

**СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ САПРОПЕЛЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ****О.С. Половецкая¹, В.В. Платонов¹, А.С. Сапаров²**¹*Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н.Толстого, 300026,
Тула, проспект Ленина, 126, Россия, olpolov71@mail.ru;*²*Казахский научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии им. У.У.
Успанова, 050060, Алматы, пр. Аль-Фараби, 75в, Казахстан, ab.saparov@mail.ru*

Изучены особенности химического состава различных экстрактов гуминовых кислот сапропеля Краснодарского края (г. Приморско-Ахтарск). Комплексом физико-химических методов анализа показана высокая эффективность экстракции растворителями различной полярности при разделении столь сложного объекта, как сапропелевые гуминовые кислоты. Показано, что полученные экстракты значительно различаются средней молекулярной массой, элементарным и функциональным составом, степенью ароматичности, нафтеновости, окисленности, содержанием различных групп соединений, биологической активностью.

ВВЕДЕНИЕ

Гуминовые соединения широко распространены в природе, являясь одной из составных частей органической массы почв, сапропелей, торфов, углей. Они важные источники алифатических, нафтеновых, ароматических, окси- и аминокислот, спиртов, кетонов, липидов, стероидных соединений, витаминов В₂, В₆, В₁₂, РР, стерина, стеранов, производных фенолов, ксантонов, флавоноидов, хлорофиллов, бактериохлорофилла «а», металлопорфиринов, каротиноидов. Их минеральная часть включает до 60 элементов, среди которых доминируют Са, Mg, Si, Al, Ti, Fe, Ni, Cr, Co, Mo, V, Cu, Zn, Ge, Ga, Mn; присутствуют также Ag, Au, Pt, Pd, Os, Se, La, Nd и другие, некоторые из которых связаны в форме металлоорганических комплексов и хелатов. Указанный состав органической и минеральной частей сапропелей, торфов и углей несомненно имеет тесную генетическую связь с исходными биологическим материалом, отвечает за высокую биологическую активность гуминовых соединений и препаратов на их основе. Это определило применение последних в сельском хозяйстве, животноводстве, медицине, технике [1-5].

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использованы препараты гуминовых кислот (ГК), выделенных из сапропеля (Краснодарский край, г. Приморско-Ахтарск).

Элементный анализ выполнялся на автоматическом анализаторе фирмы «Carla Erba» модель 1100. Условия: температура в реакторе окисления, заполненного Cr₂O₃/CuO, 1100 °С; газ-носитель - гелий. Температура в восстановительном реакторе 650 °С, наполнитель - медная стружка. Температура хроматографической колонки 127 °С, стационарная твердая фаза - хромосорб-102, детектор - катарометр по теплопроводности. Окислитель - AgMnO₄, стандарт - 9-нитроантрацен.

Регистрацию спектров проводили на ИК-Фурье спектрометре Impact 400d (фирма Nicolet, США) в области спектра 4000-400 см⁻¹ с образцами в таблетках KBr. Диаметр таблетки - 3 мм, количество сканирований - 16, разрешение 4 см⁻¹. Отнесение полос поглощения в ИК-спектрах проводилось в соответствии [6].

УФ/ВИС-спектры снимались на спектрофотометре «Спекорд М40» (Германия) и СФ-46 в растворе спектрально чистых октана, четыреххлористого углерода, этанола. Концентрация растворов 10⁻³-10⁻⁴

моль/л. Кюветы кварцевые, спектральная область 200-800 нм.

Молекулярная масса определялась методом криоскопии по Рау в 2,4,6-трибромфеноле.

Функциональный состав экстрактов определялся: фенольные гидроксилы модифицированным баритным методом; спиртовые гидроксилы модифицированным методом Огеа, Портера и Уиллица; кетонные и хиноидные группы по методике [7-9]; карбоксильные модифицированным хемосорбционным методом с ацетатом кальция; йодное число по методике [7-9].

Гуминовые препараты сапропеля тестировались на бактериальную и антигрибковую активность в отношении ряда микроорганизмов по стандартным методикам.

В качестве микроорганизмов использовали: условно-патогенные бактерии золотистого стафилококка (*Staphilococcus aureus*) и кишечной палочки (*Esherichia coli*); патогенные бактерии, требующие для своего роста азотное питание – коринебактерии дифтерии, листерии и возбудитель микоза человека и животных дрожжеподобные грибы рода *Candida albicans*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общая характеристика ГК: средняя молекулярная масса 1457,5 а.е.м.; элементный состав (масс. % daf): С 63,4; Н 6,8; N 5,1; О+S 24,7. Функциональный состав (мг-экв/г): хиноидные группы (ХГ) 8,43; фенольные (ФГ) 12,52; карбоксильные (КрГ) 4,83; кетонные (КГ) 1,31; иодное число (ИЧ) 2,23; Н/С_{ат} 1,287; молекулярная формула: C_{76,99}H_{99,14}N_{5,810}+S_{22,50}.

