концентраций, удовлетворительно описывающих экспериментальную кривую титрования. При этом, суммарное содержание групп с более низкими значениями рК полагают равным содержанию карбоксильных групп (Perdue, 1985). При условии использования адекватной математической модели такой способ, вероятно, более объективен.

Отмечается, что результаты определения кислотных групп ГФК потенциометрическим титрованием существенно ниже данных других методов (Piccolo, 1990). Вероятно, это связано с неполной диссоциацией фенольных гидроксидов в условиях титрования. Кроме того, установлено, что количество доступных функциональных групп в структуре молекул зависит от концентрации солей гуминовых кислот в растворе (Ковтун, 2010).

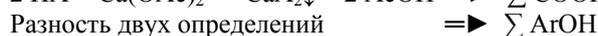
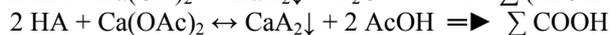
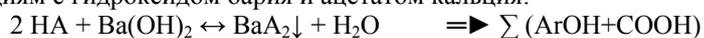
Для более полного определения кислотных групп ГФК используют потенциометрическое титрование в неводных средах (Ephraim, 1989), так как органические растворители способствуют уменьшению рК слабых кислот и дифференциации близких величин рК. В результате получают кривые титрования ГФК с более выраженными одним или даже двумя перегибами (Ephraim, 1989). В качестве растворителей используют пиридин, этилендиамин, ДМФА и ДМСО (Andres, 1987); в качестве титранта – растворы алкоголята натрия в безводном спирте или гидроксида тетрабутиламмония в изопропанолу.

Помимо потенциометрического, для определения содержания кислотных групп в ГФК используются и другие виды титрования: термометрическое (Perdue, 1980), кондуктометрическое (Van Den Hoop, 1990), осадительное с цетилтриметиламмонием

(De Nobili, 1994). Однако, ввиду сложного аппаратного оформления и трудоемкости они не получили широкого распространения.

Обратное и заместительное титрование

Установлено, что гумусовые кислоты образуют со щелочноземельными металлами малорастворимые соли (Schnitzer, 1972). Данное свойство широко используется в традиционных методах определения кислотных групп в образцах ГФК по реакциям с гидроксидом бария и ацетатом кальция:



(А – кислотный остаток гумусовых кислот).

Для определения числа прореагировавших групп после осаждения гуматов в баритовом методе, избыток $\text{Ba}(\text{OH})_2$ титруется HCl , в Са-ацетатном – определяется количество уксусной кислоты, высвободившейся в результате реакции. Несмотря на образование малорастворимых соединений, обе реакции в значительной степени обратимы (Perdue, 1985) и для достижения полноты превращения необходим существенный избыток реагента. Кроме того, удаление ГФК из раствора в виде осадка гуматов бария или кальция приводит к сдвигу равновесия вправо и, следовательно, более полному определению групп по сравнению с потенциометрическим титрованием (Данченко, 1997).

Остаются не решенными основные проблемы баритового и Са-ацетатного методов: четко не определены условия количественного протекания реакций разных препаратов с обоими реагентами (Perdue, 1985); выбор количественных соотношений реагент/субстрат – в различных вариантах методик без обоснования рекомендуются различные соотношения (Gillarn, 1982); правильность определения точки эквивалентности при количественном определении избытка $\text{Ba}(\text{OH})_2$ или выделившейся уксусной кислоты (Perdue, 1980); влияние на результаты определения образования растворимых гуматов и фульватов Ва и Са (Perdue, 1980).

Таким образом, баритовый и Са-ацетатный методы являются доступными и достаточно универсальными для анализа ГФК почв и углей, тогда как определение границ и условий их применимости для анализа водных и других образцов должны составить предмет дополнительного исследования (Перминова, 2000).

Деструктивные методы анализа гуминовых кислот

Для изучения строения углеродного скелета гумусовых кислот активно используются деструктивные методы анализа (Norwood, 1988; Орлов, 1990). Благодаря применению данных методов, в широкий обиход вошли понятия «каркас» и «периферия», которые изначально использовались для обозначения негидролизующей и гидролизующей части гумусовых кислот в условиях кислотного гидролиза. На сегодняшний день в них вкладывают вполне конкретный химический смысл, понимая под каркасом ароматический углеродный скелет, а под периферией – углеводно-пептидный комплекс гумусовых кислот (Орлов, 1990). Таким образом, можно существенно повысить уровень детализации описания строения гумусовых кислот, используя данные о структурно-групповом составе вышеуказанных строительных блоков (Перминова, 2000).

Согласно Орлову, при гидролизе 6М HCl в раствор переходит 30–45 % массы ГК почв и 60–75 % ФК (Орлов, 1990). Гидролизуемость гуминовых кислот торфов и бурых углей несколько ниже. Изучение состава гидролизатов дает ясное представление об основных компонентах, образующих гидролизующую периферию гумусовых кислот, как показано в табл. 2.

Получение новой информации о составе каркасной и периферической частей гумусовых кислот с помощью деструктивных методов анализа – важнейший инструмент для более глубокого понимания принципов строения гумусовых кислот.

К сожалению, из-за трудностей соблюдения материального баланса при проведении деструкции препаратов гумусовых кислот весьма проблематичным становится численное описание строения гумусовых кислот. Именно по этой причине гораздо более перспективным представляется использование недеструктивных методов структурного анализа (Перминова, 2000).

Таблица 2

Состав гидролизуемой части ГК и ФК почв, % масс (Орлов, 1991)

Структурные фрагменты	ГК		ФК
	Чернозем	Дерново-подзолистая почва	
Аминокислоты	13	18	11
Аминосахара	4	4	6
NH ₃	2	3	3
Вещества типа фульвокислот	14	15	–
Углеводы	66	59	80
Бензолкарбоновые кислоты	1	1	0

Методы спектроскопии ЯМР

Одним из высокоинформативных физических методов исследования является спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) высокого разрешения. Данный метод позволяет получить детальную информацию о строении гуминовых кислот и дает возможность охарактеризовать структурные особенности ГК исследуемой почвы.

