

## ДІЯ ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНИХ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ - ГУМІНОВИХ ТА ГІМАТОМЕЛАНОВИХ КИСЛОТ НА ПРОЦЕС РАДИКАЛЬНО-ЛАНЦЮГОВОГО ОКИСНЕННЯ

Єфімова І.В., Смирнова О.В.

Інститут Фізико-Органічної Хімії і Вуглехімії ім. Л.М.Литвиненка НАН України, Відділ хімії вугілля,  
м. Київ, Україна, e-mail: [o.v.smirnova@nas.gov.ua](mailto:o.v.smirnova@nas.gov.ua)

---

В даний час швидко зростає кількість природних речовин, для яких виявлено антиоксидантна активність. Пошук нових джерел дешевої і доступної сировини для отримання ефективних природних антиоксидантів для медичних цілей, рідких палив, технічних мастил, а також для харчових продуктів є актуальним завданням. Відомо, що гумінові кислоти (ГК) і гіматомеланові кислоти (ГМК) з торфу і бурого вугілля мають виражену біологічну активність, яка пов'язана з їх вираженою спорідненістю до біологічних мембран, участю в іонному транспорті, впливом на активність ферментів. Антиоксидантна активність є одним з фармакологічних тестів для біологічно-активних речовин, і наявність активних кислих груп (-COOH, -OH) в макромолекулах ГК і ГМК передбачає здатність цих речовин до антиоксидантної дії. Однак детальних досліджень цих властивостей гумінових речовин в літературі немає. З метою вивчення дії гумінових речовин в процесах радикально-ланцюгового окиснення нами досліджено окиснення декількох органічних субстратів в присутності ГК і ГМК. Показано, що додаванням гумінових речовин викликано гальмування процесу окиснення кумолу і етилбензолу. Спостережуваний ефект посилюється зі збільшенням концентрації ГК і ГМК. Таким чином, гумінові і гіматомеланові кислоти є ефективними інгібіторами радикально-ланцюгового окиснення вуглеводнів, тобто проявляють виражені антиоксидантні властивості. Також доведено, що присутність ГК і ГМК обумовлює прискорення окиснення аскорбінової кислоти і спостережуваний ефект посилюється зі збільшенням концентрації гумінових речовин. Таким чином, ГК і ГМК в даному випадку виявляють виражені прооксидантну дію. Виявлені виборчі антиоксидантні і прооксидантні властивості гумінових речовин з бурого вугілля відкривають широкі можливості для застосування ГК і ГМК в якості нових класів антиоксидантів для технічних цілей, медицини і фармацевтики.

Кл

**ючові слова:** радикально-ланцюгове окиснення, антиоксиданти, гумінові кислоти, гіматомеланові кислоти, аскорбінова кислота.

## POLYFUNCTIONAL NATURAL ANTIOXIDANTS - HUMIC AND HIMATOMELANE ACIDS ACTION ON THE RADICAL CHAIN OXIDATION PROCESS

Efimova I. V., Smirnova O.V.

L.M. Litvinenko Institute of Physical-Organic Chemistry and Coal Chemistry of the NAS of Ukraine,  
Department of coal chemistry, Kyiv, Ukraine, e-mail: [o.v.smirnova@nas.gov.ua](mailto:o.v.smirnova@nas.gov.ua)

---

At present, the number of natural substances for which an antioxidant activity have been revealed is rapidly growing. A search for new sources of inexpensive and readily available raw materials for manufacture of effective natural antioxidants for medicinal purposes, liquid fuels, technical oils and lubricants, and food products is a topical task. It is known that humic acids (HAs) and himatomelanic acids (HmAs) produced from peats and brown coal exhibit a pronounced biological activity, which is due to the pronounced affinity of humic acids for biological membranes, involvement of the acids in the ion transport, and their effect on the activity of enzymes. The antioxidant activity is one of pharmaceutical tests for biologically active substances, and the presence of active acid groups (-COOH, -OH) in macromolecules of HAs and HmAs assumes that these substances are capable of an antioxidant effect. However, no detailed studies of these properties of humic acids and himatomelanic acids have been reported in the literature. In order to study the effect of humic substances in the processes of radical-chain oxidation, we investigated the oxidation of several organic substrates in the presence of HAs and HmAs. It was shown that the addition of humic substances inhibited the process of oxidation of cumene and ethylbenzene, and