В ИК-Фурье спектре ГК идентифицированы полосы поглощения (п.п.) следующих структурных фрагментов (ν , см⁻¹):

- ароматические, преимущественно неконденсированные циклы (3100-3000, 1600-1500, 1454, 1230, серия п.п. в обла-

стях 1200-900, 900-1650, 3080-3030, 1175, 1125, 1100, 1080); насыщенные циклы и алкильные заместители (2960, 2920, 2854, 1454, 1387, 730); фурановые гетероциклы (3165-3125, 1550, 1490, 1031-1015, 870, 800-740);

- интенсивные п.п. кислородсодержащих функциональных групп: фенольных и вторичных спиртов (3500-3300, 3630, 1200, 1230, 1410-1310); карбоксильных (1720-1700, 1300, 2600); метоксильных (2850-2830); хиноидных (1645, 1657, 1675); кетонных и сложноэфирных (1740-1735, 1175, 960); циклических ангидридов (1850-1825, 1785-1780, 2600-2500); тропонов и трополонов (1657); аминок групп и пиррольных циклов (широкая п.п. 3550-3300, 3200, 1657, 1680, несколько п.п. в области 2200-2800); пиридиновых, хинолиновых, изохинолиновых и пиперидиновых (3370-3330, 3450, 3480, 3450, 1490, 1360-1260, 745) и тиофеновых гетероциклов (3125-3040, 1530, 1050, 1080, 760-680, 840, 865); первичных и вторичных амидов (1657-1630, 1550-1530);

- сильная п.п. вблизи (1650) - I-амидная полоса, вторичные амиды (1640), третичные амиды (1680-1630); II-амидная полоса (1657-1620) - первичные амиды; лактамы (3200, 1637), пятичленные γ -лактам (1750-1700).

В УФ/ВИС-спектре ГК обнаружены (нм): ненасыщенные карбоновые кислоты и их производные (200-220), нафталиновые кольца (210, 212, 220, 270, 340), комплексы металлов с фенольными и хиноидными группами (450-445), каротиноидов, производных витамина А, дикетонов, ненасыщенных кетонов (455-450, 495, 480, 415), сопряженных пиррольных циклов типа порфиринов, хлорофилла (450, 510, 545), порфиринов (408, 525, 720, 760), бензольных циклов (200, 260), хлорофилла «а» (420, 405-455, 340, 495, 645, 685, 700, 710-720), хлорофилла «в» (450-

455, 580, 645), хлорофилла «с» (450-455, 645, 685), бактериохлорофилла «а» (475), λ -дикетон (340-350, 280), ненасыщенных лактонов и сложных эфиров (200, 220-230, 240).

Обобщение приведенных данных позволило сделать вывод, что ГК сапропеля Краснодарского края (г. Приморско-Ахтарск) имеют сложный, полифункциональный состав. Они содержат бензольные и нафталиновые циклы, фурановые, пиррольные и тиофеновые гетероциклы, с высоким вкладом алифатических заместителей.

С целью получения более подробной информации о химическом составе органического вещества сапропеля, считалось целесообразным выполнить разделение ГК на более узкие фракции с последующим их изучением комплексом современных физико-химических методов анализа.

Для решения этой задачи была использована ступенчатая экстракция ГК органическими растворителями различной полярности (гексан, толуол, хлороформ, ацетон, этанол, уксусная кислота (конц.).

1. Гексановый экстракт

ИК-Фурье спектроскопией в составе экстракта идентифицированы полосы поглощения (п.п.) следующих структурных фрагментов (ν , см⁻¹):

- CH_2 -, CH_3 -групп и циклоалкановых структур (2955, 2916, 2851, 1464, 1450, 1379, 1283, 723); присутствие углеводородов циклического строения подтверждается совокупностью п.п. (3427-3323, 2955, 2916, 2851, 1464, 1412, 1379, 1115, 1060, 723), которые включают длинные алкильные цепи (3079-3043, 1590-1464, 910-650); интенсивная п.п. (723) указывает на наличие длинных алкильных цепей ($n > 5$), а именно, C_{21} - C_{31} (2955, 2851, 1464, 1379, 723), подтвержденные хрома-

то-масс-спектрометрией; широкая интенсивная п.п. (1379) - преимущественное связывание CH_3 -групп с неароматическими фрагментами. Отсутствие сильных п.п. в области (900-650) свидетельствует о неароматическом характере соединений гексанового экстракта, что подтверждает также отсутствие скелетных колебаний ароматических и гетероциклических фрагментов в области (1600-1300); ароматические циклы присутствуют лишь в следовых количествах (3100-3000, 1600-1500, 3078-3048, 1167-1115, 1500-1450, 770-730, 710-690), которые, в основном, бициклические;

- фенольные и спиртовые гидроксильные (3400-3200, 3562, 3300, 1410-1310, 1360, 1377, 1220, 660-635); в т.ч.: спирты тритерпенового и стероидного ряда (1300-1150, 1150-950), стерин (3043, 1670, 960, 840, 800), в частности β -ситостерин (3447-3402, 1065, 980, 840, 800); карбоксильные и карбонильные группы (1720-1700, 2681, 2740, широкая п.п. 3100-2500, 1320-1283, 960-875); в т.ч.: кетонные и хиноидные (1745, 1709, 1675, 1645), ненасыщенные (1675) и α -гидроксикетоны (1740-1709, 1639-1618, 1570-1540);

- сопряженные пиррольные циклы порфиринов, хлорофилла (3526, 3493, 3163, 3061, 3043, 1585, 1040, 750-690), фурановые (3163-3121, 1565, 1500, 1040, 885-870, 800-740), тиофеновые (3121-3050, 1520, 1050, 850, 750-690), пиррольные, пирдиновые, хинолиновые, изохинолиновые, пиперидиновые гетероциклы (3373-3283, 3447, 3470-3450, 1490, 1350-1250, 745), алифатические амины (3352-3310, 3402, 1580, 1490, 1360-1260, 1281-1167, 1639-1580, 850-750), сульфиды (705-570, 655-605) и дисульфиды (472, 417).