Со середины XX века и по настоящее время ведутся многие исследования, посвященные изучению молекулярной структуры различных почв методом ¹³C-ЯМР. Полученные данные показывают, что в макромолекулах ГК в сопоставимых количествах содержатся как ароматические, так и алифатические фрагменты (Тихова, 2002). Согласно Перминовой, в гумусовых веществах могут быть определены следующие углеродсодержащие группы: карбоксильная, карбонильная, метоксильная, полиметиловая, эфирная, ацетальная и др. (Перминова, 2000).

Полидисперсность и химическая гетерогенность гумусовых кислот приводит к тому, что ¹³C ЯМР спектры этих соединений не содержат разрешенных пиков, относимых к ядрам ¹³C определенного типа, а представляют собой суперпозицию большого числа слабовыраженных сигналов.

Что интересно, интерпретация сигналов ЯМР совпадает не полностью у разных авторов. К примеру, набор максимумов и величины химического сдвига значительно варьируют (Лодыгин, 2003). Таким образом, наблюдается принципиальная нестрогость количественного анализа спектра гумусовых кислот при разбиении на диапазоны в связи с невозможностью количественного учета перекрывания групп сигналов.

На протяжении двух последних десятилетий основной областью применения спектроскопии ¹³C-ЯМР для анализа гумусовых кислот остается количественная характеристика относительного содержания углерода в составе различных структурных фрагментов молекул гумусовых кислот.

Основные проблемы ¹³C-ЯМР гумусовых кислот, согласно Перминовой, заключаются в следующем: ограниченная растворимость ГФК; перекрывание спектральных областей; различие во временах релаксации ядер углерода различных типов; большие затраты времени на получение спектра (Перминова, 2000).

Молекулярно-массовый состав гуминовых кислот

Молекулярная масса – фундаментальная характеристика любого вещества, в том числе и гумусовых кислот. ГФК являются высокомолекулярными соединениями ионогенного характера, что определяет их полиэлектролитные свойства (Орлов, 1992).

Индивидуальные органические соединения характеризуются единственным значением ММ, тогда как гумусовые кислоты обладают набором молекулярных масс из-за своей полидисперсности. Поэтому их характеризуют молекулярно-массовым распределением (ММР), на основании которого рассчитывают среднюю ММ. В зависимости от способа усреднения получают три вида молекулярных масс: среднечисловую (M_n), средневесовую (M_w) и z-среднюю (M_z) (Лачинов, 1987).

Если в монодисперсных системах все способы усреднения приводят к получению одной и той же величины молекулярной массы, то в полидисперсных системах выполняется соотношение:

$$M_z > M_w > M_n,$$

при этом отношение M_w/M_n используется как показатель полидисперсности. Для характеристики гумусовых кислот наиболее часто используют их средневесовую молекулярную массу (Орлов, 1992).

Для определения ММ гуминовых веществ используют целый ряд методов (Swift, 1989): светорассеяние, гель-проникающую хроматографию, ультрацентрифугирование, вискозиметрию и методы, основанные на измерении коллигативных свойств. Величины молекулярных масс ГФК, определяемые такими методами, лежат в широком диапазоне значений – от сотен до миллионов Дальтон и существенно зависят от метода определения.

Для каждого из способов характерны свои особенности. Так, методы, основанные на измерении коллигативных свойств полимера (осмометрия, криоскопия, эбулиоскопия), чрезвычайно чувствительны к присутствию низкомолекулярных примесей в анализируемом образце. Поэтому их применение для анализа препаратов гумусовых кислот, которые практически всегда содержат низкомолекулярные зольные компоненты, может приводить к существенному занижению молекулярной массы. Величины среднечисловой ММ, найденные этим способом (Clapp, 1989), составляют от 500 до 1000 Да.

Метод вискозиметрии также очень чувствителен к присутствию высокомолекулярных примесей, а метод светорассеяния (Wershaw, 1989) позволяет определить исключительно средневесовую ММ (M_w). Большое значение оказывает взаимодействие гумусовых кислот с мембранами при определении величины молекулярных масс методом ультрафильтрации. Наиболее полное представление о молекулярно-массовом распределении гумусовых кислот дает метод гель-проникающей хроматографии (ГПХ) (De Nobili, 1989).

Метод эксклюзионной хроматографии

Ввиду полидисперсности гумусовых кислот, оптимальным методом определения их ММ состава является эксклюзионная хроматография, позволяющая получать информацию о полной кривой молекулярно-массового распределения (ММР). Данный метод используется для анализа гумусовых кислот с 1963 г. (Познер, 1963).

Метод ГПХ позволяет определять размеры макромолекул, их молекулярные массы и некоторые структурные особенности – степень разветвленности полимеров, зависимость размеров макромолекул сополимеров от их состава и молекулярных масс, число изомеров, ассоциатов и комплексов в белковой и полимерной смеси, а также соответствующие равновесные константы изомеризации, ассоциации и комплексообразования (Беленький, 1978).

В методе ГПХ роль неподвижной фазы играет макропористый сорбент, адсорбционно-инертный по отношению к молекулам исследуемого вещества. В качестве таких сорбентов используют силикагели и сфероны, обладающие хорошо развитой пористой структурой. В качестве детекторов используют рефрактометрический, фотометрический, флуоресцентный, проточный детектор растворенного органического углерода, позволяющий определять содержание

органического углерода в образце, а также детектор по светорассеянию (Von Wandruszka, 1999).

В связи с тем, что ГПХ представляет собой не абсолютный, а относительный метод определения молекулярных масс, колонку калибруют по веществам с известными молекулярными массами. В качестве образцов сравнения для гумусовых кислот используют белки, полидекстраны, полиэтиленгликоли и полистиролсульфонаты. Молекулярные массы гуминовых веществ, выделенных из различных источников, отличаются по своим значениям (Perminova, 2003). Данные приведены в табл. 3.

Таблица 3

Молекулярные массы, полученные для гуминовых веществ различного происхождения

Образцы	Диапазон M_w , кДа
водные ФК	0.3–17
водные ГК и ГФК	1–30
угольные ГК	4–5
торфяные ГК	4–22
дернисто-подзолистые ФК	1–5
дернисто-подзолистые ГК	100–700
почвенные	100–200

Очевидно, что ММ закономерно изменяется для гуминовых веществ различного происхождения. Как видно из табл. 3, наибольшие значения ММ характерны для почвенных ГВ. Тогда как для угольных, водных и торфяных ГВ значения меньше на несколько порядков.