the observed effect increases with increasing concentration of HAs and HmAs. Thus, HAs and HmAs are effective inhibitors of radical-chain oxidation of hydrocarbons, i.e. exhibit antioxidant properties. It is also proven that the presence of HAs and HmAs causes the acceleration of the oxidation of ascorbic acid and the observed effect increases with increasing concentration of humic substances. Thus, HAs and HmAs in this case exhibit pronounced prooxidant effect. The found selective antioxidant and prooxidant properties of humic substances from brown coal opens up wide possibilities for using HAs and HmAs as new classes of antioxidants for technical purposes, medicine and pharmaceuticals.

---

**Key words:** radical-chain oxidation, antioxidants, humic acid, himatomelanic acid, ascorbic acid.

## **ДЕЙСТВИЕ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ - ГУМИНОВЫХ И ГИМАТОМЕЛАНОВЫХ КИСЛОТ НА ПРОЦЕСС РАДИКАЛЬНО-ЦЕПНОГО ОКИСЛЕНИЯ**

**Ефимова И.В., Смирнова О.В.**

Институт Физико-Органической Химии и Углекислотной Химии им. Л.М. Литвиненко НАН Украины, Отдел химии угля, г. Киев, Украина, e-mail: o.v.smirnova@nas.gov.ua

---

**В**

настоящее время быстро растет количество природных веществ, для которых выявлена антиоксидантная активность. Поиск новых источников дешевого и доступного сырья для получения эффективных природных антиоксидантов для медицинских целей, жидких топлив, технических масел и смазок, а также для пищевых продуктов является актуальной задачей. Известно, что гуминовые кислоты (ГК) и гиматомелановые кислоты (ГмК) из торфа и бурого угля обладают выраженной биологической активностью, которая связана с их выраженным сродством к биологическим мембранам, участием в ионном транспорте, влиянием на активность ферментов. Антиоксидантная активность является одним из фармакологических тестов для биологически-активных веществ, и наличие активных кислых групп (-COOH, -OH) в макромолекулах ГК и ГмК предполагает способность этих веществ к антиоксидантному действию. Однако детальных исследований этих свойств гуминовых веществ в литературе нет. С целью изучения действия гуминовых веществ в процессах радикально-цепного окисления нами исследовано окисление нескольких органических субстратов в присутствии ГК и ГмК. Показано, что добавление гуминовых веществ вызывает торможение процесса окисления кумола и этилбензола, причем наблюдаемый эффект усиливается с увеличением концентрации ГК и ГмК. Таким образом, гуминовые и гиматомелановые кислоты являются эффективными ингибиторами радикально-цепного окисления углеводов, т.е. проявляют выраженные антиоксидантные свойства. Также доказано, что присутствие ГК и ГмК обуславливает ускорение окисления аскорбиновой кислоты и наблюдаемый эффект усиливается с увеличением концентрации гуминовых веществ. Таким образом, ГК и ГмК в данном случае проявляют выраженное прооксидантное действие. Обнаруженные избирательные антиоксидантные и прооксидантные свойства гуминовых веществ из бурого угля открывает широкие возможности для применения ГК и ГмК в качестве новых классов антиоксидантов для технических целей, медицины и фармацевтики.

---

**Ключевые слова:** радикально-цепное окисление, антиоксиданты, гуминовые кислоты, гиматомелановые кислоты, аскорбиновая кислота.