УФ/ВИС-спектроскопия указала на присутствие в гексановом экстракте ГК

(нм): бензольных и нафталиновых колец (200, 260, 220, 275, 310); ненасыщенных карбоновых кислот, лактонов, сложных эфиров (200, 220, 240), предельных и непредельных кетонов (275-290, 300, 365-370), дикетонов (320), стероидных кетонов и их производных (280, 340, 350), производных флавонолов и кумаринов (245, 250, 265, 280, 320, 370); порфиринов (410-420), хлорофиллов «а», «b» и «с» (430, 450, 380, 510, 580, 620, 630, 665), бактериохлорофилла «а» (365, 390, 475, 610); каротиноидов (440, 450, 480-495, 500-550).

2. Толуольный экстракт

В ИК-Фурье спектре присутствуют п.п. ($\nu, \text{см}^{-1}$):

- ароматических циклов (3100-3000, 3076-3050, дублет 1600-1500, бициклических фрагментов, например, нафталиновых (1466, 735, 723, 900-675);

- CH_2 -, CH_3 -групп алкильных цепей и циклоалканов (2980-2916, 2849, 2762, 2731, 1466, 1379, 1283, 970, 723); присутствие циклоалканов подтверждается совокупностью п.п. (3410-3348, 2960, 2849, 1466, 1379, 1113, 723), которые замещены длинными алкильными цепями, включая двойные связи (3076-3030, 1590-1466, 1500-1466, 3049, 1660, 1600, 970, 910-650, 880, 820); наличие длинных алкильных цепей подтверждается большой интенсивностью п.п. (723);

- кетонные карбонилы (1720, 1709, 1745, 1661), в т.ч.: ненасыщенные (1661) и α -гидроксикетоны (1740-1720, 1661-1620, 1520-1553); хиноны (1661, 1645), или кетоны, сопряженные с двойной связью; гидроксилы фенолов и спиртов (3589, 3410, 3410-3194, 3300, 1200-1100, 1410-1310, 1379, 1238, 660-635), в т.ч.: спирты тритерпеноидного и стероидного ряда (1300-1150, 1150-950), стерины (3030, 1661, 960, 840, 800), в частности (3447-3400, 1065, 1032, 970, 840, 805) - β -

ситостерин; карбоксильные группы (3589-3510, 1800-1740, 1720-1709, 1320-1280, 1190-1075), причем кислоты, в основном, алифатические;

- сопряженные пиррольные циклы порфиринов, хлорофилла (3537, 3510, 3593, 3142, 3049, 1553, 1032, 750-690), пиридиновые, хинолиновые, изохинолиновые, пиперидиновые (3366-3300, 3447, 3458-3450, 1466, 1350-1250, 745), фурановые (3176-3125, 1553, 1500, 1032, 885-870, 800-740) и тиофеновые гетероциклы (3449-3125, 1520, 1032, 750-690, 850), алифатические амины (3348-3310, 3140, 1446, 1553, 1661-1590, 1280-1180, 850-750), сульфиды (770-705, 655-607) и дисульфиды (484, 460, 430, 420), амиды (3366-3320, 3220-3176, 1680-1630, 1553-1515, 770-620, 630-580).

Согласно УФ/ВИС-спектру в толуольном экстракте ГК присутствуют (нм): бензольные и нафталиновые кольца (200, 220, 260, 280, 310); производные флавонолов (245, 250, 370) и кумаринов (265, 285, 320); ненасыщенные карбоновые кислоты (200, 220), лактоны и сложные эфиры (200, 240, 220), предельные и ненасыщенные кетоны (275-290, 300-365, 380); стероиды (260, 270, 285, 300), дикетоны дитерпенового ряда (320, 340, 280), порфирины (410-420, 480-500, 500-550, 620), бактериохлорофилл «а» (365, 475, 610); хлорофиллы «а», «b» и «с» (380, 420, 430, 445, 510, 580, 460, 600, 620, 645, 675) (нм).

