

УДК 547.22:541.13:541.8:541.127

В.А.Бережной, О.В.Смирнова, И.В.Ефимова, канд. хим. наук, ст. науч. сотр., **С.Л.Хилько** канд. хим. наук, ст. науч. сотр. (Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко НАН Украины)

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ ФРАКЦИЙ ГУМИНОВЫХ И ГИМАТОМЕЛАНОВЫХ КИСЛОТ В СРЕДЕ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА

Изучены антирадикальные свойства низкотемпературной фракции гуминовых и гиматомелановых кислот из бурого угля. Оценка антирадикальной активности была проведена колориметрическим методом по реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом в диметилсульфоксиде. Параметр ECR_{50} , характеризующий антирадикальную активность веществ, найден для гуминовых и гиматомелановых кислот и составляет 5,53 и 16,39 соответственно. Показано, что гуминовые кислоты обладают более выраженными антирадикальными свойствами, чем гиматомелановые кислоты и антирадикальная активность гуминовых веществ увеличивается с ростом их количества в растворе. Установлено количество аскорбиновой кислоты, эквивалентное концентрации исследуемых гуминовых веществ и рассчитано, что за 20 мин взаимодействия 1 г гуминовых кислот восстанавливает такое же количество стабильного радикала ДФПГ как 125,44 мг аскорбиновой кислоты, а 1 г гиматомелановых кислот соответственно 34,94 г аскорбиновой кислоты. Кинетические эксперименты продемонстрировали, что представленный в данной работе метод применим для анализа антирадикальной активности гуминовых веществ.

Ключевые слова: антирадикальная активность, гиматомелановые кислоты, гуминовые кислоты, аскорбиновая кислота, ДФПГ.

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. В этой связи, получение препаратов с заданными свойствами на основе гуминовых веществ является актуальной задачей.

Наиболее реакционноспособным компонентом гуминовых веществ являются гуминовые кислоты (ГК), которые в зависимости от природных источников отличаются элементным составом. Гиматомелановые кислоты (ГмК) представляют спирторастворимую фракцию гуминовых кислот. ГК и ГмК являются природными соединениями, которые представляют собой сложную органическую структуру с конденсированными ароматическими ядрами, имеющими боковые цепи различной степени разветвления, в состав которых входят различные гидрофильные функциональные группы: карбоксильные, гидроксильные, хиноидные, аминокгруппы [1-3]. Наличие этих функциональных групп в структуре макромолекул обуславливает биологическую активность гуминовых веществ и предполагает их способность к антиоксидантному действию. Однако детальных исследований этих свойств гуминовых веществ в литературе нет.

Целью работы было исследование антирадикальной активности ГК и ГмК.

Результаты и их обсуждение

Одним из способов оценки антирадикальной активности является колориметрия свободных радикалов, основанная на реакции стабильного

свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ) с образцом антиоксиданта [4]. В результате восстановления ДФПГ антиоксидантом снижается пурпурно-синяя окраска ДФПГ в растворе, а реакция контролируется по изменению оптической плотности обычными методами спектрофотометрии. В литературе описаны множество методик определения антирадикальной активности низкомолекулярных антиоксидантов и их смесей в различных природных экстрактах [5-12], но четких методик по определению антирадикальной активности высокомолекулярных соединений не разработано. В данной работе изучена антирадикальная активность ГК и ГМК по аналогии с экстрактами из растений [8].

Было исследовано взаимодействие ГМК и ГК с ДФПГ в среде ДМСО. Остаточное содержание ДФПГ (%ДФПГ) в реакционной смеси оценивалось по формуле:

$$\%ДФПГ = \frac{D_t}{D_0} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где D_t - оптическая плотность в некоторый момент времени, D_0 - оптическая плотность раствора в начальный момент времени.

Получены характерные кинетические кривые расходования ДФПГ в реакции с ГМК (рис. 1а) и ГК (рис. 1б).