Неэкслюзионные эффекты в гель-проникающей хроматографии гумусовых кислот

Определение молекулярных масс гумусовых кислот методом ГПХ сопряжено с появлением артефактов, обусловленных взаимодействием аналита с гелем:

1. Сверхэкслюзия, которая объясняется тем, что гидрофильные декстрановые и полиметакрилатные гели содержат остаточные количества карбоксильных групп, ионизация которых приводит к образованию отрицательного заряда на частицах геля. Вследствие этого полианион гумусовых кислот исключается из пор по законам значительно более сильной ионной эксклюзии. Для его устранения гель-хроматографический анализ полиэлектролитов обычно проводят в среде низкомолекулярного электролита (фоновый электролит NaCl или KCl). Величина указанного эффекта зависит от свойств геля и анализируемых гумусовых кислот (Перминова, 2000).

2. Специфической адсорбции, которая возникает в результате образования гидрофобных или водородных связей между аналитом и матрицей геля. Как следствие, объем элюирования аналита существенно возрастает и может превысить общий объем колонки. Это приводит к занижению определяемого значения ММ.

Для подавления специфической адсорбции к элюенту добавляют гидрофобный органический растворитель или используют элюэнты, подавляющие этот эффект (например, тетраборат натрия с добавлением 0,001M $Na_4P_2O_7$ (Town, 1992), 1 M 2-амино-2-гидроксиметил-1,3-пропандиола хлорид (TRIS) (Piccolo, 1987), 10мМ ацетат натрия (Reugavuoigi, 1997)).

3. Влиянием pH пробы, вводимой в колонку, а именно уменьшением объема эксклюзии с возрастанием pH. Этот эффект объясняется изменением состояния молекул гумусовых кислот (в частности, их ассоциацией в кислых условиях), а также влиянием ионной силы (Sochtig, 1972).

Кроме того, важной задачей является подбор адекватных стандартных образцов для калибровки колонки из-за полиэлектролитных свойств и стохастического характера гумусовых кислот. Наиболее распространенными калибровочными веществами являются полистиролсульфонаты (ПСС), полидекстраны (ПД) и белки. Становится очевидным, что определяемая величина ММ непосредственно зависит от плотности удельного заряда полимеров, используемых в качестве калибровочных веществ. Таким образом, с точки зрения Перминовой, колебания величин ММ гумусовых кислот, приводимых в литературе, определяются во многом условиями проведения гель-хроматографического анализа (Перминова, 2000).

Характеристика гуминовых веществ различных стадий гумификации. Влияние микроорганизмов

Все ГВ образуются в результате посмертного превращения органических остатков, то есть, в процессе гумификации. Данный процесс идет вне живых организмов, как с их участием, так и путем чисто химических реакций окисления, восстановления, гидролиза, конденсации и др. (Тейт, 1991).

В отличие от живой клетки, в которой синтез биополимеров осуществляется в соответствии с генетическим кодом, в процессе гумификации нет какой-либо установленной программы, поэтому могут возникать любые случайные соединения, как более простые, так и более сложные, чем исходные биомолекулы. Образующиеся продукты вновь подвергаются реакциям синтеза или разложения, и такой процесс идет практически непрерывно. В результате многочисленных реакций в природных телах накапливаются только наиболее устойчивые соединения, существующие более длительное время, чем лабильные вещества. Иногда говорят, что у них среднее время пребывания в почве выше (Орлов, 1997). Это иллюстрируется графиком (рис. 2), согласно которому в растительных остатках преобладают сравнительно легкоразлагаемые соединения, но по мере развития гумификации в ряду растительные остатки – дерново-подзолистые почвы – серые лесные почвы – черноземы доля лабильных веществ непрерывно снижается, а доля устойчивых – возрастает. Если этот ряд продлить до углей, то в них явно преобладают устойчивые компоненты. По этой причине ГВ считают первой устойчивой формой органических соединений углерода вне живых организмов (Горовая, 1995).

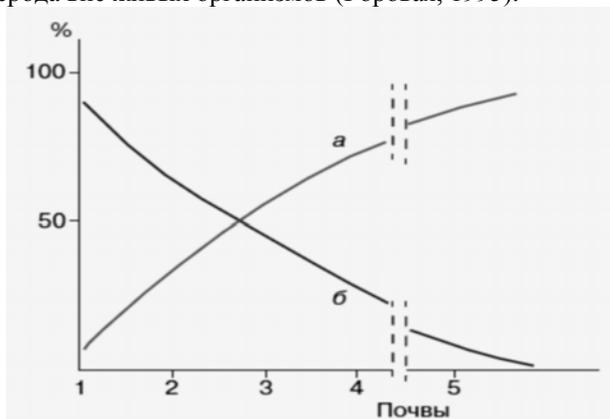


Рис. 2. Относительная устойчивость органических соединений в природных телах: а – содержание относительно устойчивых компонентов, б – содержание лабильных элементов; 1 – растительные остатки, 2 – дерново-подзолистые почвы, 3 – серые лесные почвы, 4 – черноземы, 5 – бурые угли (Орлов, 1997)

Поскольку гумусовые вещества биотермодинамически более устойчивы, чем органические соединения попадающих в почву растительных остатков, то гумусообразование можно рассматривать как преимущественно такой процесс, в ходе

которого происходит своеобразный естественный отбор, когда относительно непрочные, лабильные вещества органических остатков и продуктов их трансформации быстро минерализуются, разлагаются или усваиваются организмами, пребывая в почвах лишь короткий промежуток времени. Многообразная и непрерывная цепь всех этих превращений задерживается на том звене, которое представлено наиболее устойчивыми соединениями. С точки зрения Гришиной (1986), такими соединениями являются гуминовые кислоты и, видимо, компоненты гумина.

Изложенный общий принцип определяет важнейшую сторону процесса гумификации – его направленность. Это означает, что биотермодинамически процесс гумификации всегда проходит в сторону отбора устойчивых продуктов трансформации независимо от факторов почвообразования и типа почвы. Поэтому гумификация – процесс глобальный, а гуминовые вещества всех почв и других природных сфер имеют общий принцип строения (Орлов, 1996).