3. Хлороформный экстракт

В ИК-Фурье спектре идентифицированы п.п. ($\nu, \text{см}^{-1}$):

- ароматические ядра (3100-3000, 1600-1500, 3080-3034, 1097-1026, 1500-1464, 770-723, 723-689), которые, в основном, нафталиновые;

- CH_2 -, CH_3 -группы алкановых и циклоалкановых структур (2952, 2916, 2851, 2748, 1464, 1412, 1377, 1240, 980,

742, 723); совокупность п.п. (3412-3344, 2951, 2851, 2916, 1464, 1377, 723) подтверждает присутствие циклических углеводородов, включающих алкильные заместители различной длины (3063-3034, 1500-1464, 1590-1494, 910-650), в т.ч.: с двойными связями (3063, 1645, 1600, 975, 880, 820); наличие расщепленной п.п. (744-723) указывает на присутствие алканов с нечетным числом углеродных атомов больше 26; группы CH_3 -связаны как с неароматическими, так и с ароматическими фрагментами;

- гидроксилы фенолов и спиртов (3412, 3400-3200, 3391, 3576, 3331, 3300, 1377, 1360, 1410-1310, 1240, 1220, 660-640), в т.ч.: спиртов тритерпеноидного и стероидного ряда (1150-950, 1300-1150, 3034, 1645, 960, 840, 800), в частности (3431-3400, 1034, 1065, 970, 840, 805) - β -ситостерин; карбоксильные (1725, 1711, 3576-3504, 1800-1740, 1377-1280, 1190-1075, 1464-1412, 1377, 770-723); кетонные (1720, 1711, 1690), в т.ч.: ненасыщенные (1675) и α -гидроксикетоны (1740-1720, 1630-1620, 1570-1540), хиноидные группы (1675-1645) или кетонные, сопряженные с двойной связью; метиловые эфиры алифатических кислот с длинной цепью (1240, 1205, 1175), α -, β -ненасыщенные (мультиплет в области 1300-1160) и ароматических кислот (1310-1250), лактоны (1250-1110);

- пиридиновые, хинолиновые, изохинолиновые (3080-3013, 1645-1580, 1580-1550, 1510-1464, 1200, 1100-1000, 900-670, 710), пиримидиновые (3063-3013, 1580-1520, 1000-960, 825-775), сопряженные пиррольные циклы порфиринов, хлорофилла (3520, 3481, 3173, 3138, 3034, 3063, 1585, 1036, 742-690), фурановые (3173-3138, 1565, 1036, 885-870), амины (3391, 3412, 3344-3315, 1464, 1580, 1377-1240, 1280-1180, 1646-1590, 850-750), амиды (3344, 3371-3315, 3211-3186, 1680-

1630, 1570-1515, 770-615, 630-528).

УФ/ВИС-спектр показал наличие в хлороформном экстракте (нм): бензольных и нафталиновых колец (200, 220, 260, 280, 310); ненасыщенных карбоновых кислот (200, 220), лактонов, сложных эфиров (200, 220, 240); предельных и непредельных кетонов (275-290, 300, 360-390); стероидных соединений, в т.ч.: эргостерина (260, 270, 280, 295), тахистерина (245, 265, 280, 295); токсистерина (248), супрастирина (250), каротиноидов (440, 450, 480-500, 500-550), порфиринов (400, 420, 450, 480-495, 500-550), хлорофиллов (380, 430, 445, 510, 580, 620, 630, 665, 675).

4. Ацетоновый экстракт

В ИК-спектре ацетонового экстракта идентифицированы п.п. (ν , см^{-1}):

- CH -, CH_2 -, CH_3 -группы алкановых и циклоалкановых структур (2920, 2851, 1464, 1379, 1261, 721); присутствие углеводородов циклической природы характеризуется совокупностью п.п. (3412-3340, 2920, 2851, 1464, 1379, 1126, 721); малая интенсивность п.п. (721) свидетельствует об отсутствии длинных алкановых цепей ($n > 5$); п.п. (1379) – о преимущественном связывании CH_3 -групп с неароматическими фрагментами;

- отсутствие сильных п.п. в области (900-650) указывает на неароматическую природу соединений данного экстракта, в то же время, достаточно сильные п.п. скелетных колебаний углеродного скелета свидетельствует о присутствии ароматических и гетероциклических компонентов (1618, 1541, 1637, 1175-1126, 1100-1070, 1070-1000, 710-690, 770-730, 1464-1400), замещенных алкильными цепями (1514-1464, 910-650, 880-820);

- гидроксильные группы фенолов и спиртов (3572, 3412, 3412-3200, 1379, 1420-1330, 1220, 1215, 660-635), в т.ч.: тритерпеноидных и стероидных спиртов (1300-1150, 1150-950), в частности п.п. (3473-

3412, 1074, 970, 850, 840) – β -ситостерин; кетоны (1714, 1637), в т.ч.: ненасыщенные (1675) и α -гидроксикетоны (1650-1618, 1570-1540); хиноны (1675, 1645) или кетоны, сопряженные с двойными связями; карбоксильные (3000-2500, 1714, 1379, 1410, 1360-1200, 1261) и сложноэфирные группы (1261, 1126);

- сопряженные пиррольные циклы порфиринов, хлорофилла (3490, 3475, 3525, 3543, 3150, 1600, 1040, 750-690); пиридиновые, хинолиновые, изохинолиновые (1650-1580, 1580-1550, 1514-1464, 1200, 1100-1000, 900-670, 721,710), фурановые (3165-3125, 1565, 1500, 1030, 885-870, 800-740) и тиафеновые гетероциклы (3125-3050, 1514, 1074, 750-690, 850), амины (3500-3300, 3400-3100, 1637-1550, 1340-1261, 1220-1020), амиды (3360-3320, 3224-3180, 1680-1637, 1570-1514, 773-611, 630-530), сульфиды (705-570, 655-605) и дисульфиды (460-422).