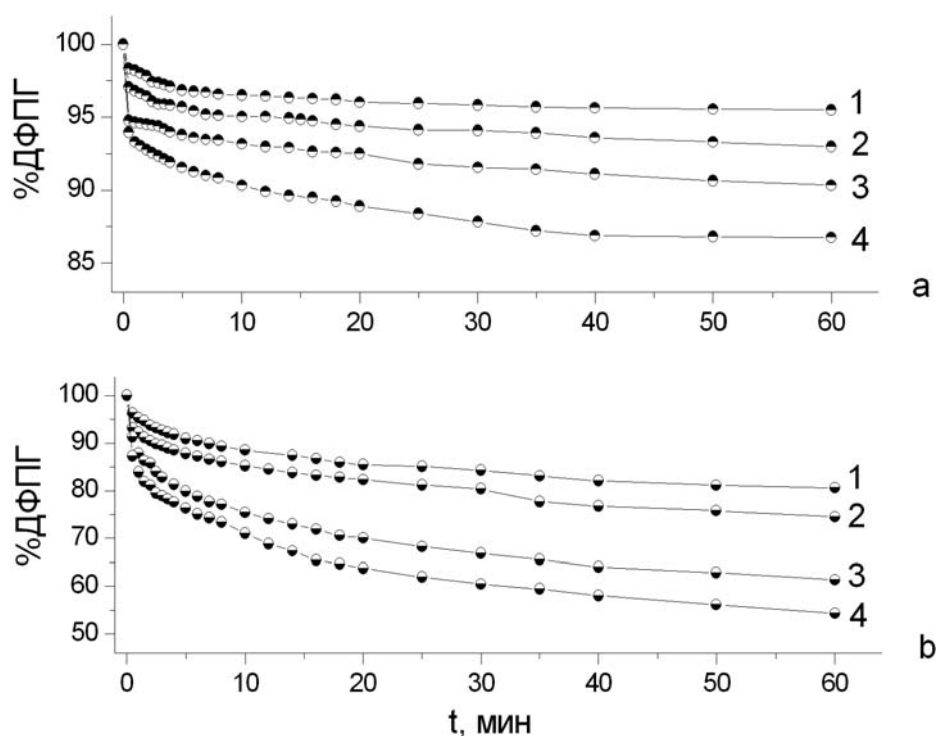


Рис. 1. Кинетические кривые расходования ДФПГ по реакции с ГМК(а) и ГК(б), взятые в разных концентрациях: 1 - 27,0 мг/л, 2 - 30,9 мг/л, 3 - 54,0 мг/л, 4 - 61,8 мг/л

Для характеристики антирадикальной активности используют «эффективное соотношение концентраций» ECR_{50} [9] равное отношению концентраций антиоксиданта и ДФПГ, которое обеспечивает снижение концентрации окислителя в 2 раза в течение 5 минут. Для нахождения параметра ECR_{50} получена зависимость остаточного содержания ДФПГ от массы ГМК (а) и ГК (б), приходящихся на 1 г ДФПГ.

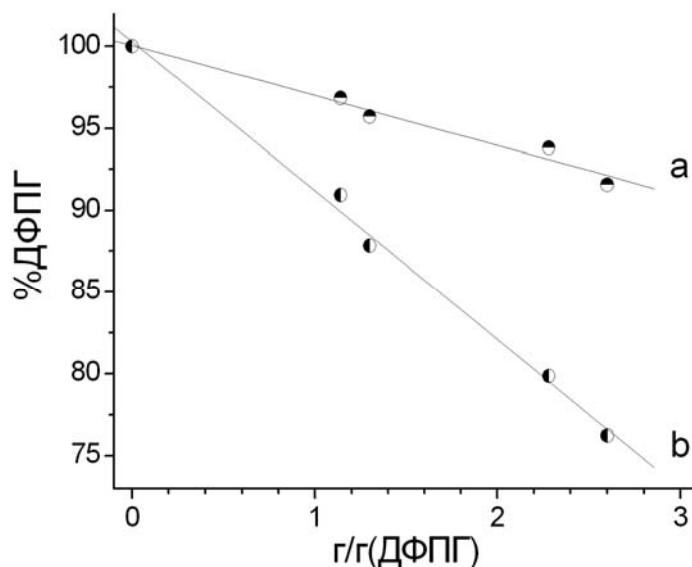


Рис. 2. Зависимость остаточного содержания ДФПГ на 5 мин взаимодействия от массы ГМК (а) и ГК (б), приходящихся на 1 г ДФПГ

Представленные на рис. 2 зависимости описываются уравнениями, по которым можно рассчитать параметр ECR_{50} :

$$\text{для ГМК:} \quad \%ДФПГ = 100,1 - 3,06 \cdot \text{г/г(ДФПГ)} \quad (2)$$

$$\text{для ГК:} \quad \%ДФПГ = 100,3 - 9,10 \cdot \text{г/г(ДФПГ)} \quad (3)$$

Чем меньше значение параметра ECR_{50} , тем вещество обладает более выраженной антирадикальной активностью. Сравнение значений параметра ECR_{50} (таблица 1) исследуемых гуминовых веществ указывает на то, что ГК обладают более выраженными антирадикальными свойствами, чем ГМК.

