

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ РЯДА ТОРФОВ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

М.В. Гостищева

Томский государственный педагогический университет

E-mail: mariagos@yandex.ru

На основании сравнительного исследования элементного состава, инфракрасных спектров и спектров электронного парамагнитного резонанса, а также биологической активности (по показателям обратимой агрегации эритроцитов крови), показано, что гуминовые кислоты разных видов торфа Томской области отличаются по биологическим свойствам в зависимости от особенностей их химического состава. Гуминовые кислоты переходного осокowego вида торфа, в сравнении с другими торфами, имеют более высокую биологическую активность, что объясняется, прежде всего, высоким содержанием ароматических систем полисопряжения, азота и активных кислых групп.

Гуминовые кислоты (ГК) как природные высокомолекулярные системы имеют сложный состав и представляют собой широкий класс гомологов, состоящих из соединений, отличающихся структурой, составом, количеством и топографией молекулярных фрагментов [1–3]. Наиболее перспективным сырьем для производства гуминовых препаратов различного назначения является торф, который характеризуется высоким содержанием и широким набором гуминовых веществ (ГВ) различного химического состава и свойств [4]. Химические и биологические свойства ГК, выделенных из различных видов торфа специфичны в зависимости от генезиса сырья и растений-торфообразователей (материнского вещества), и определяются составом и соотношением индивидуальных веществ, содержанием алифатических и ароматических фрагментов, функциональных групп, а также их гетерогенностью и полидисперсностью [4–6].

Исследования в области химии ГК ведутся на протяжении многих лет, однако вопросы, связанные с определением их биологической активности, остаются еще не решенными. В работах [7, 8] неоднократно подчеркивалось о разнообразии биологической активности ГК в торфах разного происхождения (различных по ботаническому составу, зольности, степени разложения). В настоящее время при исследовании биологической активности ГК распространенным тестом является изучение ростостимулирующей активности при прорастании семян (пшеницы, кукурузы и пр.) в ранние стадии развития растений и при созревании с помощью лабораторно-вегетационных опытов (по методу водных культур) [9, 10]. Менее распространенным способом является стимуляция репродуктивной активности дрожжевых клеток, связанного с иницированием структурной перестройки плазматических мембран, являющихся первичной мишенью действия ГВ из торфа [11, 12]. Также существуют методы определения биологической активности (антиоксидантной активности), связанные со способностью ГК участвовать в окислительно-восстановительных реакциях (методы катодной вольтамперометрии и оценки кинетики иницирования окисления кумола) [13, 14].

Как новый способ определения биологической активности представляет интерес воздействие ГК на обратимую агрегацию эритроцитов (ОАЭ) крови. Ранее [15, 16] были проведены исследования по определению показателей ОАЭ в микрообъемах крови в целях изучения антиагрегантных свойств лекарственных средств. В результате чего был предложен метод оценки ОАЭ, позволяющий количественно оценивать влияние различных препаратов на показатели агрегации и дезагрегации. В связи с этим, проведена работа по исследованию влияния ГК на показатели ОАЭ с целью использования данного метода как способа определения их биологической активности [17]. Полученные достоверно значимые результаты показали различия в характере и степени воздействия ГК на ОАЭ в зависимости от вида торфа, вытяжки ГК из сырья и концентрации ГК в растворе, на основании которых предложен недорогостоящий, эффективный, экспрессный способ оценки биологической активности ГК торфа [17].

Цель данной работы – сравнительное исследование особенностей химического состава и биологических свойств ГК, выделенных из репрезентативных верхового, переходного и низинного типов торфа Томской области.