УФ/ВИС-спектр (нм) показал наличие бензольных и нафталиновых колец (200, 220, 260, 280, 310); ненасыщенных карбоновых кислот (200, 220), лактонов и сложных эфиров (200, 220, 240); предельных и непредельных кетонов (280-290, 300, 360-390); стероидных соединений, в т.ч.: эргостерин (260, 270, 285, 295), супрастерин (250), тохистерин (265, 280, 295), хлорин (405, 505, 535, 575, 655, 695), каротиноиды (440, 480-500, 500-550), порфирины (400, 420, 450, 480-495, 500-550, 620), хлорофиллы (380, 430, 450, 500, 560, 620, 655, 675).

5. Этанольный экстракт

В ИК-Фурье спектре экстракта присутствуют п.п. (ν , см⁻¹):

- сильные колебания углеродного скелета в областях п.п. (1600-1300), а также (900-650) указывает на высокое содержание в экстракте ароматических и гетероциклических соединений (3090, 3082-3034, дублет 1600-1500, 1175-1128, 1100-

1072, 1072-1000, 1580-1500, 1500-1446, 770-730, 744-704), замещенных длинными алкильными цепями (3065-3034, 1500-1446, 1549-1446, 910-648), включающими двойные связи (3045, 1650, 1601, 975, 862, 820);

- CH -, CH_2 -, CH_3 -группы алканов и циклоалканов (2980, 2620, 2939, 2868, 2752, 1446, 1394, 1369, 1286, 980, 744, 704); присутствие циклоалканов подтверждается совокупностью п.п. (3410-3342, 2953, 2939, 2920, 2868, 2849, 1446, 1394, 1369, 1128, 1072, 1039, 704), включающих длинные алкильные цепи (3065-3034, 1500-1446, 1549-1446, 910-648), с двойными связями (3045, 1650, 1601, 975, 862, 820); интенсивная п.п. (774) подтверждает наличие длинных алкильных цепей при $n > 5$;

- гидроксилы фенолов и спиртов (3574, 3410, 3410-3198, 3292, 1369, 1420-1330, 1215, 1220, 660-635), в т.ч.: спиртов тритерпеноидного и стероидного типа (1150-950, 1300-1150); стерины (1334, 1670, 960, 840, 862, 800), в частности п.п. (3437-3410, 1072, 970, 862, 820, 805) – β -ситостерин; кетоны (1700, 1690, 1728, 1710), в т.ч.: ненасыщенные (1675) и α -гидроксикетоны (1740-1720, 1650-1620, 1570-1549); хиноны (1675, 1645) или кетонные группы, сопряженные с двойной связью; карбоновые кислоты (1300-1200, 1420, 1750, 1710, 3000-2500); метиловые эфиры α , β -ненасыщенных (мультиплет п.п. в области 1300-1160) и ароматических кислот (1310-1250), лактоны (1250-1110), жирных длинноцепных карбоновых кислот (1250, 1205, 1175);

- пиридиновые, хинолиновые, изохинолиновые (3065-3011, 1650-1580, 1510-1480, 1200, 1100-1000, 900-670, 704), пиридиновые (3065-3011, 1580-1520, 1000-960, 862-825, 744), сопряженные пиррольные гетероциклы порфиринов, хлорофилла (3526, 3485, 3148, 3155, 3051, 1585, 1039, 750-690), фурановые (3165-

3121, 1549, 1500, 1039, 800-740) и тиюфеновые гетероциклы (3128-3051, 1520, 1039, 750-690, 862), сульфиды (704-561, 648-609) и дисульфиды (465, 420), амины (3506-3292, 3410-3100, 1650-1549, 1340-1250, 1370-1288, 1230-1018), амиды (3360-3323, 3221-3190, 1680-1620, 1570-1515, 770-610, 630-526).

УФ/ВИС-спектр свидетельствует о присутствии в этанольном экстракте ГК (нм): бензольных и нафталиновых колец (200, 220, 260, 275, 310); производных кумаринов (265, 285, 320), флавонолов (245, 250, 270); ненасыщенных карбоновых кислот (200, 220), лактонов и сложных эфиров (200, 240, 225); непредельных и предельных кетонов (270, 470), хромонов (625), сопряженных пиррольных циклов типа порфиринов и хлорофилла (450, 510, 545), индолов, витамина К (270), стероидных производных типа холестадиена и эргостена (280, 290, 320), эргостерина (260, 270, 285, 295), супрастерина (250), тахестерина (268, 280, 295), π -комплексов металлов с фенольными и хиноидными группами (450), пигментов пурпурных бактерий (480, 535), антроцианов (480, 500), каротиноидов, производных витамина А, дикетонов (415, 450, 470, 480), пиррольных пигментов, сопряженных хинонов (435, 520, 600, 620), гиперидина (660), бактериохлорофилла «а» (365, 400, 475, 610).