Оптимальными условиями образования ГК в почвах являются (Ганжара, 1993): нейтральная, или близкая к нейтральной, реакция среды; умеренная биологическая активность в течение длительного периода; насыщенность среды кальцием, магнием и азотом; невысокие концентрации пептизаторов.

Накопление ГВ в биокосных телах ограничено как скоростью образования этих веществ, так и условиями их закрепления минеральной частью. С точки зрения Дюшефура (Дюшефур, 1970), в процессе гумификации можно выделить две фазы. В течение относительно короткой первой фазы – биологической – под действием микроорганизмов происходит образование «молодых» ГВ, непрочно связанных с минеральной частью почвы. Во время более длительной второй фазы гумификации – климатической – в результате влияния сезонных климатических условий происходит «созревание» и стабилизация ГВ, а также увеличение числа связей ГВ с минеральной частью.

Гумификация протекает медленно, поэтому на любом этапе изучения ГВ исследователи имеют дело не только с конечным продуктом, но и с рядом промежуточных продуктов разложения растительного материала и ГВ. Следует отметить, что при изучении процессов гумификации четко прослеживаются два разных направления:

1. Экологическое – с этой точки зрения процесс гумификации является связующим звеном между совокупностью живых организмов (биоценозом) и той абиотической средой, которая стала материальной основой жизни и средой обитания. Основы экологического направления гумификации были заложены в конце XIX столетия Мюллером, который различал два основных типа гумуса: мулль и мор, но позднее, для обозначения промежуточного типа, Раманном был введен термин «модер». При формировании грубого гумуса мор образуется, когда в трансформации поступающего в почву органического материала принимают участие преимущественно грибы и комплекс микроорганизмов; средний гумус – модер образуется при участии грибов, микроорганизмов и микроскопических беспозвоночных; и, наконец, формирование тонкого гумуса – мулль – связано не только с грибами, микроорганизмами, микроскопическими беспозвоночными, но и с мезофауной (рис. 3), особенно если она представлена дождевыми червями (Попов, 1996).

2. Биологическое – с этой точки зрения протекание процесса гумификации происходит при непосредственном влиянии живых организмов или их ферментов в почве. Так, углеводы используются сапротрофной биотой главным образом в качестве источника энергии, и после окисления они пополняют содержание диоксида углерода в атмосфере. Белки обычно разрушаются до аминокислот, реже – до аммония, воды и диоксида углерода. Лигнин в виде разнообразных промежуточных продуктов его деградации – поли-, олиго- или мономерных звеньев – участвует в процессах гумификации, в частности при формировании ароматических частей молекул ГВ. Также было показано, что лигнин встречается среди продуктов

разложения растительных остатков, дающих бурую окраску в щелочном растворе и осаждаемых кислотой. В растительном материале – основном (по массе) источнике образования ГВ – на долю лигнина приходится 10–30 % (Александрова, 1980).

Попытки раскрыть биохимические механизмы синтеза ГВ были сделаны многими исследователями. К примеру, Шнитцер в одной из своих работ (Schnitzer, 1978) приводит обобщающую классификацию ГВ Фелбека, которая позволяет выделить четыре основных гипотезы образования ГВ:



Рис. 3. Участие биоты в трансформации органического материала (Попов, 2004)

1) Гипотеза образования ГВ в результате трансформации растительного материала – с этой точки зрения допускается, что некоторые составляющие растительных тканей, такие как лигнифицированные компоненты, относительно устойчивые к действию экзоферментов микроорганизмов и грибов, накапливаются в биокосных телах, изменяясь только внешне, и в совокупности представляют собой их органическую часть. Подчеркивается, что состав и свойства ГВ определяются природой исходного растительного материала. В течение первой стадии гумификации образуются высокомолекулярные ГК и гумины. Затем они трансформируются в ФК и далее разрушаются до углекислого газа (Дьяконова, 1962).

2) Гипотеза химической полимеризации ГВ из низкомолекулярных органических соединений – согласно с этой точкой зрения растительный материал сначала под воздействием микроорганизмов преобразуется в фенолы и аминокислоты, а затем низкомолекулярные органические соединения окисляются и полимеризируются в ГК. Таким образом, состав исходного растительного материала не влияет на природу ГВ. Согласно точке зрения М. М. Кононовой, любые растительные вещества путем сложных превращений могут участвовать в формировании ГВ. Вместе с тем, биополимеры, включая и лигнин, в большей или меньшей степени могут быть разложены микроорганизмами и грибами до конечных

продуктов минерализации. Специфической реакцией гумификации является конденсация (поликонденсация) ароматических соединений фенольного типа с аминокислотами и протеинами (Кононова, 1976).

3) Гипотеза клеточного автолиза – с этой точки зрения ГВ представляют собой продукт саморастворения растительных клеток и тел микроорганизмов после их отмирания под влиянием ферментов, содержащихся в клетках этих же организмов. Продукты разрушения этих клеток (сахара, аминокислоты и некоторые ароматические соединения – фенолы и хиноны) конденсируются и полимеризуются посредством свободных радикалов (Лукошко, 1962).

4) Гипотеза биосинтеза ГВ – предполагается, что в клетках микроорганизмов, при использовании ими растительных тканей в качестве источников углерода и энергии, синтезируется высокомолекулярный материал подобный ГВ – меланин, который после отмирания микроорганизмов поступает в биокосные тела. Меланины, так же как лигнины и другие растительные полифенолы, играют важную роль в образовании ГВ. Они синтезируются микроскопическими грибами из фенолов, хинонов, полиенов, производных аминокислот и аминсахаров. Так же как и ГК, меланины относительно устойчивы к микробному разложению (Schnitzer, 1978). Эти гуминоподобные вещества синтезируются культурами различных бактерий и грибов, которых С. Н. Виноградский (1952) назвал зимогенными.

С точки зрения А. И. Попова, данная гипотеза отражает наиболее вероятный путь образования и функционирования ГВ в почвах. В качестве подтверждения можно привести тот факт, что независимо от объекта выделения, свойства ГВ в целом сходны. Одинаковый продукт во всех климатических зонах в различных экосистемах и в разное геологическое время может быть синтезирован только биохимически. Существующие различия между ГВ, выделенными из разнообразных объектов, связаны с вторичным влиянием внешней среды (Попов, 2004).