Среди современных ингибиторов свободно-радикального окисления органических и биоорганических субстратов ведущие позиции занимают антиоксиданты фенольного типа. Однако перспективы их дальнейшего использования за счет расширения ассортимента алкилирования фенолов или получения смесей с выраженным эффектом синергизма достигли теоретического предела и не подходят потребителю в силу специфического действия [1]. Значительные резервы дальнейшего повышения эффективности в применении антиоксидантов для различных задач промышленности и медицины связаны с поиском природных полифункциональных (гибридных) антиоксидантов, молекулы которых содержат

несколько реакционных центров, способных нетоксически ингибировать окислительные процессы по различным механизмам.

Уникальными объектами для решения подобного плана задач могут служить гуминовые вещества. Они являются одной из наиболее химически активных частей бурого угля, торфа, почвенного гумуса, сланцев и донных отложений (сапропелей) [2]. Образование гуминовых веществ представляет собой второй по масштабности после фотосинтеза процесс трансформации органического вещества в природе, при этом гуминовые вещества выступают как устойчивая форма органических соединений углерода вне живых организмов [3]. В настоящее время гуминовые вещества признаны одним из перспективных направлений «зеленой» химии как доступный и дешевый источник сырья для получения химически важных продуктов [4]. Высокая биологическая активность гуминовых веществ связана с их выраженным сродством к биологическим мембранам, участием в ионном транспорте, влиянием на активность ферментов и др. [5, 6].

Одной из составляющих гуминовых веществ являются гуминовые кислоты - фракция, растворимая в щелочах и нерастворимая в кислотах, гиматомелановые кислоты, в свою очередь, являются спирторастворимой фракцией гуминовых кислот. Гуминовые и гиматомелановые кислоты - это природные соединения, которые представляют собой сложную смесь органических веществ с конденсированными ароматическими ядрами, имеющими боковые цепи различной степени разветвления (рис. 1).

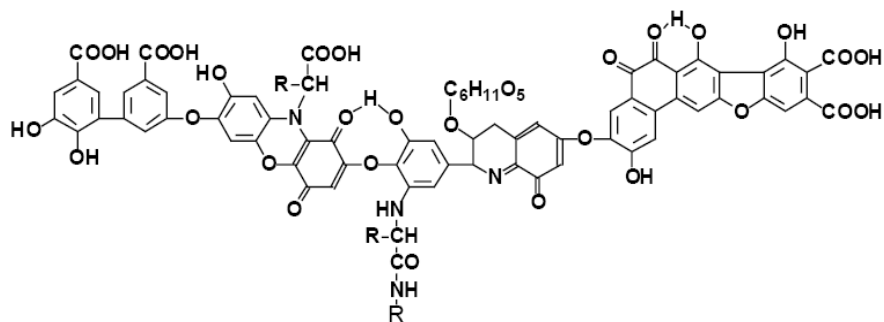


Рисунок 1. Схема строения периферической части макромолекулы гуминовой кислоты по Stevenson F.J.

В состав макромолекул этих соединений входят различные гидрофильные функциональные группы: карбоксильные, гидроксильные, хиноидные, аминогруппы [7]. Наличие этих функциональных групп в структуре макромолекул обуславливает биологическую активность гуминовых кислот и предполагает их способность к антиоксидантному действию. Однако детальных исследований этих свойств гуминовых веществ в литературе нет.

**Цель данной работы:** исследование антиоксидантной активности гуминовых и гиматомелановых кислот из бурого угля в процессах радикально-цепного окисления модельных углеводов.

#### **Материал и методы исследования.**

Изучено поведение гуминовых (ГК) и гиматомелановых (ГМК) кислот в процессе радикально-цепного окисления двух модельных систем. В качестве первой модельной системы использовали инициированное азодиизобутиронитрилом (АИБН) жидкофазное окисление кумола (ИПБ) в среде диметилсульфоксида (ДМСО). Концентрация кумола в исследуемой системе составляла 3,59 моль/л, АИБН –  $2,00 \cdot 10^{-2}$  моль/л. А также в качестве второй модельной системы использовали инициированное азодиизобутиронитрилом (АИБН) жидкофазное окисление аскорбиновой кислоты (АК) в среде хлорбензола (ХБ) и диметилсульфоксида (ДМСО), взятых в соотношении 1:1. Концентрация АК в исследуемой системе составляла 0,24 моль/л, так как скорость окисления такого количества АК в смеси ХБ и ДМСО сопоставима со скоростью окисления кумола в ДМСО, АИБН –  $2,00 \cdot 10^{-2}$  моль/л. Концентрация гуминовых веществ варьировалась в широком диапазоне 0–10,0 г/л.