6. Уксуснокислотный экстракт

В ИК-Фурье спектре экстракта идентифицированы п.п. (ν , см^{-1}):

- ароматические циклы (1510, 1618, 1655, 3080-3033, 1175-1125, 1100-1070, 1043, 1070-1000, 710, 600);

- CH -, CH_2 -, CH_3 -группы алканов и циклоалканов (2970, 2922, 2852, 2740, 1450, 1373, 1240, 730); присутствие циклоалканов подтверждается совокупность п.п. (3414-3340, 2960, 2922, 2852, 1450, 1373, 1110, 1043, 1060, 730), весьма малая

интенсивность п.п. (730) свидетельствует об отсутствии длинных алкильных цепей, а широкая интенсивная п.п. (1373) указывает на преимущественное связывание CH_3 -групп с неароматическими фрагментами;

- п.п. (3501-3414) отвечают валентным колебаниям OH -группы алифатического и ароматического характера, связанных водородными связями (1270-1220, 1240, 1170-1043) – OH -спиртов, углеводов (1150, 1100, 1043);

- интенсивная п.п. с максимумом при (1724) – валентные колебания $\text{C}=\text{O}$ связей в карбоксильных, а также $\text{C}-\text{O}$ связей в амидных группах (1618, 1655); амины и амиды (1560-1520); карбоксильные группы (3585-3500, 1800-1724, 1373-1240), связанные как с ароматическими, так и с эфирными радикалами; хиноидные (1635, 1655, 1675) и кетонные карбонилы (1690, 1700, 1724, 1100), в т.ч.: ненасыщенные (1675) и α -гидрокетоны (1740-1724, 1654-1618, 1570-1540);

- сопряженные пиррольные циклы порфиринов, хлорофилла (3537, 3501, 3490, 3050, 1580, 1043, 750-690), пиридиновые, хинолиновые, изохинолиновые (3070-3020, 1655-1580, 1580-1550, 1570-1540, 1240, 1200, 1100-1000, 710), пиримидиновые (3060-3010, 1580-1520, 1000-960, 825-775), фурановые (3165-3125, 1565, 1500, 1043, 800-740) и тиюфеновые гетероциклы (3125-3050, 1520, 1043, 750-690, 850), амины (3501-3300, 3400-3100, 1655-1550, 1340-1250, 1350-1280, 1240-1043), амиды (3360-3320, 3220-3180, 1680-1620, 1370-1315, 770-650, 630-530), сульфиды (705-570, 655-606) и дисульфиды (463, 429, 420).

УФ/ВИС-спектр свидетельствует о присутствии в уксуснокислотном экстракте ГК (нм): бензольных и нафталиновых колец (200, 210, 220, 260, 270, 280), енолов (220, 320), кетонов и карбоновых

кислот ненасыщенного или циклического типа (200, 220, 250, 275, 430), хромонов (625), флавоноидов (240, 290, 435, 525, 545), кумаринов (265, 282, 320), сопряженных пиррольных циклов типа порфиринов и хлорофилла (400, 410, 420, 450, 510, 545), индолов, витамина К (270), каротиноидов, производных витамина А, дикетонов, ненасыщенных кетонов (270, 470), π-комплексов металлов с фенольными и хиноидными группами (450), пигментов пурпурных бактерий (480, 535), антоцианов (480, 500), стероидных производных типа холестадиена и эргостена (280, 290, 320), в т.ч.: эргостерина (260, 270, 285, 295), супрастерина (250), тахистерина (268, 280, 295), хлорофиллов (380, 430, 445, 410, 580, 620, 630, 660, 675), бактериохлорофилла «а» (365, 395, 475, 600, 610, 770).

Остаток ГК

В ИК-спектре остатка ГК присутствуют п.п. (ν , см^{-1}):

- конденсированные ароматические циклы (3082-3028, 1600, 1500, 1580-1500, 1500-1450, 1175-1125, 1100-1070, 770-730, 715-692); CH -, CH_2 -, CH_3 -группы циклоалкановых и алкановых структур (2968, 2924, 2878, 2872, 2854, 2752, 2744, 1465, 1450, 1383, 1310, 1260, 980, 730, 714); совокупность п.п. (3423-3348, 2949, 2986, 2924, 2854, 1450, 1465, 1383, 1110, 1032, 1060, 730, 714) подтверждает наличие циклоалканов, замещенных алкильными цепями различной длины (3082-3024, 1500-1470, 1590-1470, 900-650); крайне малая интенсивность п.п. (714, 730) указывает на отсутствие длинных алкильных цепей, в основном заместители CH_3 -, C_2H_5 -, C_3H_7 -; согласно интенсивности п.п. (1383) – CH_3 -группы связаны как с неароматическими, так и с ароматическими фрагментами;

- гидроксильные группы фенолов и спиртов (3599, 3549, 3400, 3400-3192,

3298, 1410-1310, 1200-1100, 1383, 1360, 1420-1330, 1229, 661-615), связанная или «свободная» ОН-группа спиртов и фенолов подтверждается сильной п.п. (3657-3584), а дополнительные п.п. (3545-3192) указывают на возможность образования водородных связей; спиртов тритерпеноидного и стероидного ряда (1150-950, 1300-1150), стерины (3028, 1653, 960, 840, 800), в частности (3445-3400, 1065, 1036, 975, 840, 805) – β-ситостерин; карбонильные и карбоксильные группы (1720-1700, 2698, 2662, 2744, 1344-1280, 3100-2500, 960-870); в т.ч.: кетоны (1690, 1675, 1700, 1100, 1711, 1745), ненасыщенные (1675) и α-гидроксикетоны (1740-1720, 1650-1618, 1570-1540); широкая п.п. (3298-2291) и интенсивная п.п. (1711) указывают на присутствие в экстракте алифатических карбоновых кислот; хиноны (1675, 1645), метиловые эфиры α, β-ненасыщенных (1300-1160) и ароматических кислот (1310-1250), лактоны (1250-1110);