Согласно современному пониманию гумификации В. Зихманом (Ziechmann, 1988), наиболее важными реакциями при образовании ГВ являются (рис. 4): разложение углеводов и других природных неароматических продуктов, а также синтез ароматических веществ, подобных фенолам, и продуктов разложения лигнинов и других ароматических соединений (продуктов). Начальная фаза гумификации – преобразование органического материала в устойчивые ГВ – определяется деятельностью почвенной биоты.

После разложения органических остатков (рис. 4, 1.1) происходит образование предшественников и истинных ГВ (рис. 4, 1.2). Формирование темноокрашенных продуктов (рис. 4, 3) на этой стадии процесса гумификации может также объясняться протеканием реакции Майяра. На второй стадии (рис. 4, 2) исходным материалом являются кислоты ароматического ряда, фенолы и другие низкомолекулярные соединения. Помимо рассмотренных механизмов, образование ГВ может происходить и искусственным путем – в результате химического синтеза в реакциях Майяра и гидролитического распада (Попов, 2004).

Таким образом, скорость и характер гумификации органических остатков зависят от трех групп факторов (Гришина, 1990): количества и качественного состава остатков биоты (в особенности растений); интенсивности деятельности и видового разнообразия сапротрофной биоты; режимов влажности и аэрации, кислотности и направленности окислительно-восстановительных процессов.

Следовательно, гумификация – сложный и многостадийный биофизико-химический процесс преобразования отмерших остатков и экскретов живых организмов в кинетически устойчивые природные органические соединения – ГВ, который происходит при обязательном участии сапротрофной биоты (Попов, 2004).

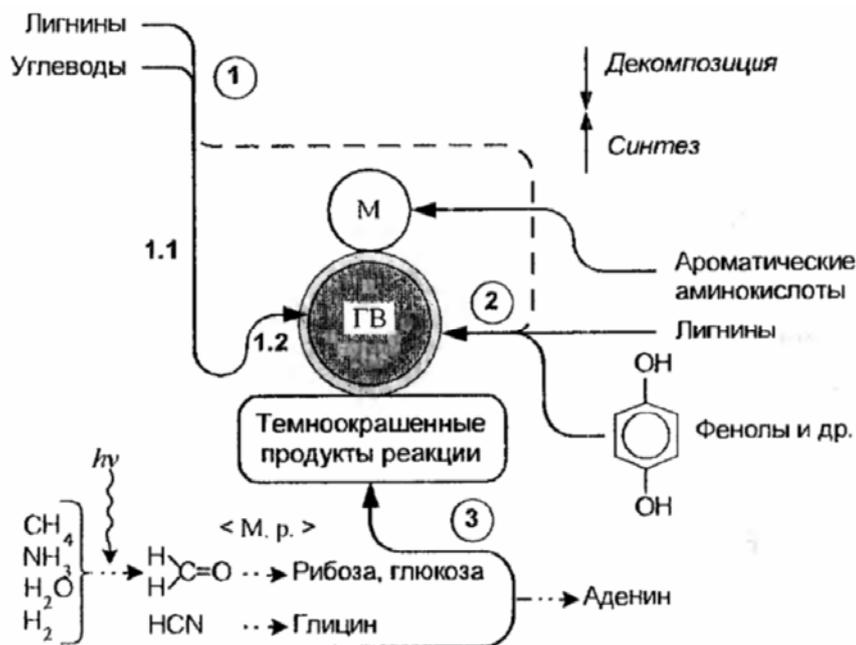


Рис. 4. Упрощенная схема образования гуминовых веществ по Зихману (Ziehm, 1988):
 М – меланины, ГВ – гуминовые вещества, М.р. – реакция Майяра

Свойства и применение гуминовых веществ. Органические удобрения на основе ГВ

В силу сложности строения, гумусовые кислоты, как наиболее реакционно-способные компоненты ГВ, могут вступать в уникально широкий спектр всевозможных взаимодействий. Наличие таких групп как карбоксильная, гидроксильная, карбонильная, в сочетании с присутствием ароматических структур, обеспечивает способность гумусовых кислот образовывать водородные, ионные и донорно-акцепторные связи, активно участвовать в сорбционных процессах. К примеру, гумусовые кислоты хорошо связывают воду, способны к ионному обмену, образуют комплексы с металлами и взаимодействуют с различными классами органических соединений (Перминова, 2004).

Такие уникальные свойства ГВ определяют их широкое использование во многих областях промышленности и сельского хозяйства. Так, способность ГВ связывать ионы металлов и органические соединения позволяет использовать их в качестве лигандов при производстве микроудобрений и кормовых добавок, содержащих микроэлементы; а также детоксицирующих агентов на загрязненных территориях (Sanjay, 1997). Наряду со связывающей активностью, ГВ обладают выраженными поверхностно-активными свойствами, что позволяет использовать их как агенты, увеличивающие растворимость гидрофобных органических веществ, включая нефтепродукты. Это позволяет использовать препараты ГВ для удаления ароматических углеводородов нефти из загрязненных водоносных горизонтов (Lesage, 2001). Наконец, биологическая активность ГВ определяет возможность их использования в качестве стимуляторов роста растений и компонентов микроудобрений.

Большую популярность в последнее время приобретает использование гуматных органических удобрений во многом благодаря тому, что действие гуминовых препаратов не ограничивается влиянием на обмен веществ растений. Так, при регулярном использовании препаратов ГВ в высоких дозах улучшается

структура почвы, ее буферные и ионообменные свойства и, кроме того, активизируется деятельность почвенных микроорганизмов (Перминова, 2004).

В основном, в сельском хозяйстве гуминовые препараты применяют в физиологически активной форме легкорастворимых солей гуминовых кислот со щелочными металлами, которые, действуя на клеточном уровне, повышают активность ферментов, изменяют проницаемость клеточных мембран, стимулируют процессы дыхания, синтеза белков и углеводов у растений. Таким образом, применение данных препаратов позволяет растениям успешно справляться с последствиями заморозков и засухи, повысить устойчивость к различным заболеваниям и снизить химический стресс от обработки пестицидами. Как следствие, это приводит к повышению урожайности сельскохозяйственных культур, особенно в неблагоприятных климатических условиях.