За кинетикой процесса окисления следили газовольюмометрически, измеряя количество поглощенного кислорода при постоянной температуре 348 К и постоянном парциальном давлении кислорода 760 мм. рт. ст. на установке, описанной в [8]. Изучение процесса проводилось в кинетической области, где скорость реакции не зависит от скорости перемешивания. В работе использовались азодиизобутиронитрил (АИБН), хлорбензол, кумол, диметилсульфоксид (ДМСО), очищенные по методикам, описанным в [9] и аскорбиновая кислота (АК) с удельным вращением  $+ 20,9 \pm 0,4$ . Гиматомелановые (ГМК) и гуминовые (ГК) кислоты получали из аналитической пробы бурого угля Александрийского месторождения (Украина), согласно [10]. Средняя молекулярная масса полученных образцов  $\sim 20000$  [11].

#### **Результаты исследования.**

С целью изучения действия гуминовых веществ в процессах радикально-цепного окисления нами исследовано окисление кумола в среде ДМСО в присутствии ГК и ГМК. Для определения характера влияния ГК и ГМК на окисление АК и корректного сопоставления с кинетическими параметрами окисления ИПБ, была исследована система, в которой кумол заменен на инертный к окислению ХБ, при этом сохранилось соотношение реагентов и растворителя. На рис. 2 показаны кинетические кривые поглощения кислорода системами АИБН – ИПБ – ДМСО и АИБН – АК – ХБ – ДМСО, содержащими одинаковое количество изучаемых гуминовых веществ.

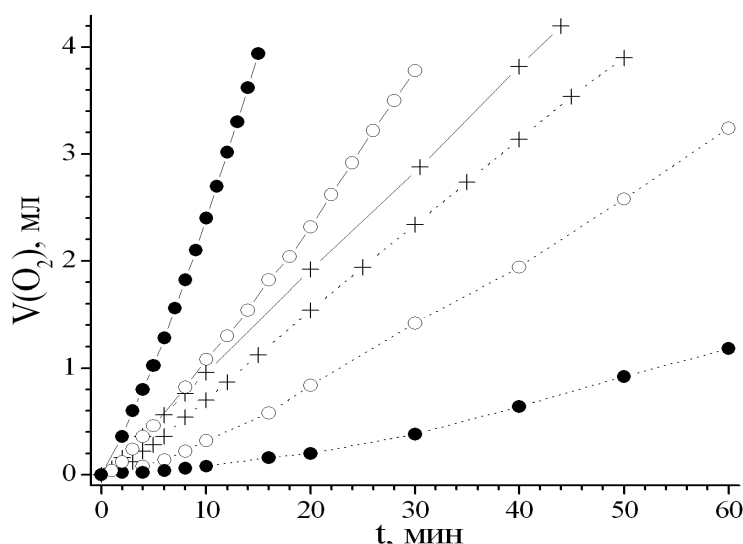


Рисунок 2. Кинетические кривые поглощения кислорода системами с разными модельными субстратами: (---) - Ку, (—) – АК; в присутствии гуминовых веществ: (○) - ГмК; (●) – ГК; (+) – без добавок. [АИБН] =  $2,00 \cdot 10^{-2}$  моль/л, [ИПБ] = 3,59 моль/л, [АК] = 0,24 моль/л, [ГК] = [ГмК] = 1,00 г/л.

