

УДК 547.992:615838.7:616-073.584

ПРИРОДА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

© 2012 Н.П. Аввакумова, М.А. Кривопалова, А.В. Жданова, М.Н. Глубокова,
И.В. Фомин, Е.Е. Катунина

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 14.05.2012

Проведен обзор современных классификаций и способов описания молекулярной структуры природных биополимеров – гуминовых веществ, и дана сравнительная характеристика ИК-спектров, гидрофильно-гидрофобных свойств гумусовых кислот почв и гумусовых кислот низкоминерализованных иловых сульфидных грязей. Гумусовые кислоты различного генеза делят на гуминовые и фульвовые кислоты, относительное содержание которых зависит от условий гумификации: температурного режима, степени гидроморфизма и аэробности, окислительно-восстановительных свойств среды. В составе гумусовых кислот пелоидов, сформированных в анаэробных условиях максимальной увлажненности восстановительной среды, выделяют три основные фракции гуминовые, фульвовые и гиматомелановые кислоты, отличающиеся по функционально-групповому составу. Выявлены особенности строения гумусовых кислот пелоидов, характеризующихся пониженным значением молярным масс и степени ароматичности с одновременным увеличением доли ненасыщенных и хиноидных структур.

Ключевые слова: *гумусовые кислоты, пелоиды, гуминовые кислоты, фульвовые кислоты, гиматомелановые кислоты, ароматичность, функциональные группы, спектроскопия, амфифильность*

Возрастающая антропогенная нагрузка на биосферу обусловила изыскание способов регулирования нарушенного равновесия в экосистемах. В решении этой проблемы значимую роль приобретает протекторная биосферная функция специфических органических (гуминовых) веществ. Гуминовые вещества, присутствующие во всех природных средах планеты, образуют жизненный фон человечества [1]; при этом они способны поглощать экотоксиканты различной структуры: пестициды, тяжелые металлы, радионуклиды [2]. Защитная функция гуминовых веществ в условиях химического стресса

обеспечивается их полигетерофункциональностью. Формирование данного класса природных соединений в значительной мере зависит от внешних условий: температурного режима, степени гидроморфизма и аэробности, окислительно-восстановительных свойств среды. Главным компонентом пула гуминовых веществ являются гумусовые кислоты. В литературе имеется значительное количество работ, посвященных исследованию функционально-группового состава гумусовых кислот различного вида почв, в то время как специфические органические вещества лечебных грязей изучены в меньшей степени. Все гумусовые кислоты являются соединениями нестехиометрического состава и обладают стохастическим характером структуры, представляющей собой макромолекулы нерегулярного строения и различной степени разветвленности. Структура гумусовых кислот почв в виде блок-схем [3] представляет собой часть макромолекулы, содержащей все основные структурные фрагменты, с выделением негидролизующей части молекулы и гидролизующей периферии. Негидролизующая часть макромолекул представляется в виде ядра в состав которого входят ароматические кольца, хиноны, кислород- и азотсодержащие гетероциклы, включающие гидроксильные, карбонильные и карбоксильные группы. Ядро биополимера является конденсированной ароматической структурой, образующей сильно развитую непрерывную цепь сопряженных двойных связей. Периферическая часть

Аввакумова Надежда Петровна, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей, бионеорганической и биоорганической химии

Кривопалова Мария Ариевна, кандидат химических наук, доцент кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии. E-mail: samchety@yandex.ru

Жданова Алина Валитовна, кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии

Глубокова Мария Николаевна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии

Фомин Игорь Викторович, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии

Катунина Елена Евгеньевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии

макромолекул представлена алифатическими цепями углеводного и полипептидного типа. Таким образом, по своей химической природе гумусовые кислоты представляют собой нерегулярные сополимеры ароматических гидроксиполикарбоновых кислот с включениями азотсодержащих и углеводных фрагментов [3]. Фундаментальными свойствами гумусовых кислот являются их полидисперсность, полимолекулярность, гетерогенность и присутствие в составе карбоксильных, карбонильных групп различной этиологии, спиртовых и фенольных заместителей, а также amino- и тиогрупп.

Классификация гуминовых веществ основана на их различной растворимости в кислотах и щелочах [1]. Их подразделяют на следующие фракции: фульвовые, гиматомелановые, гуминовые, гумусовые кислоты и гумин, представляющий собой конгломерат сложных эфиров кислот и их органоминеральных сорбционных комплексов с глинистыми минералами, нерастворимый в большинстве растворителей. Гуминовые кислоты пелоидов нерастворимы при кислотности водных растворов меньше 2 единиц pH; в растворенном состоянии имеют темно-бурую окраску, в сухом – черный блестящий порошок или чешуйки. Гиматомелановые кислоты являются спирторастворимой фракцией и их отличительной особенностью по сравнению с другими