- сопряженные пиррольные циклы порфирина, хлорофилла (3545, 3489, 3516, 3151, 3055, 1590, 1032, 750-690), пиридиновые, хинолиновые, изохинолиновые (3082-3028, 1650-1580, 1580-1550, 1510-1480, 1200, 1110-1000, 900-661, 714), пиримидиновые (3055-3000, 1580-1520, 1000-960, 825-775), фурановые (3151-3126, 1565, 1500, 1031, 885-870, 800-740) и тиофеновые гетероциклы (3126-3055, 1520, 1032, 750-690, 850), сульфиды (714-570, 661-605) и дисульфиды (465, 415), амины (3516-3298, 3400-3094, 3109, 1650-1550, 1340-1250, 1383-1229, 1229-1032), амиды (3369-3319, 3211-3192, 1680-1630, 1570-1515, 770-615, 630-526).

Выход и характеристика отдельных экстрактов ГК представлены в таблице 1.

Таблица 1. Выход и характеристика экстрактов ГК сапропеля

№ п/п	Экстракт	Выход экстракта, масс. % от ГК	Параметры экстракта
1	Гексановый	12,4	M 710,5; C 85,8; H 12,9; O+S 1,3; H/C _{ат} 1,804; C _{50,80} H _{91,66} O+S _{0,58} ; f _a 0,085; XГ 11,80; ФГ 2,45; КрГ 1,73; ИЧ 1,72; СО -1,78
2	Толуольный	2,8	M 603,5; C 84,6; H 10,2; N 0,2; O+S 5,0; H/C _{ат} 1,447; C _{52,55} H _{61,56} N _{0,09} O+S _{1,80} ; f _a 0,314; XГ 8,43; ФГ 3,92; КрГ 2,05; ИЧ 1,21; СО -1,36
3	Хлороформный	1,3	M 673,0; C 83,5; H 9,6; N 0,6; O+S 6,3; H/C _{ат} 1,380; C _{46,83} H _{64,61} N _{0,29} O+S _{2,65} ; f _a 0,357; XГ 4,42; ФГ 6,00; КрГ 2,83; КГ 0,31; ИЧ 1,42; СО -1,27
4	Ацетоновый	2,5	M 751,3; C 66,8; H 7,5; N 1,4; O+S 24,3; H/C _{ат} 1,347; C _{41,82} H _{56,35} N _{0,75} O+S _{11,41} ; f _a 0,378; XГ 3,95; ФГ 6,87; КрГ 4,23; КГ 0,53; ИЧ 2,32; СО -0,80
5	Этанольный	19,9	M 826,2; C 61,3; H 6,8; N 3,8; O+S 28,1; H/C _{ат} 1,331; C _{42,20} H _{56,19} N _{2,24} O+S _{14,51} ; f _a 0,388; XГ 3,15; ФГ 10,15; КрГ 6,02; КГ 0,66; ИЧ 2,72; СО -0,64
6	Уксусно-кислотный	5,5	M 942,5; C 59,7; H 5,9; N 5,9; O+S 28,5; H/C _{ат} 1,186; C _{46,89} H _{55,61} N _{3,97} O+S _{16,79} ; f _a 0,481; XГ 2,43; ФГ 12,48; КрГ 9,25; КГ 1,15; ИЧ 3,42; СО -1,47
7	Остаток ГК	55,6	M 2342,9; C 60,6; H 4,8; N 6,4; O+S 25,2; H/C _{ат} 0,950; C _{121,98} H _{115,92} N _{11,09} O+S _{38,04} ; f _a 0,632; XГ 11,52; ФГ 17,35; КрГ 6,35; КГ 1,72; ИЧ 3,15; СО -0,33

Сравнительный анализ данных табл. 1, ИК-Фурье, УФ/ВИС-спектров позволяет сделать вывод, что последовательная экстракция ГК, выделенных из сапропеля, органическими растворителями с возрастающей полярностью, позволила разделить их на фракции существенно различающиеся значением средней молекулярной массы (603,5-2342,9) а.е.м.; элементарным (масс. % daf) и функциональным (мг-экв/г) составом, содержанием групп соединений, степенью ароматичности, нафтеновости, окисленности, замещенности алкильными цепями и их длиной.

Примечание: М – средняя молекулярная масса (а.е.м.); С, Н, N, O+S – содержание углерода, водорода, азота, кислорода и

серы (масс. % daf на горючую массу); Н/С_{ат} – атомное отношение; f_a – степень ароматичности; XГ – хиноидные, ФГ – фенольные, КрГ – карбоксильные, КГ – кетонные группы, ИЧ – идное число (мг-экв/г); СО – степень окисленности.

Содержание углерода изменяется от 85,8 до 60,6; водорода от 12,9 до 4,8; азота от 0,20 до 6,40; кислорода и серы от 1,30 до 28,5 (масс. % daf).

