

АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БУРОГО УГЛЯ И ТОРФА

С.Л. Хилько, Р.А. Макарова, Р.Г. Семенова,
М.И. Рогатко, О.И. Невечеря

Институт физико-органической химии и углехимии
им. Л.М. Литвиненко, г. Донецк

Определена антирадикальная активность фракций гуминовых и гиматомелановых кислот из разных образцов бурого угля Александрийского месторождения и из торфа Черкасского месторождения. Антирадикальную активность препаратов исследовали в реакции их взаимодействия со стабильным хромоген-радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) в диметилсульфоксиде и этаноле спектрофотометрическим методом. Показано, что в разных растворителях антирадикальная активность фракций гуминовых веществ коррелирует с количеством гидроксильных групп в структуре их макромолекул.

Ключевые слова: гуминовые кислоты, гиматомелановые кислоты, антирадикальная активность, 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ), УФ-спектроскопия, потенциометрия.

DOI 10.26456/vtchem2019.3.8

ВВЕДЕНИЕ

Гуминовые вещества являются одной из наиболее химически активных частей бурого угля, торфа, почвенного гумуса, сланцев и донных отложений (сапропелей), что делает их уникальными объектами для решения химических задач различного плана. Препараты гуминовых веществ, как нативных, так и модифицированных, перспективны для применения в сельском хозяйстве, ветеринарии, медицине и технических направлениях [1-6]. В этой связи получение препаратов с заданными свойствами на основе гуминовых веществ является актуальной задачей.

Наиболее реакционноспособными компонентами гуминовых веществ являются гуминовые (ГК) и гиматомелановые (ГМК) кислоты. Гиматомелановые кислоты – это спирторастворимые фракции гуминовых кислот. ГК и ГМК являются природными соединениями, которые представляют собой сложные органические структуры с конденсированными ароматическими ядрами, имеющими боковые цепи различной степени разветвления, в состав которых входят различные гидрофильные функциональные группы: карбоксильные, гидроксильные, хиноидные, аминогруппы [7]. Наличие этих

функциональных групп в структуре макромолекул обуславливает биологическую активность гуминовых веществ и предполагает их способность к антиоксидантному и антирадикальному действию [8, 9].

Известно, что гуминовые кислоты из торфа и бурого угля обладают выраженной биологической активностью (гепатопротекторные, антигипоксические, антитоксические и др. свойства). Гиматомелановые кислоты также проявляют биологическую активность и могут найти применение в медицинской практике как противовоспалительные и иммунокорректирующие средства [10-15].

Большое внимание для медицинских целей уделяется поиску природных источников биологически активных веществ с антиоксидантными и антирадикальными свойствами и разработка на их основе новых биодоступных лекарственных препаратов. Известно, что антиоксидантная и антирадикальная активности являются фармакологическими тестами для биологически активных веществ. Для технических целей важным является разработка эффективных антиоксидантов (например, для технических масел и смазок) и ингибиторов коррозии металлов из доступного и дешевого сырья.

Целью настоящей работы является исследование антирадикальных свойств ГК и ГМК из бурого угля Александрийского месторождения и торфа Черкасского месторождения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Гуминовые кислоты получали из аналитических проб бурого угля Александрийского месторождения однократной экстракцией 0,1 н раствором NaOH при соотношении твердой и жидкой фаз 1 : 8 и при двух температурах – 20 и 100 °С.

Гиматомелановые кислоты получали из гуминовых кислот однократной экстракцией этиловым спиртом при соотношении твердой и жидкой фаз 1 : 10, температуре 20 °С и температуре кипения спирта – 80 °С. Экстракцию проводили при перемешивании смеси компонентов в интенсивном турбулентном режиме с использованием механической мешалки при $\omega = 900$ об/мин в течение 2-х часов. Отделяли спирт упариванием, а остаток сушили в сушильном шкафу до постоянной массы.