Для исследования ГК отобраны торфа на ландшафтном профиле научно-исследовательского полигона «Васюганье», расположенного на отрогах болотного массива «Васюганское болото» Бакчарского района Томской области. Согласно болотному районированию О.Л. Лисс [18] исследуемая территория входит в Западно-Сибирскую таёжную болотную область бореально-атлантических выпуклых олиготрофных моховых болот активного заболачивания. Для изучения общих свойств торфов использовали стандартные методики определения степени разложения, кислотности. Количество золы определяли по ГОСТ 11306-83. Характеристика торфов приведена в табл. 1. Гуминовые кислоты выделяли 0,1 н NaOH по схеме, описанной в [19]. Элементный состав определяли на С, Н, N-анализаторе «Carlo Erba Strumentazione», модель 1106 (Италия).

Спектры инфракрасного поглощения ГК записывали на ИК-Фурье-спектрометре Vector-22 фирмы Bruker (Германия) в таблетках с KBr в соотно-

шении 1:300 соответственно, в интервале значений частот от 500 до 4000 см⁻¹. Регистрацию ЭПР спектров осуществляли при 20...25 °С в атмосфере воздуха на Bruker EMX EPR спектрометре X-частотного диапазона. В качестве эталона использовали Mg²⁺ в MgO при атмосферном давлении и комнатной температуре. Исследование биологической активности ГК проводили по их влиянию на показатели обратной агрегации эритроцитов в микрокувете вибрационным способом, описанным в [20]. Биологическую активность сравнивали с фармакопейным препаратом «Викасол». Контролем служили экстрагент ГК – 0,1 н NaOH, для «Викасола» – вода.

Таблица 1. Общая характеристика торфов Томской области

Тип, вид торфа	Глубина отбора проб, см	Степень разложения, мас. %	Зольность, мас. %	pH солевой	Содержание ГК, мас. %
Верховой сосново-пушицевый	0...30	35	6,3	4,2	38,4
Переходный осоковый	150...200	45	4,8	4,1	40,4
Низинный травяно-моховый	200...250	40	4,3	4,6	39,2

Анализируя данные элементного состава (табл. 2), следует отметить высокое содержание углерода в исследуемых ГК (50,4...52,1 %). Полученные результаты показывают, что наибольшим развитием алифатических структур, согласно данным соотношения Н/С, отличаются ГК осокового вида торфа. В ГК травяно-мохового вида торфа наблюдается самое низкое отношение Н/С, что свидетельствует о более низком вкладе алифатических структур в построение их молекул, а также о большей замещенности ароматических структур в составе молекул ГК этого вида торфа. Соотношения С/Н показывают, что молекулы ГК осокового вида торфа наиболее обогащены азотом, наименее – травяно-мохового вида торфа. Таким образом, полученные данные элементного анализа позволяют предположить, что наиболее биологически активными будут ГК осокового вида торфа. ГК травяно-мохового вида торфа, скорее всего, будут отличаться наименьшей активностью. Полученные результаты также подтверждаются данными ИК- и ЭПР-спектроскопии.

Таблица 2. Элементный состав гуминовых кислот

Тип, вид торфа	Элементный состав, мас. %, на беззольную навеску			Отношение	
	С	Н	N	H/C	C/N
Верховой сосново-пушицевый	51,50	5,10	3,00	1,19	20,03
Переходный осоковый	52,10	5,60	3,58	1,29	16,98
Низинный травяно-моховый	50,40	4,35	2,48	1,04	23,71

Во всех ИК-спектрах ГК наблюдаются характерные полосы поглощения. Нами были обнаружены интенсивные полосы поглощения при частотах 3500...3300 см⁻¹ (гидроксилсодержащие соединения), 2920 см⁻¹, 1460...1440 см⁻¹, 700...900 см⁻¹ (длинные метиленовые цепочки), 2860 см⁻¹ (метиленовые концевые группы), 1725...1700 см⁻¹ (карбонилсодержащие соединения), 1625...1610 см⁻¹, 1510...1500 см⁻¹, 1390...1400 см⁻¹ (бензольные структуры), 1250...1225 см⁻¹ (С-О – эфирные группы), 1050...1150 см⁻¹ (СО – группы углеводов).