Препараты ГВ стимулируют развитие корневой системы, регулируют корневое и внекорневое питание, а также улучшают проникновение питательных веществ и микроэлементов из почвенного раствора в растение. За счет этого повышается коэффициент использования минеральных удобрений, что позволяет экономить средства, сократив дозы азотных удобрений на 30–50 %. Подкормка растений препаратами ГВ в период вегетации позволяет значительно ускорить процесс фотосинтеза, обеспечить интенсивное развитие листовой поверхности и корневой системы, увеличить закладку большего числа репродуктивных органов. При этом увеличивается содержание крахмала, клейковины, масла и сахаров, что приводит к улучшению качества урожая.

Органические удобрения на основе ГВ получают при переработке леонардита, сапропелей, торфов и некоторых других органических субстратов. Особую популярность приобретают микроудобрения на основе ГВ, представляющие собой гуматы натрия и/или калия с добавкой необходимых микроэлементов. Примерами могут служить гуматные удобрения компании «Valagro» (Италия) – AU 15 %, Fulvic 100, Humic 80; «Стимул-S» украинской компании «Добрин»; гумат «Сахалинский» производства компании «Биомир» (Россия), гидрогумат К и Na ЧП «НПФ «Добробут» и многих других.

К примеру, микроудобрения AU 15 % («Valagro», Италия) представляют собой жидкий экстракт гуминовых кислот, полученных из месторождений леонардита в штате Южная Дакота (США). Леонардит – это конечный продукт процесса гумификации, отличие которого от других источников гуминовых кислот состоит в том, что он проявляет сравнительно более высокую биологическую активность – примерно в пять раз выше, чем у других источников ГВ. Доля сухих гумифицированных веществ в AU 15 % составляет 96 % от общего сухого органического вещества.

Органические удобрения Fulvic 100 («Valagro», Италия) представляют собой экстракт фульвокислот из леонардита. Доля сухого органического вещества составляет 72,5 %, причем 32 % из них приходится на фульвокислоты.

Органическое удобрение Humic 80 («Valagro», Италия) – это твердый экстракт гуминовых кислот из леонардита. Внесение таких гуматных удобрений способствует обновлению физико-химических свойств почвы благодаря улучшению ее структуры и плодородия, стимулирует процессы детоксикации почв от тяжелых металлов. Доля сухого органического вещества в удобрении составляет 63,2 %, 76 % из них приходится на гумифицированные вещества.

Гумат «Сахалинский» производства компании «Биомир» (Россия) – высокоэффективное органоминеральное удобрение широкого спектра действия. Производится на острове Сахалин из леонардита Солнцевского месторождения. Удобрение на 85–90 % состоит из действующего вещества (гуминовых кислот и подобных соединений) и на 10–15 % – из соединений, гумифицирующихся после внесения в почву. Благодаря такому высокому содержанию основного вещества

повышаются адаптационные возможности растений – их устойчивость к болезням и неблагоприятным погодно-климатическим условиям.

Удобрение «Стимул-S» – органоминеральное гуминовое удобрение на основе озерного сапропеля производства украинской компании «Добрин». Внесение удобрения в почву способствует усилению роста растений, адаптации к неблагоприятным факторам внешней среды, уменьшению норм внесения минеральных удобрений, в итоге – к повышению качества сельскохозяйственной продукции.

Гидрогумат К/Na ЧП «НПФ «Добробут» – водный раствор солей калия или натрия, гуминовой и фульвокислот. Содержание сухого вещества – 110–120 г/л; содержание солей гуминовой и фульвокислот – 85–90 г/л.

Таким образом, гуматные удобрения могут являться компонентами технологий выращивания сельскохозяйственных культур и способствовать увеличению их урожая и его качества. Следует обратить внимание на особенности применения ГВ во внекорневых обработках посевов. Помимо ростостимулирующих свойств, хелатирования ряда элементов питания, их применение понижает зольный индекс растворов для опрыскивания путем возрастания части углерода в солевых растворах и предотвращает повреждение растений высокими концентрациями солей.

Еще в 70-х годах XX века, как в нашей стране, так и за рубежом были проведены первые научные исследования, показавшие высокую эффективность удобрений на основе ГВ. Создание и использование удобрений и систем питания на основе гуминовых препаратов является безопасным с точки зрения охраны окружающей среды. Они нередко именуется «технологиями будущего» (Мотовилова, 1994; Богословский, 2004).

Функции ГВ в агроэкосистемах

ГВ выполняют множество важных функций, среди которых:

1. Концентрирующая (аккумулятивная) функция, которая заключается в накоплении необходимых живым организмам химических макро- и микроэлементов. Кроме того, ГВ, в отличие от легкорастворимых минеральных удобрений, отдают живым организмам необходимые им элементы питания постепенно, по мере их потребления, сохраняя тем самым необходимый пул этих элементов. ГВ также связывают тяжелые металлы, радионуклиды, пестициды, нефтепродукты и ряд токсичных органических соединений. Они переводят эти вещества в малорастворимую форму, снижают их миграционную способность, токсичность и угнетающее действие, ограничивают поступление в растения и накопление в тканях.

2. Транспортная функция, заключающаяся в формировании геохимических потоков минеральных и органических веществ, преимущественно в водных средах, за счет образования устойчивых, но сравнительно легкорастворимых комплексных соединений гумусовых кислот с катионами металлов.

3. Регуляторная функция ГВ объединяет множество различных явлений и процессов, происходящих в почвах, водах и других природных средах. В первую очередь, это формирование почвенной структуры и физико-химических свойств почв; регулирование реакций ионного обмена между твердыми и жидкими фазами; а также регулирование условий питания живых организмов путем изменения растворимости минеральных компонентов.

4. Влияние ГВ и препаратов на их основе на стимулирование прорастания семян, повышение устойчивости организмов к различного рода стрессовым факторам и другие физиологические эффекты ГВ представляют интерес в разработке экологически безопасных технологий выращивания сельскохозяйственных культур.

Таким образом, применение гуминовых удобрений может быть важным компонентом технологий выращивания культур в растениеводстве и решения задач восстановления почвенного плодородия, увеличения скорости биохимических

реакций в системе биота↔почва↔растение, перехода дополнительного количества элементов питания в доступную растениям форму.