Для количественной оценки антирадикальной активности (АРА) был применен метод, основанный на реакции стабильного свободного радикалаДФПГ (2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил), растворенного в этаноле или диметилсульфоксиде, с образцом антиоксиданта [16]. За ходом реакции следили по изменению величины оптической плотности растворов (А) методом спектрофотометрии при $\lambda = 517$ нм и $t = 20$ °С (спектрофотометр Specord UV VIS). Антирадикальную активность

(АРА) определяли из кинетических зависимостей расходования ДФПГ в реакциях с гуминовыми веществами: $A = f(t)$. Из линейного уравнения $A/A_0 (\%) = f(C_{ГВ})$ были получены величины концентраций субстратов, которые необходимы для уменьшения концентрации ДФПГ на 50% за 5 минут - EC_{50} («Effective Concentration»).

Количество функциональных групп (-COOH и -OH) определяли методом потенциометрического титрования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке 1 приведены, в качестве примера, характерные кинетические кривые расходования ДФПГ при взаимодействии с фракцией гуминовой кислоты в растворах ДМСО. На рисунке 2 – зависимости остаточного содержания ДФПГ через 5 минут реакции ГК с ДФПГ от концентрации ГК, выделенной при 100 °С. Линейный характер зависимостей $A/A_0 = f(C_{ГВ})$ позволяет определять величины EC_{50} («Effective Concentration») - концентраций субстратов, которые необходимы для уменьшения содержания ДФПГ на 50%.

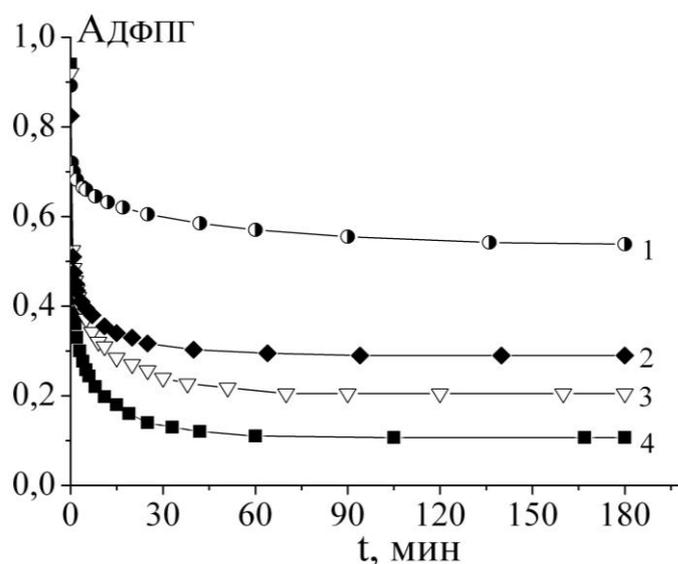
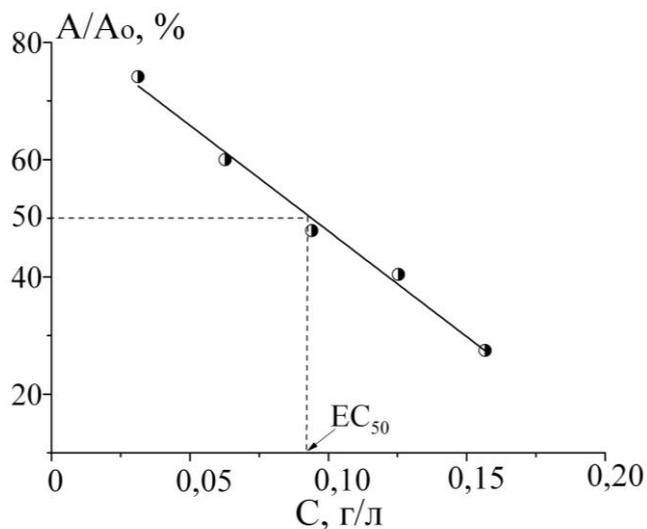


Рис. 1. Кинетические кривые расходования ДФПГ в реакции с ГК, полученной экстракцией при 100 °С из бурого угля, в растворе ДМСО.
 $C_{ГК}$, г/л: 1 – 0,0313; 2 – 0,0940; 3 – 0,1254; 4 – 0,1567

Концентрация ДФПГ существенно снижается в зависимости от времени процесса и роста концентрации ГК и ГМК в системе. Рассчитанные значения величины EC_{50} как характеристики антирадикальной активности фракций гуминовых и гиматомелановых

кислот, полученных из образцов бурого угля и торфа, приведены в таблице. При этом, чем меньше значение параметра EC_{50} , тем большей антирадикальной активностью обладает вещество.