фракциями гуминовых веществ являются высокое атомное отношение Н/С, составляющее более единицы, высокая отрицательная степень окисленности, низкие коэффициенты экстинкции, высокая интенсивность полосы 1700-1720 см⁻¹ в инфракрасных спектрах, характеризующая наличие карбоксилат-аниона, сопряженного с ненасыщенным фрагментом [4]. Фульвовые кислоты растворимы во всем диапазоне кислотности среды, имеют переменную окраску. От гуминовых и гиматомелановых кислот они отличаются большей окисленностью и меньшим содержанием углерода, а также большей гидрофильностью. Особенностью строения фульвовых кислот является обогащенность их структуры, в большей степени алифатическими фрагментами, а также присутствием значительного количества карбоксильных групп, определяющими их кислотную природу, и наличием азота в структуре (pKa = 2). Они характеризуются более низкими молекулярными массами по сравнению с другими фракциями. В нативных образцах пелоидов эти фракции представлены в виде гумусовых кислот, причем образец, полученный путем механического смешивания фракций после выделения, не обладает тем набором свойств, который характеризует гумусовые кислоты.

Таблица. Относительное содержание гидрофобных и гидрофильных фрагментов в гумусовых веществах фракции, % гидрофобности

Фракция	1	2	Гидрофильность, %	3	4	5	6	Гидрофобность, %
фульвокислоты (пелоиды)	82,42	6,04	88,46	-	6,05	5,49	-	11,54
гиматомелановые кислоты (пелоиды)	23,35	23,35	46,70	17,94	28,30	4,14	2,93	53,30
гуминовые кислоты (пелоиды)	9,30	17,04	26,34	35,79	33,59	2,43	1,85	73,65
гумусовые кислоты (пелоиды)	23,66	13,35	37,01	20,70	32,14	7,19	2,96	62,98
гумусовые кислоты (Merck)	18,24	22,12	40,36	29,22	25,59	2,97	1,86	59,64
гумусовые кислоты почв (0-5 см)	25,00	21,00	46,00	5,00	19,00	6,00	24,0	54,00
гумусовые кислоты почв (58-70 см)	20,00	17,00	37,00	4,00	8,00	19,0	13,0	63,00

Среди биологических структур широко представлено амфифильное взаимодействие. Установлено, что в биосфере большинство органических загрязнителей и тяжелые металлы избирательно взаимодействуют с гумусовыми кислотами [5], гидрофильные компоненты которых обуславливают миграцию органических и минеральных веществ в биосистемах, в то

время как малоподвижные гидрофобные фракции способствуют связыванию и иммобилизации экотоксикантов. Полученные нами данные выявляют однотипность фракционного состава гумусовых кислот почв и пелоидов (таблица). Гумусовые кислоты представлены шестью пиками по выраженности гидрофильно-гидрофобных компонентов. Исключение составляют

фульвокислоты, в которых обнаружены только 4 фракции. Изложенное подтверждает генетическую однотипность структуры всех гумусовых кислот.

Индивидуальность отдельных компонентов гумусовых кислот заключается в количественном варьировании фракций. Наиболее богаты гидрофильными структурами фульвокислоты, что объясняет их лучшую растворимость при различных значениях pH среды. В целом доля гидрофобных компонентов в составе гумусовых кислот пелоидов возрастает от 11,54% до 73,6% в фульвовых и гуминовых кислотах соответственно (таблица). При сравнении амфифильных свойств специфических органических веществ пелоидов и почв обращает на себя внимание факт существенного различия фракционного состава поверхностного слоя и высокая идентичность глубинных образцов. Это свидетельствует об общности биогеохимических объектов, которое, на наш взгляд, обусловлено анаэробными условиями формирования гумусовых кислот глубинных слоев почв и пелоидов.

Спектральный анализ дает информацию о структурно-групповом составе биополимеров. В ИК-спектрах гумусовых кислот пелоидов выявлены общие полосы, характерные для гуминовых веществ различных природных объектов [4]. В области 1370-1460 см^{-1} обнаружены полосы алифатических фрагментов, в области 1640 см^{-1} – полосы карбоксилат-ионов. Интенсивный пик в интервале частот 1700-1720 см^{-1} соответствует карбонильной группе. Максимальная интенсивность полос поглощения в спектрах фракций гуминовых веществ пелоидов отмечена для гидроксильных, карбонильных и карбоксильных групп, а также для алифатических фрагментов. Интенсивное поглощение в области 3400 и 3200 см^{-1} может быть обусловлено присутствием первичных амидов, которое проявляется за счет C=O колебаний карбонила амидной группы O=C-N. Это свидетельствует о сохранности в молекулах гуминовых кислот отдельных фрагментов протеинов. Помимо первичных амидов, поглощение в этой области указывает на присутствие хиноидных связей, кетонных, карбоксильных и карбонильных групп. Валентные колебания двойных связей атомов ароматического скелета смещено в коротковолновую область, что предполагает, по-видимому, наличие многоядерных структур. Сравнительная характеристика инфракрасных спектров гуминовых веществ, полученных из пелоидов и других источников, показывает, что они имеют близкое молекулярное строение. Различия в ИК-спектрах гуминовых веществ обусловлено условиями их формирования и способом выделения и связано, по-видимому, со степенью ненасыщенности,

конденсированности и различным количественным соотношением функциональных групп.