Таблица 1. Значения параметра ECR_{50} , величины остаточного содержания ДФПГ (%ДФПГ) в зависимости от концентрации гуминовых веществ (С), эквивалентное данной концентрации количество аскорбиновой кислоты ($[АК]_{эКВ}$) и количество гуминовых веществ (г/г(ДФПГ)), приходящихся на 1 г ДФПГ

С, мг/л	г/г(ДФПГ)	ECR_{50}		%ДФПГ		$[АК]_{эКВ}$, мкмоль/л	
		ГК	ГМК	ГК	ГМК	ГК	ГМК
27,0	1,14			85,42	96,01	13,96	1,19
30,9	1,30			82,23	94,38	17,80	3,15
54,0	2,28	5,53	16,39	70,02	92,52	32,53	5,40
61,8	2,60			63,75	88,91	40,09	9,75

Примечание: значения %ДФПГ и $[АК]_{эКВ}$ для 20 мин взаимодействия.

В таблице 1 представлены значения величины остаточного содержания ДФПГ в зависимости от концентрации ГМК и ГК в исследуемом растворе. Показано, что с ростом концентрации гуминовых веществ уменьшается количество остаточного содержания ДФПГ в растворе, а значит, увеличивается антирадикальная активность.

Изучено взаимодействие аскорбиновой кислоты со стабильным радикалом ДФПГ в среде ДМСО и получена зависимость остаточного содержания ДФПГ на 20 мин взаимодействия от концентрации аскорбиновой кислоты в растворе. По полученной зависимости установили количество

аскорбиновой кислоты ($[AK]_{\text{ЭКВ}}$), эквивалентное концентрации исследуемых гуминовых веществ (таблица 1).

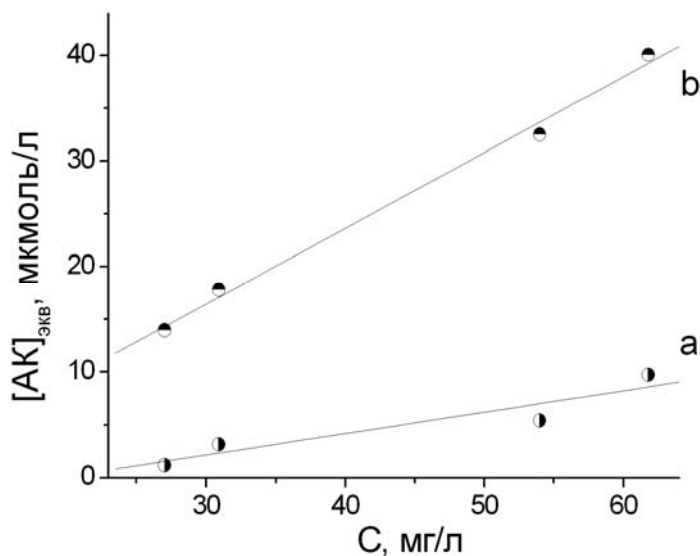


Рис. 3. Зависимость эквивалентной по антирадикальной активности концентрации аскорбиновой кислоты ($[AK]_{\text{ЭКВ}}$, мкмоль/л) от концентрации (С, мг/л) ГМК(а) и ГК(б)

Найдены зависимости эквивалентной концентрации аскорбиновой кислоты от концентраций ГМК и ГК (рис. 3), исходя из которых рассчитали массу аскорбиновой кислоты, которая эквивалентна по антирадикальной активности 1 г исследуемых гуминовых веществ. Согласно расчетам, за 20 мин взаимодействия 1 г ГК восстанавливает такое же количество стабильного радикалаДФПГ как 125,44 мг аскорбиновой кислоты, а 1 г ГМК соответственно 34,94 г аскорбиновой кислоты.

Выводы

Таким образом, изучено взаимодействие свободных радикаловДФПГ с низкотемпературными фракциями гуминовых и гиматомелановых кислот в среде диметилсульфоксида. Параметр ECR_{50} , характеризующий антирадикальную активность веществ, найден для ГК и ГМК и составляет 5,53 и 16,39 соответственно. Показано, что ГК обладают более выраженными антирадикальными свойствами, чем ГМК и антирадикальная активность гуминовых веществ увеличивается с ростом количества ГК и ГМК в растворе. Установлено количество аскорбиновой кислоты, эквивалентное концентрации исследуемых гуминовых веществ и рассчитано, что за 20 мин взаимодействия 1 г ГК восстанавливает такое же количество стабильного радикалаДФПГ как 125,44 мг аскорбиновой кислоты, а 1 г ГМК соответственно 34,94 г аскорбиновой кислоты. Кинетические эксперименты продемонстрировали, что представленный в данной работе метод применим для анализа антирадикальной активности гуминовых веществ.