Необходимо отметить, что при обилии предложений гуминовых удобрений на рынке страны многочисленными компаниями, практически отсутствуют данные по сравнительному анализу эффективности удобрений из леонардита, торфа, сапропелей. Также ограничены сведения об эффективности гуминовых и фульвокислот в системах питания растений, дозах применения и их влиянии на восстановление плодородия почв. Подавляющее большинство информации по данным вопросам является скорее рекламой, чем результатами научных испытаний.

На сегодняшний момент производство удобрений на основе гуминовых соединений активно осваивается во многих ведущих аграрных странах. Они уже производятся в Украине, Германии, США, Италии, Австралии, Китае и многих других странах. Их использование активно расширяется, особенно в связи со стремлением сформировать сельское хозяйство экологически безопасным, эффективным и экономичным.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Александрова Л. Н.** Органическое вещество почвы и процессы его трансформации / Л. Н. Александрова. – Л. : Наука, 1980. – 288 с.
- Беленький Б. Г.** Хроматография полимеров / Б. Г. Беленький, Л. З. Виленчик. – М. : Химия, 1978. – 343 с.
- Бирюкова О. Н.** Период биологической активности почв и его связь с групповым составом гумуса / О. Н. Бирюкова, Д. С. Орлов // Биологические науки. – 1978. – № 4. – С. 115-116.
- Богословский В. Н.** Агротехнологии будущего / В. Н. Богословский, Б. В. Левинский, В. Г. Сычев. – Изд. РИФ «Антиква», 2004. – С. 26-27.
- Виноградский С. Н.** Микробиология почвы. Проблемы и методы. Пятьдесят лет исследований / С. Н. Виноградский. – М. : АН СССР, 1952. – 792 с.
- Ганжара Н. Ф.** Концептуальная модель гумусообразования / Н. Ф. Ганжара // Почвоведение. – 1997. – № 9. – С. 1075-1080.
- Глибовководні органо-мінеральні осади Чорного моря як перспективна сировина для виготовлення нових комплексних добрив / С. Ф. Шнюков, В. В. Моргун, В. О. Ємельянов, В. В. Швартау, Т. С. Куковська, Л. М. Михальська // Геологія і корисні копалини Міжнародного океану. – 2011. – № 1 (23). – С. 20-32.**
- Горовая Л. И.** Гуминовые вещества / Л. И. Горовая, Д. С. Орлов, О. В. Щербенко. – К. : Наук. думка, 1995. – 304 с.
- Гришина Л. А.** Гумусообразование и гумусное состояние почв / Л. А. Гришина – М. : Изд-во МГУ, 1986. – 243 с.
- Гришина Л. А.** Трансформация органического вещества почвы / Л. А. Гришина, Г. Н. Копчик, М. И. Макаров. – М. : МГУ, 1990. – 88 с.
- Гумат «Сахалинский» компании «Биомир» (Россия)** [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.humate-sakhalin.ru/Go/PageView/id=24&m_p_id=12. – Название с экрана.
- Данченко Н. Н.** Функциональный состав гумусовых кислот: определение и взаимосвязь с реакционной способностью. : автореф. дис. на соиск. уч. ст. канд. хим. наук : 02.00.02 / МГУ. – Москва, 1997. – 22 с.
- Дюшофур. Ф.** Основы почвоведения. Эволюция почв (опыт изучения динамики почвообразования) / Ф. Дюшофур: перевод с франц. М. И. Герасимовой. – М. : Прогресс, 1970. – 617 с.
- Дьяконова К. В.** Железогумусовые компоненты и их роль в питании растений / К. В. Дьяконова // Почвоведение. – 1976. – № 7. – С. 23-25.
- Кононова М. М.** Органическое вещество почвы / М. М. Кононова. – М. : Изд-во МГУ, 1963. – 314 с.
- Лукошко Е. С.** Механизм образования гуминовых веществ в процессе торфообразования / Е. С. Лукошко, В. Е. Раковский // Химия и генезис торфа и сапропелей. – Минск, 1962. – С. 44-49.

Моргун В. В. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков / В. В. Моргун, В. В. Шваргау, Д. А. Киризий // Физиология и биохимия культурных растений. – 2010. – № 5. – С. 371-392.

Мотовилова Л. В. Гуматы экологически чистые стимуляторы роста и развития растений / Л. В. Мотовилова, О. Н. Берман, О. В. Скворцов // Химия в сельском хозяйстве. – 1994. – № 5. – С. 12-13.

О подразделении Farm компании «Valagro» (Италия) [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.valagro.com/ru/corporate>. – Название с экрана.

Орлов Д. С. Гуминовые вещества в биосфере / Д. С. Орлов // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 2. – С. 56-63.

Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации / Д. С. Орлов. – М. : Изд-во МГУ, 1990. – 325 с.

Орлов Д. С. Органическое вещество почв Российской Федерации / Д. С. Орлов, О. Н. Бирюкова, Н. И. Суханова. – М. : Наука, 1996. – 254 с.

Орлов Д. С. Свойства и функции гуминовых веществ / Д. С. Орлов // Гуминовые вещества в биосфере. – М. : Наука, 1993. – С. 16-27.

Орлов Д. С. Химия почв / Д. С. Орлов. – М. : Изд-во МГУ, 1992. – 259 с.

Перминова И. В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот: дисс. на соиск. уч. ст. док. хим. наук : 02.00.02 : защищена 20.12.00 / И. В. Перминова. – М., 2000. – 360 с.

Перминова И. В. Гуминовые вещества в контексте зеленой химии / И. В. Перминова, Д. М. Жилин; ред. В. В. Лунин. – М. : Изд-во Моск. Ун-та, 2004. – С. 146-162.

Попов А. И. Биогеоценоотическая роль органического вещества почв / А. И. Попов, О. Г. Чертов // Вести С.-Петерб. ун-та. – 1996. – № 2. – С. 88-92.

Попов А. И. Гуминовые вещества: свойства, строение, образование / А. И. Попов; ред. Е. И. Ермаков. – СПб. : Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2004. – 248 с.

Сиггиа С. Количественный органический анализ по функциональным группам / С. Сиггиа, Д. Г. Ханна. – М. : Химия, 1983. – С. 132-135.