В спектре ЯМР ^1H гуминовых кислот наблюдаются типичные для данной фракции сигналы насыщенных алифатических групп в области 0,6-1,7 м.д., а также сигналы аллильных протонов, метиленовых групп, связанных с двойными связями с ароматической структурой фрагментов в области 1,8-2,8 м.д. Протоны карбинольных групп (OCH₃, OCH₂) характеризуются серией пиков с химическим сдвигом в диапазоне 3,0-4,1 м.д. Протоны ароматических колец наблюдаются в спектре в области 6-9 м.д. Пики протонов карбоксильных групп гуминовых кислот регистрируются при 4,7 м.д. Сравнение интегральной интенсивности сигналов спектра гуминовых кислот показывает более высокое содержание протонов ароматических фрагментов соединения по сравнению с долей алифатических протонов. Это может свидетельствовать о преобладающей ароматической структуре гуминовых кислот пелоидов, включающей определенное количество линейных и разветвленных углеводородных радикалов.

Анализ молекулярной структуры гуминовых веществ пелоидов показал, что их макромолекулы состоят из каркасных олефиновых и ароматических фрагментов со значительной долей неокисленных алифатических группировок. Олефиновые C=C-связи в макромолекулах сопряжены с O- и N-содержащими группами. Качественное сравнение относительной интенсивности полос пропускания спектров позволяет утверждать, что в фульвовых кислотах преобладают алифатические цепочки с большим количеством спиртовых групп типа углеводов, а гуминовые кислоты содержит сопряженные ароматические структуры со значительным содержанием карбоксильных групп. Гиматомелановые кислоты, по сравнению с гуминовыми и фульвовыми можно отнести к наиболее ненасыщенной фракции, содержащей наибольшее количество ненасыщенных фрагментов алифатического и ароматического характера. Указанные особенности строения показывают генетическую связь гумусовых кислот почв и пелоидов. Особенности условий формирования пелоидов определяют их меньшую молярную массу и степень ароматичности. По видимому, можно утверждать, что гумусовые кислоты пелоидов имеют более выраженный ненасыщенный характер по сравнению с аналогичными компонентами почв.

Вывод: именно многопрофильность функциональных групп обуславливает активное участие компонентов гумусовых кислот в глобальных биохимических процессах по сохранению экологического равновесия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Орлов, Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. Монография. – М.: Наука, 1993. 325 с.
2. Буряк, А.К. Определение приоритетных экотоксикантов органической и минеральной природы в пеллоидах Самарского региона / А.К. Буряк, Н.П. Аввакумова // Сборник научных трудов «Гуминовые вещества в биосфере». – М., 2004. С. 149-153.
3. Чуков, С.Н. Структурно-функциональные параметры органического вещества почв в условиях антропогенного воздействия. Монография. – СПб., 2007. 166 с.
4. Аввакумова, Н.П. Некоторые особенности функционально-группового состава гумусовых кислот пеллоидов / Н.П. Аввакумова, М.А. Кривопалова, И.В. Фомин, А.В. Жданова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2010. №11. С. 24-27.
5. Орлов, Д.С. Гуминовые вещества в биосфере // Соросовский образовательный журнал. 1997. №2. С. 56-63.

NATURE OF THE PROTECTIVE ACTION OF HUMIC SUBSTANCES OF THE VARIOUS GENESIS

© 2012 N.P. Avvakumova, M.A. Krivopalova, A.V. Zhdanov, M.N. Glubokova,
I.V. Fomin, E.E. Katunina

Samara State Medical University

The review of modern classifications and ways of description the molecular structure of natural biopolymers – humin substances is carried out, and comparative characteristic IR-spectors, hydrophilic and hydrophobic properties of humic acids of soils and humic acids of low-mineralized silt sulphidic dirt is given. Humic acids of a various genesis divide into humic and fulvic acids which abundance depends on humification conditions: temperature regime, degree of hydromorphism and aerobness, oxidation-reduction properties of the environment. As a part of peloids humic acids, created in anaerobic conditions of the maximal moisture content of the reduction environment, allocate three main fractions the humic, fulvic and gimatomelanic acids differing on function group structure. Features of humic peloids acids structure, being characterized by the under value molar masses and fragrance degree with simultaneous increase in share of unsaturated and quinoid structures are revealed.

Key words: *humus acids, peloids, humic acids, fulvic acids, gimatomelanic acids, fragrance, functional groups, spectroscopy, amphiphility*

Nadezhda Avvakumova, Doctor of Biology, Professor, Head of the Department of Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry

Mariya Krivopalova, Candidate of Chemistry, Associate Professor at the Department of Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry E-mail: samchemistry@yandex.ru

Alina Zhdanova, Candidate of Pharmacy, Assistant at the Department of Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry

Mariya Glubokova, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer at the Department of Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry

Igor Fomin, Cnadidate of Biology, Senior Lecturer at the Department of Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry

Elena Katunina, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Common, Biononorganic and Bioorganic Chemistry