Экспериментальная часть

Гуминовые и гиматомелановые кислоты получали из аналитической пробы бурого угля Александрийского месторождения (Украина). Гуминовые кислоты однократной экстракцией 0,1 н. раствором NaOH, а гиматомелановые кислоты однократной экстракцией этиловым спиртом при температуре 20 °С.

Для определения антирадикальной активности фракции гуминовых и гиматомелановых кислот использовали реакцию со стабильным свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) [4]. Исследования проведены на спектрофотометре Specord UV VIS в кюветах шириной 1 см при $T = 298$ К. Раствор ДФПГ ($1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л) фирмы "Aldrich" ($\omega = 97\%$) готовили в диметилсульфооксиде (ДМСО). В работе использовались только свежеприготовленные растворы. Из исходных растворов ГК и ГМК в ДМСО (1,08 г/л) готовили серию последовательных разбавлений; 2,0 мл каждого из полученных растворов серии приливали к 3,0 мл раствора ДФПГ и сразу же после смешивания регистрировали значения оптической плотности при $\lambda = 518$ нм. Из-за насыщенной окраски растворов ГК и ГМК в качестве раствора сравнения использовали растворы ГК и ГМК в ДМСО, той же концентрации, что и в исследуемой пробе.

Список использованной литературы

1. Wershaw R.L. // Environ Health Perspect. — 1989. — V. 83. — P. 191.
2. Pena-Mendes E.M., Havel J., Patoska J. // J. Appl. Biomed. — 2005. — № 3. — P. 13.
3. Canellas L.P., Olivares F. L., Okorokova-Façanha A. L., Façanha A. R. // Plant Physiol. — 2002. — V. 130. — P. 1951.
4. Molyneux P. // Songklanakarin J. Sci. Technol. — 2004. — V. 26(2). — P. 211.
5. Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. // Lebensm.-Wiss. U.-Technol. — 1997. — V. 30. — P. 609.
6. Лапинский А.Г., Горбачев В.В. // Химико-фармацевтический журнал. — 2006. — Т. 40. — №6. — С. 27.
7. Latteã K.P., Kolodziej H. // J. Agric. Food Chem. — 2004. — V. 52. — P. 4899.
8. Волков В. А., Сажина Н. Н., Пахомов П. М., Мисин В. М. // Хим. физика. — 2010. — Т. 29, № 8. — С. 73
9. Lebeau J., Furman C., Bernier J.-L., Duriez P., Teissier E., Cotellet N. // Free Radical Biol. Med. — 2000. — V. 29, № 9. — P. 900.
10. Федосеева А.А., Лебедкова О.С., Каниболоцкая Л.В., Шендрик А.Н. // Химия растительного сырья. — 2008. — № 3. — С. 123.
11. Nenadis N., Lazaridou O., Tsimidou Z.M. // J. Agric. Food Chem. — 2007. — V. 55. — P. 5452.
12. Волков В.А., Дорофеева Н.А., Пахомов П.М. // Хим. фарм. журн. — 2009. — Т. 43, № 6. — С. 27.

Надійшла до редколегії 21.01.2013.

В.А. Бережной, О.В. Смирнова, І.В. Єфімова, С.Л. Хилько. ВИЗНАЧЕННЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НИЗЬКОТЕМПЕРАТУРНИХ ФРАКЦІЙ ГУМІНОВИХ І ГІМАТОМЕЛАНОВИХ КИСЛОТ В СЕРЕДОВИЩІ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА

Вивчено антирадикальні властивості низькотемпературної фракції гумінових і гіматомеланових кислот з бурого вугілля. Оцінка антирадикальної активності була проведена колориметричним методом за реакцією з 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилом в диметилсульфооксиді. Параметр ECR_{50} , що характеризує антирадикальну активність речовин, знайдено для гумінових і гіматомеланових кислот і становить 5,53 і 16,39 відповідно. Показано, що гумінові кислоти мають більш виражені антирадикальні властивості, ніж гіматомеланові кислоти і антирадикальна активність гумінових речовин збільшується із зростанням їх кількості в розчині. Встановлено кількість аскорбінової кислоти, що еквівалентна концентрації досліджуваних гумінових речовин і розраховано, що за 20 хв взаємодії 1 г гумінових кислот відновлює таку ж кількість стабільного радикала ДФПГ як 125,44 мг аскорбінової кислоти, а 1 г гіматомеланових кислот відповідно 34,94 г аскорбінової кислоти. Кінетичні експерименти продемонстрували, що представлений в даній роботі метод застосуємо для аналізу антирадикальної активності гумінових речовин.