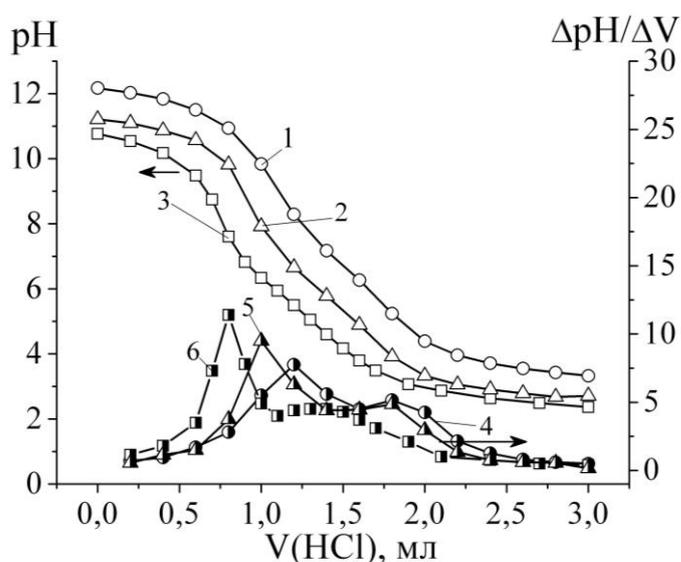
Р и с . 2 . Зависимость остаточного содержания ДФПГ от концентрации ГК ($t_{ext} = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$) из бурого угля в растворах ДМСО

Т а б л и ц а

Характеристики антирадикальной активности и содержание активных функциональных групп в образцах ГК и ГМК из бурого угля (БУ) и торфа

Образец	$t_{экст},\text{ }^{\circ}\text{C}$	$EC_{50},\text{ г/л}$	Уравнение $A/A_0 = f(C_{ГВ})$	R	[ОН], мг-экв/г	[COOH], мг-экв/г
Гуминовые кислоты (в ДМСО)						
ГК ₁₀₀ из БУ	100	0,095	$y = -366,2x + 84,8$	0,99	2,4	3,2
ГК ₂₀ из БУ	20	0,105	$y = -290,8x + 80,4$	0,99	2,0	2,6
ГК ₁₀₀ из торфа	100	0,088	$y = -384,7x + 83,8$	0,96	2,6	2,8
Гиматомелановые кислоты (в этаноле)						
ГК ₁₀₀ , из БУ	ГМК при 80	0,089	$y = -378,0x + 83,6$	0,99	3,2	2,4
ГК ₁₀₀ , из БУ	ГМК при 20	0,082	$y = -392,5x + 82,1$	0,97	3,4	3,2
ГК ₂₀ из БУ	ГМК при 20	0,093	$y = -221,1x + 70,6$	0,98	3,2	2,8

Характерные интегральные и дифференциальные кривые потенциометрического титрования растворов солей гуминовой кислоты, выделенной из бурого угля водным раствором щелочи при температуре кипения (100 °С), и гиматомелановых кислот, экстрагированных из этого образца гуминовой кислоты этиловым спиртом при комнатной температуре (20 °С) и температуре кипения этанола (80 °С), приведены на рисунке 3. Рассчитанные из данных потенциометрического титрования количества активных COOH - и OH -групп в структуре макромолекул ГК и ГМК приведены в таблице. Гиматомелановые кислоты содержат большее количество гидроксильных групп по сравнению с гуминовыми образцами.



Р и с . 3 . Интегральные (1, 2, 3) и дифференциальные (4, 5, 6) кривые потенциометрического титрования 0,05%-ных растворов солей гуминовой кислоты (1, 4) и гиматомелановых кислот, экстрагированных из этого образца ГК при двух температурах. Температура экстракции ГМК из ГК ($t_{ext} = 100$ °С), t_{ext} , °С: 2, 5 – 20; 3, 6 – 80

Как следует из полученных данных, диапазон вариаций функционального состава ГК и ГМК из бурого угля и торфа не слишком широк, что согласуется с литературными данными [17].

ВЫВОДЫ

1. Диапазон вариаций функционального состава гуминовых и гиматомелановых кислот из разных источников находится в пределах:

для карбоксильных групп – $2,4 \div 3,2$ мг-экв/г, для гидроксильных групп – $2,0 \div 3,4$ мг-экв/г.