Количественную оценку содержания функциональных групп проводили исходя из отношений оптических плотностей *D* полос поглощения кислородсодержащих групп и ароматических полисопряженных систем (1610 см⁻¹) или алифатических заместителей при 2920 см⁻¹. Расчет структурных параметров ГК (табл. 3) показал однотипность и постоянство их функционального состава.

Таблица 3. Соотношение оптических плотностей полос поглощения в гуминовых кислотах по данным ИК-спектроскопии

Отношение оптических плотностей	Тип и вид торфа		
	Верховой сосново-пушицевый	Переходный осоковый	Низинный травяно-моховый
ОН ₃₄₀₀ /С=C ₁₆₁₀	1,02	1,03	1,03
С=О ₁₇₂₀ /С=C ₁₆₁₀	0,95	0,93	0,83
СалК ₂₉₂₀ /С=C ₁₆₁₀	0,84	0,80	0,76
СО ₁₂₂₅ /С=C ₁₆₁₀	0,84	0,83	0,79
ОН ₃₄₀₀ /СалК ₂₉₂₀	1,22	1,29	1,36
С=О ₁₇₂₀ /СалК ₂₉₂₀	1,14	1,17	1,09
СО ₁₂₂₅ /С=C ₂₉₂₀	1,00	1,04	1,05

Одной из основных кислородсодержащих форм в ГК торфов являются гидроксильные, карбоксильные группы, С-О-связи при 1225 см⁻¹ и СО-ОН-углеводов. Соотношение оптических плотностей полос поглощения функциональных кислородсодержащих групп и алкильных заместителей к ароматическим фрагментам показало преобладание последних над алкильными (2920 см⁻¹) и С-О-связей (1225 см⁻¹). Относительное количество гидроксильных групп (*D*₃₄₀₀/*D*₁₆₁₀) во всех образцах одинаковое. В макромолекулах исследуемых ГК карбоксильные группы преобладают над алкильными заместителями, отношение *D*₁₇₂₀/*D*₂₉₂₀ для всех образцов больше 1, наибольшее значение отмечается для ГК осокового вида торфа.

Близкие значения отношений *D*₁₇₂₀/*D*₂₉₂₀ во всех образцах ГК характеризует их как структуры с подобной системой полисопряжения и системой Н-связей. Как и было отмечено выше, для ГК осокового вида торфа характерно более высокое отношение содержания алифатических связей по отношению к ароматическим (*D*₂₉₂₀/*D*₁₆₁₀), а для ГК травяно-мохового – наименьшее. Значительные различия наблюдаются также в спектральных коэффициентах, отображающих соотношение гидрофильной и гидрофобной составляющей в структу-

рах ГК торфов. Кроме того, число кислородсодержащих групп всех типов выше числа алифатических С-Н-связей.

Анализ формы спектров ЭПР поглощения исследуемых образцов показывает (табл. 4), что все спектры поглощения ГК представляют собой относительно симметричную синглетную линию с g -фактором, близким к 2, обусловленную ароматическими структурами полисопряжения. Согласно литературным данным [21] g -факторы аналогичных образцов сосредоточены в диапазоне значений 2,0033...2,0040. Полуширина синглетной линии (ΔH) сигнала ЭПР в зависимости от специфики образца варьировалась от 3,8 до 4,5 Гс. Вытяжки из сосново-пушицевого и осокового видов торфа характеризуются близкими параметрами спектров ЭПР, ширина сигнала их составляет менее 4,0 Гс, что характерно для верховых и переходных торфов. Парамагнетизм отражает особенности молекулярной структуры, по интенсивности сигнала можно отметить, что наибольшее содержание парамагнитных центров ($I_{\text{абс}}$) характерно для ГК осокового, далее по убыванию идут сосново-пушицевый и травяно-моховый виды торфа, что подтверждает данные предыдущих анализов о меньшей конденсированности ароматических структур полисопряжения [22] последних.