Ключові слова: антирадикальна активність, гумінові кислоти, гіматомеланові кислоти, аскорбінова кислота, ДФПГ.

V.A. Berezhnoy, O.V. Smirnova, I.V. Efimova, S.L. Khil'ko ANTIRADICAL ACTIVITY DETERMINATION OF LOW-TEMPERATURE FRACTION OF HUMIC AND HIMATOMELANIC ACID IN DIMETHYLSULFOXIDE SOLUTION

Humic and himatomelanic acids are natural compounds. They are a complex organic structure with condensed aromatic rings and have side chains of varying degrees of branching. The structure of humic and himatomelanic acids are hydrophilic functional groups: carboxyl, hydroxyl, amino groups. The presence of these functional groups in the macromolecular structure determines the biological activity of humic substances and involves their ability to antioxidant action. However, detailed studies of the properties of humic substances in the literature. The aim was to study antiradical activity of humic and himatomelanic acids.

One way to assess the anti-radical activity is a colorimetric investigation of free radicals, based on the reaction of the stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) with sample antioxidant. Purple-blue colour of solution pales by antioxidant reduction of DPPH, and the reaction is controlled by the change in optical density of the conventional methods of spectrophotometry. The literature describes many methods for determination of the antiradical activity of low molecular weight antioxidants and their mixtures in various natural extracts, but the precise method to determine the antiradical activity of macromolecular compounds are not developed. In this paper, antiradical activity humic and himatomelanic acids in DMSO studied by analogy with plant extracts.

In this paper we study the interaction of free radical DPPH with low-temperature fractions of humic and himatomelanic acids in DMSO. Parameter ECR_{50} , which characterizes the antiradical activity of substances, found for humic and himatomelanic acids of 5.53 and 16.39 respectively. Shown that humic acids have a more pronounced antiradical properties than himatomelanic acids. Antiradical activity of humic substances increases with the keeping of humic and himatomelanic acids in solution. Set amount of ascorbic acid equivalent concentration of studied humic substances. Calculated that 1 g of humic acid restores the same amount of stable radical DPPH on 20 minutes of interaction as 125.44 mg of ascorbic acid and 1 g himatomelanic acids respectively 34.94 g of ascorbic acid. Kinetic experiments demonstrated that presented in this paper the method used to analyze the anti-radical activity of humic substances.

Keywords: antiradical activity, humic acids, himatomelanic acids, ascorbic acid, DPPH.

Бережной Валентин Сергеевич – аспирант, Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко Национальной Академии наук Украины, Донецк, Украина, e-mail: valegdn@gmail.com.

Смирнова Ольга Владимировна – младший научный сотрудник, Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко Национальной Академии наук Украины, Донецк, Украина, e-mail: osmirnova@gmail.com.

Ефимова Ирина Владиславовна – канд. хим. наук, ст.науч.сотр., Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко Национальной Академии наук Украины, Донецк, Украина, e-mail: irusja.efimova@yandex.ua.

Хилько Светлана Леонидовна – канд.хим.наук, ст.науч.сотр., Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко Национальной Академии наук Украины, Донецк, Украина, e-mail: sv-hilko@yandex.ru.

УДК 667.637.4:699.81

Н.А.Таран, канд.хим.наук (Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М.Литвиненко НАН Украины)

**ВЛИЯНИЕ ОКСИДОВ И ГИДРОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ И ИХ
НАНОРАЗМЕРНЫХ АНАЛОГОВ НА ОГНЕЗАЩИТНУЮ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ИНТУМЕСЦЕНТНОЙ ПОЛИМЕРНОЙ КОМПОЗИЦИИ**

Исследованы интумесцентные композиции состава полифосфат аммония (ПАФ) / пентаэритрит (ПЭ) / меламина (МА) / сополимер винилацетата и этилена (ЭВА) с широким варьированием добавок оксидов, гидроксидов металлов и их наноразмерных аналогов. Выполнен сравнительный анализ влияния этих антипиренов на процессы формирования полимерного коксового слоя в интервале температур 200-600°C. Показано, что наиболее