Скуг Д. Основы аналитической химии / Д. Скуг, Д. Уэст. – М. : Мир, 1979. – С. 425-432.

Тейт Р. Органическое вещество почвы / Р. Тейт. – М. : Мир, 1991. – 400 с.

Эффективность гумата «Стимул-S» компании «Добрин» (Украина) [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.dobrin.com.ua/>. – Название с экрана.

Andres J. M., Romero C., Gavilan J. M. Potentiometric Titration of Fulvic Acids in Dimethylformamide and Dimethylsulfoxide // Talanta. – 1987. – № 6. – P. 583-585.

Bowles E. C., Antweiler R. C., MacCarthy P. Acid-base titration and hydrolysis of fulvic acid from the Suwannee river. In: Humic substances in the Suwannee river, GA: Interactions, properties, and proposed structures (eds. R. C. Averett et al.) // U.S. Geological survey water-supply paper. – 1994. – Pp. 209-229.

De Nobili M., Contin M. Humic substances in the global environment and implications on human health. (eds. N. Senesi et al.) – Elsevier, 1994. – P. 263-264.

Ephraim J. H., Boren H., Arsenie I., Pettersson C., Allard B. A combination of acid-base titrations and derivatization for functional group determinations of an aquatic fulvic acid // Sci. Total. Environ. – 1989. – Vol. 82. – P. 615-624.

Frimmel F. H., Hopp W., Quentin K. E. Titration isolierter aquatischer Huminstoffe und ihrer Calcium-Komplexe mit starken Basen und Säuren // Z. Wasser-Abwasser-Forsch. – 1985. – Vol. 18. – С. 259-262.

Haider K., Martin J. P. Synthesis and transformation of phenolic compounds by *Epicoccurn nigrum* in relation to humic acid formation // Soil Sci. Soc. Am. J. – 1967. – Vol. 31. – P. 1233-1239.

Herbert B. E., Borsch M., Novak, J. M. Pyrene sorption by water-soluble organic carbon // Environ. Sci. Technol. – 1993. – Vol. 27. – P. 398-403.

Leenheer J. A., Noyes T. I. Derivatization of humic substances for structural studies. In: Humic Substances II: In Search of Structure (Ed. by M.H. Hayes, P. MacCarthy, R.L. Malcolm, R.S. Swift). – N.Y., 1989. – P. 257-280.

Lesage S., Novakowski K., Brown S., Millar K. Humic acids enhanced removal of aromatic hydrocarbons from contaminated aquifers: developing a sustainable technology // J. Environ. Sci. Health. – 2001. – № 36. – P. 1515-1533.

Norwood D. L. Humic substances and their role in the environment (eds F. H. Frimmel). – Chichester, 1988. – P. 133-148.

Perdue E. M. Analytical constraints on the structural features of humic substances // Geochim. Cosmochim. Acta. – 1984. – Vol. 48. – P. 1435-1442.

- Perdue E. M.** Acidic Functional Groups of Humic Substances. In: Humic substances in soil, sediment and water (eds. G. R. Aiken et al.). – N.Y., 1985. – P. 493-525.
- Perminova I.V., Frimmel F., Kudryavtsev A., Kulikova N., Abbt-Braun G., Hesse S., Petrosyan V.S.** Molecular weight characteristics of humic substances from different environments as determined by size exclusion chromatography and their statistical evaluation. // Environ. Sci. Technol. – 2003. – Vol. 37. – P. 2477-2485.
- Peuravuori J., Pihlaja K.** Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances // Anal. Chim. Acta. – 1997. – Vol. 337. – P. 133-149.
- Piccolo A., Mirabella A.** Molecular weight distribution of peat humic substances extracted with different inorganic and organic solution // The Science of the Total Environment. – 1987. – Vol. 62. – P. 39-46.
- Posner A.** Importance of electrolyte in the determination of molecular weights by Sephadex gel filtration, with especial reference to humic acid. // Nature. – 1963. – Vol.196. – P. 1161-1163.
- Rice J. A., McCarthy P.** Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances // Org. Geochem. – 1991. – Vol. 17, №.5. – P. 635-648.
- Sanjay H. G., Srivastava K. C., Walia D. S.** Mixed Waste Remediation Using HUMASORB-CSTM – an Adsorbent to Remove Organic and Inorganic Contaminants. - ARCTECH, Inc., 1997. – P. 233-245.
- Schnitzer M., Khan S. U.** Humic substances in the environment. – N.Y., 1972. – P. 12-17.
- Schnitzer M.** Some observation on the chemistry of humic substances // Agrochemica. – 1978. – Vol. 22. – P. 216-225.
- Schulten H. R., Schnitzer M.** A state of the art structural concept for humic substances // Naturwissenschaften. – 1993. – Vol. 80. – P. 29-30.
- Sochtig H.** Humic substances. Their structure and function in biosphere. (eds. D. Povoledo et al.). – Wageningen, 1972. – P. 321-335.
- Stevenson F. J.** Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. – N.Y., 1982. – P. 221-237.
- Swift R. S.** Humic Substances. II. In Search of Structure (eds M. Hayes et al.). – Chichester, 1989. – P. 449-451.
- Town R., Powell K.** Elimination of adsorption effects in gel permeation chromatography of humic substances // Anal. Chim. Acta. – 1992. – Vol. 256. – P. 81.
- Van Den Hoop M., Van Leeuwen H. P.** Stripping voltammetry of heavy-metal-(bio)polyelectrolite complexes // Anal. Chim. Acta. – 1993. – 232. – P. 141-148.
- Von Wandruszka R., Schimpf M., Hill M., Engebretson R.** Characterization of humic acid size fractions by SEC and MALS // Organic Geochemistry. – 1999. – Vol.30. – P. 229-235.
- Wershaw R. L.** Humic substances in soil, sediment and water. (eds. G. R. Aiken et al.). – N.Y., 1985. – P. 417-418.
- Ziechman W.** Evolution of structural models from consideration of physical and chemical properties. Humic Substances and Their Role in the Environment (eds. F. H. Frimmel et al.). – N.Y., 1988. – P. 113-132.

Рекомендує до друку
В. В. Моргун

Надійшла до редколегії 11.05.12