Таблица 4. Параметры спектров ЭПР гуминовых кислот

Вид торфа	ΔH , Гс	$I_{\text{абс}}$, 10^{17} спин/г
Верховой сосново-пушицевый	3,8	1,8
Переходный осоковый	3,9	2,3
Низинный травяно-моховый	4,5	1,6

При рассмотрении вопроса взаимосвязи биологической активности ГК с их молекулярной структурой в литературе [22] обращается внимание, прежде всего на тенденцию усиления активности с повышением содержания ароматических систем полисопряжения и азота. А также полагают, что биологическую активность ГК обуславливают активные кислые (карбоксильные) и хиноидные группы [13]. На основании изучения элементного

состава, ИК-спектров и парамагнитных свойств возможно предположить, что ГК осокового вида торфа будут отличаться более высокой биологической активностью в сравнении с ГК других видов торфа. Данное предположение нами было проверено на примере влияния ГК на обратимую агрегацию эритроцитов.

По результатам определения биологической активности было отмечено, что все ГК оказывают на обратимую агрегацию эритроцитов одинаковый эффект, проявляющийся в усилении агрегации эритроцитов крови. При этом биологическая активность ГК осокового вида торфа (193,33 % к контролю) в 1,26 и 1,29 раза выше по сравнению с таковой верхового сосново-пушицевого (153,33 %) и низинного травяно-мохового (149,37 %) видов торфа соответственно, которые характеризуются близкими значениями биологических свойств, как и отмечалось выше. Способность усиливать агрегацию эритроцитов крови препарата «Викасол» (152,20 %) в 1,27 раза ниже, по сравнению с биологической активностью ГК осокового вида торфа.

Таким образом, ГК разных видов торфа имеют различия в биологической активности в зависимости от особенностей их химического состава. По результатам сравнительного изучения свойств ГК трёх видов торфа Томской области можно отметить, что из всех исследованных образцов ГК осокового вида торфа отличаются наибольшим содержанием азота и углерода, развитием алифатических структур в строении молекулы, а также более высоким содержанием кислородсодержащих групп и парамагнитных центров. Этими свойствами возможно и объясняется более высокая биологическая активность по сравнению с другими торфами. ГК сосново-пушицевого и травяно-мохового видов торфа характеризуются близкими химическими свойствами и имеют одинаковую биологическую активность.

Автор выражает благодарность за помощь в работе своему научному руководителю д-ру с.-х.н., член-корр. РАСХН Л.И. Инишевой, к.т.н. Н.В. Юдиной (ИХН СО РАН), д.х.н. Н.М. Бажину (ИХКуГ СО РАН), д.б.н. Р.Т. Тухватулину (НИИ ББ при ТГУ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бамбалов Н.Н., Марыганова В.В., Прохоров С.Г., Стригуцкий В.П. О механизме образования гуминовых веществ // Доклады НАН Беларуси. Сер. химических наук. – 1998. – Т. 42. – № 6. – С. 95–99.
- Лиштван И.И., Капуцкий Ф.Н., Янута Ю.Г., Абрамец А.М., Навоша Ю.Ю. Гуминовые кислоты торфа и препараты на их основе // Природопользование. – 2004. – Вып. 10. – С. 114–119.
- Марыганова В.В., Бамбалов Н.Н., Парамон С.В. Воздействие вида экстрагента на структуру извлекаемых из торфа гуминовых кислот // Химия твёрдого топлива. – 2003. – № 1. – С. 3–10.
- Марыганова В.В., Бамбалов Н.Н., Тьчинская Л.Ю. Особенности химического состава и структуры гуминовых кислот, выделенных последовательной экстракцией торфа пирофосфатом и гидроксидом натрия // Химия твёрдого топлива. – 2006. – № 3. – С. 3–11.
- Марыганова В.В., Шайдак Л., Тьчинская Л.Ю. Сравнительная оценка амфифильных свойств гуминовых веществ различного генезиса по данным хроматографии гидрофобного взаимодействия // Торф в решении проблем энергетики, сельского хозяйства и экологии: Матер. Междунар. конф. – Минск, 2006. – С. 225–229.
- Лиштван И.И., Абрамец А.М., Скоропанова Л.С. Фракционирование гуминовых кислот торфа и их коллоидно-химические свойства // Природопользование. – 1996. – Вып. 1. – С. 4–5.
- Flaig W. Chemische Untersuchungen an Huminstoffen // Zeitschrift für Chemie. – 1964. – В. 4. – Н. 7. – С. 253–265.
- Flaig W. Organische Kolloide des Bodens, Bildung und Eigenschaften // Agrochemica. – 1978. – № 22. – С. 226–247.
- Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. – Киев: Наукова думка, 1974. – 256 с.
- Бояркин А.П. Некоторые усовершенствования метода количественного определения активности ростовых веществ // Доклады АН СССР. – 1948. – Т. 59. – № 9. – С. 1651–1652.