2. В разных растворителях антирадикальная активность фракций гуминовых веществ коррелирует с количеством гидроксильных групп в структуре их макромолекул.

Список литературы

1. Обзор рынка гуминовых удобрений в России и мире // М.: ООО «ИГ «Инфомайн», 2018. 14 стр. (www.infomine.ru).
2. Aquino A.J.A., Tunega D., Pasalic H., Haberhauer G., Gerzabek M.H., Lischka H. // Chem. Phys. 2008. V. 349. P. 69–76.
3. Lu Y., Yan M., Korshin G.V. // Geochimica et Cosmochimica Acta. 2017. V. 213. P. 308–316.
4. Antilén M., González M.Á., Pérez-Ponce M., et al. // Int. J. Electrochem. Sci. 2011. V.6. P. 901–912.
5. Martínez C.M., Celis L.B., Cervantes F.J. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2013. V. 97. P. 9897–9905.
6. L. Jiang, X. Mao, J. Yu, F. Gan // Anti-Corrosion Methods and Materials. 2008. V. 55, № 4. P. 204.
7. Pena-Mendes E.M., Havel J., Patoska J. // J. Appl. Biomed. 2005. N 3. P. 13–24.
8. Zykhova M.V., Schepetkin I.A., Belousov M.V., S.V. Krivoshchekov, et al. // Molecules. 2018. V.23, N 4. P. 753–768.
9. Klein O.I., Kulikova N.A., Filimonov I.S. Koroleva O.V., Konstantinov A.I. // J. Soils and Sediments. 2018. V. 18, N 4. P. 1355–1364.
10. Беркович А.М. Применение гуминовых и гуминоподобных препаратов в ветеринарии и медицине // <http://www.humipharm.ru/research/prim.pdf>. 2007. 29 с.
11. Федько И.В., Гостищева М.В., Исмадова Р.Р. // Химия растительного сырья. 2005. № 1. С. 49–52.
12. Pant K., Singh B., Thakur N. // International Journal of Toxicological and Pharmacological Research. 2012. V. 4, № 2. P. 17–25.
13. Akbas A., Silan C., Gulpinar M.T., Sancak E.B., et al. // Inflammation. 2015. Vol. 38, № 6. P. 2042–2048.
14. Хилько С.Л., Семенова Р.Г. // Химия твердого топлива. 2016, № 6. P. 60–64.
15. Aristilde L., Sposito G // Environmental Toxicology and Chemistry. 2013. V. 32, № 7. P. 1467–1478.
16. Molyneux P. // Songklanakarin J. Sci. Technol. 2004. V. 26 (2). P. 211–219.
17. Орлов Д.С. Органическое вещество почв России // Почвоведение. 1998. № 9. С. 1049–1057.

ANTIRADICAL PROPERTIES OF HUMIC SUBSTANCES FROM BROWN COAL AND PEAT

**S.L. Khil'ko, R.A. Makarova, R.G. Semenova, M.I. Rogatko,
O.I. Nevecherya**

The L.M.Litvinenko Institute of Physical Organic and Coal Chemistry, Donetsk

The antiradical activity of fractions of humic and hymatomelanic acids from different samples of brown coal from the Alexandria deposit and from the peat of the Cherkassy deposit is determined. The antiradical activity of the drugs was investigated in the reaction of their interaction with the stable chromogen radical 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in dimethyl sulfoxide and ethanol using a spectrophotometric method. It was shown that in different solvents the antiradical activity of humic substance fractions correlates with the number of hydroxyl groups in the structure of their macromolecules.

Keywords: *humic acids, hymatomelanic acids, antiradical activity, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), UV spectroscopy, potentiometry.*

Об авторах:

ХИЛЬКО Светлана Леонидовна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник Института физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко (г. Донецк), e-mail: sv-hilko@yandex.ru

МАКАРОВА Раиса Александровна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко (г. Донецк).

СЕМЕНОВА Римма Григорьевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко (г. Донецк).

РОГАТКО Марина Игоревна – аспирант Института физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко (г. Донецк).

НЕВЕЧЕРЯ Оксана Ивановна - младший научный сотрудник Института физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко (г. Донецк).

Поступила в редакцию 15 мая 2019 г.