Максимальное количество XГ характерно для гексанового экстракта (11,80) и остатка ГК (11,52); ФГ – для остатка ГК (17,35); КрГ – для уксуснокислотного экстракта (9,25); КГ – для остатка ГК (1,72) (мг-экв/г) (таблица 1).

Исследования биологической активности гуминовых препаратов сапропеля

показали, что они не проявляют активности относительно культуры кишечной палочки и стафилококка. Отмечается значительное увеличение роста колоний дифтерийной палочки и листерии, что согласуется с литературными данными по отношению ГК к патогенными бактериями – нитрофилами, способных усваивать азот и углерод ГК.

ГК поддерживают рост гриба рода *Candida*, а их калиевые соли оказывают противоположное действие – антигрибковое.

Тестирование ГК на сельскохозяйственных культурах позволило установить, что они оказывают положительное действие на энергию прорастания семян зерновых (озимая и яровая пшеница), подсолнечника, сои, свеклы, моркови, редиса, риса, фасоли, бобов. Увеличение энергии прорастания составило 50-70 %. Кроме того, ГК показали значительный уровень показателя силы роста молодых растений. Через 10 суток, значение данного показателя было равно его значениям 20

дневных испытаний в контрольном варианте с дистиллированной водой. Важным показателем также является повышение устойчивости к различным заболеваниям.

ВЫВОДЫ

1. Комплексом физико-химических методов подробно изучены экстракты гуминовых кислот, что позволило выявить особенности химического состава последних в целом, а также отдельных экстрактов в отдельности.

2. Установлено, что экстракты значительно различаются значением средней молекулярной массы, элементным и функциональным составом, содержанием отдельных групп соединений, степенью окисленности, нафтеновости и ароматичности.

3. Выполнено биотестирование гуминовых кислот, с привлечением различных штаммов микроорганизмов, результаты которого доказывают значительный бактерицидный эффект исследуемых препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бамбалов Н.Н. Молекулярная структура и агрономическая ценность гуминовых кислот сапропеля // Агрохимия. 1995. № 1. С. 65-76.
2. Платонов В.В., Хадарцев А.А., Проскуряков В.А., Клейн В.А., Половецкая О.С., Пономарева М.А. Сапропелевые биологически активные препараты // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Гуминовые препараты и их применение в растениеводстве и животноводстве» Рязань. (17-19 мая 2005 г.). Рязань. 2005. С. 135-142.
3. Платонов В.В., Половецкая О.С., Хадарцев А.А. Особенности химического состава и биологической активности сапропелей // Вестник новых медицинских технологий (электронное издание). 2012. № 1. № 2-24.
4. Платонов В.В., Лебедева Г.Ф., Линяева Т.В., Швыкин А.Ю., Половецкая О.С., Медведева С.В. Особенности вещественного состава и биологическая активность сапропелей различных месторождений // Сб. трудов I Междунар. научно-практической конференции «Исследование, разработка и применение высоких технологий в промышленности» (под общей ред. А.П. Кудинова, Г.Г. Матвиенко). СПб. 2005. Т. 1. С. 194-196.
5. Казаков Е.И. Генезис и химическая природа пресноводных сапропелей // Труды ин-та горючих ископаемых. М.: АН СССР. 1950. Т.2. С. 253-266.
6. Лиштван И.И., Стригуцкий В.П., Евдокимова Г.А. ИК - спектроскопическое исследование сапропелей // ХТТ. 1985. № 3. С. 9-15.

7. Глебко Л.И., Максимов О.Б. Новые методы исследования гуминовых кислот. Владивосток. 1972. 214 с.

8. Глебко Л.И., Кошелев Л.П., Максимов О.Б. Функциональный анализ гуминовых кислот. Владивосток. 1974. 104 с.

9. Глебко Л.И. Определение функциональных групп в гуминовых кислотах // Автореферат диссертации на соискание ученой степени к.х.н. М. 1971. 19 с.

ТҮЙІН

Краснодар өлкесінің (Приморско-Ахтарск қ.) шөкпелерінің гумин қышқылдарының әр түрлі сағындыларының химиялық құрамының ерекшеліктері зерттелді. Талдаудың физика-химиялық әдістер кешенімен шөкпелердің гумин қышқылдары сияқты күрделі нысанды бөлген кезде әр түрлі өрістіліктің еріткіштермен экстракциялану тиімділігінің жоғарлығы көрсетілген. Алынған сығындылар орташа молекулалық массасымен, элементтік және функционалдық құрамымен, хош-иістілік дәрижесімен, нафтенділігімен, әр түрлі қосылыстар мөлшерімен, биологиялық белсенділігімен елеулі өзгешеленетінін көрсетті.

SUMMARY

The features of the chemical composition of different extracts of sapropel humic acid of Krasnodar region (Primorsk-Akhtarsk city) were studied. Set of physical and chemical methods of analysis shows the high efficiency of extraction with solvents of different polarity in the separation of such a difficult object as Sapropelic humic acid. It is shown that these extracts are significantly different by the average molecular weight, functional and elemental composition, the degree of aromaticity, naphthenicity, oxidation, content of various groups of compounds, biological activity.