11. Баталкин Г.А. Влияние физиологически активных веществ гумусовой природы на рост продуцентов микробного белка: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. – Киев, 1987. – 16 с.
12. Мажуль В.М., Прокопова Ж.В., Ивашкевич Л.С. Механизм действия гуминовых препаратов из торфа на структурное состояние мембран и функциональную активность дрожжевых клеток // Гуминовые вещества в биосфере. – М.: Наука, 1993. – С. 151–157.
13. Юдина Н.В., Писарев С.И., Саратиков А.С. Оценка биологической активности гуминовых кислот торфов // Химия твёрдого топлива. – 1996. – № 5. – С. 31–34.
14. Юдина Н.В., Писарева С.И., Филиппова Т.Л., Касимова Л.В. Гуминовые стимуляторы роста растений // Химия твёрдого топлива. – 1997. – № 3. – С. 108–111.
15. Тухватулин Р.Т., Плотникова Т.М., Новикова Л.К. Метод отбора препаратов, влияющих на агрегацию эритроцитов // Оценка фармакологической активности химических соединений: принципы и подходы. – М., 1989. – Ч. 3. – С. 330.
16. Тухватулин Р.Т., Плотникова Т.М., Комова Н.И., Новикова Л.К. Использование вибрационного метода для изучения фармакологической регуляции обратимой агрегации эритроцитов // Фармакология и токсикология. – 1991. – № 5. – С. 62–63.
17. Gostishchtva M.V., Inisheva L.I., Fedko I.V. Biological Activity of Peat Humic Acids // Humic Substances – Linking Structure to Functions: Proc. of the 13th Meeting of the International Humic Substances Society. – Karlsruhe, Germany, 2006. – S. 445–448.
18. Лисс О.Л., Абрамова Л.И., Аветов Н.А., Березина Н.А. и др. Болотные системы Западной Сибири и их природоохранное значение. – Тула: ИПП «Гриф и К^о», 2001. – 584 с.
19. Бамбалов Н.Н., Беленькая Т.Я. Фракционно-групповой состав органического вещества целинных и мелиорированных торфяных почв // Почвоведение. – 1998. – № 12. – С. 1431–1437.
20. Тухватулин Р.Т., Левтов В.А., Шуваева В.Н., Шадрин Н.Х. Агрегация эритроцитов в крови, помещенной в макро- и микрокуветы // Физиологический журнал. – 1986. – № 6. – С. 775–784.
21. Стригуцкий В.П., Навоша Ю.Ю., Смычник Т.П., Бамбалов Н.Н. Исследование структуры гуминовых кислот методом нелинейной ЭПР-спектроскопии // Почвоведение. – 1992. – № 1. – С. 147–151.
22. Наумова Г.В., Стригуцкий В.П., Жмакова Н.А., Овчинникова Т.Ф. Связь молекулярной структуры гуминовых кислот и их биологической активности // Химия твёрдого топлива. – 2001. – № 2. – С. 3–13.

Поступила 20.09.2006 г.