Как видно из рис. 2, системы АИБН – ИПБ – ДМСО и АИБН – АК – ХБ – ДМСО окисляются с сопоставимыми скоростями. При добавлении к системе с кумолом 1,00 г/л ГмК наблюдается понижение скорости окисления ИПБ, а при введении такого же количества ГмК в систему с АК зафиксировали увеличение скорости поглощения кислорода данной системой. При замене ГмК на ГК наблюдалась аналогичная тенденция. В табл. 1 представлены значения скорости поглощения кислорода системами АИБН – ИПБ – ДМСО и АИБН – АК – ХБ – ДМСО в присутствии одинакового количества ГК и ГмК. [АИБН] =  $2,00 \cdot 10^{-2}$  моль/л, [ИПБ] = 3,59 моль/л, [АК] = 0,24 моль/л, [ГК] = [ГмК] = 1,00 г/л.

Таблица 1. Значения скорости поглощения кислорода  $W_{[O]}$  системами в присутствии гуминовых веществ.

Гуминовое вещество	$W_{[O]} \cdot 10^6$ , моль/(л·с)	
	АК	Ку
-	2,93	2,76
ГК	7,37	1,72
ГмК	4,95	1,90

Присутствием гуминовых веществ обусловлено понижение скорости поглощения кислорода системой АИБН – ИПБ – ГК – ДМСО. Значит, ГК и ГмК являются ингибиторами радикально-цепного окисления кумола и, тем самым, проявляют антиоксидантные свойства.

В то же время добавление ГМК и ГК к окисляемой смеси АИБН – АК – ХБ – ДМСО приводит к увеличению скорости поглощения кислорода. Значит, ГК и ГМК проявляют свойства, ускоряющие окисление АК. Экспериментально показано, что в данных условиях исследуемые гуминовые вещества не окисляются.

Как показано на рис. 3, с увеличением концентрации гуминовых веществ в системе АИБН – ИПБ – ДМСО наблюдается уменьшение скорости поглощения кислорода. Следует отметить, что замена кумола на этилбензол не меняет характера протекания процесса. С увеличением концентрации ГМК в системе АИБН – АК – ХБ – ДМСО до 4,00 г/л скорость поглощения кислорода увеличивается, при дальнейшем увеличении количества ГМК скорость поглощения кислорода исследуемой системой не меняется. Введение ГК в количестве до 2,00 г/л в систему АИБН – АК – ХБ – ДМСО приводит к стремительному росту скорости поглощения кислорода, по сравнению с ГМК. Дальнейшее увеличение концентрации ГК (2,00-10,00 г/л) в системе приводит к постепенному понижению скорости поглощения кислорода. При концентрации ГК выше 2,00 г/л исследуемая система переходит в гетерофазные условия протекания процесса, что и приводит к понижению скорости окисления АК.

Влияние гуминовых веществ на процесс окисления модельных субстратов продемонстрировано зависимостью скорости окисления ИПБ и АК от концентрации ГК и ГМК в реакционной смеси. Доказано, что гуминовые вещества проявляют избирательные свойства, замедляющие или ускоряющие процессы радикально-цепного окисления в зависимости от природы окисляющегося субстрата.

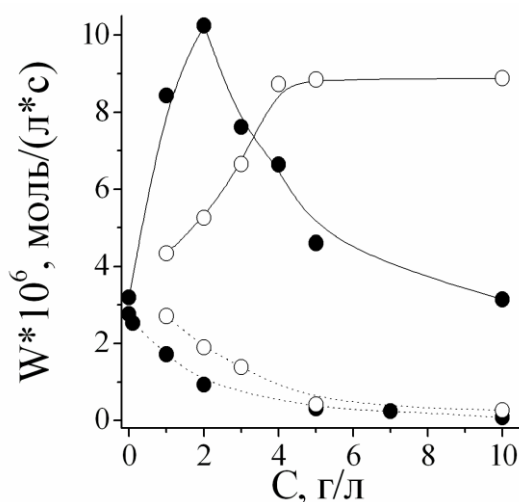


Рисунок 3. Зависимость скорости поглощения кислорода  $W_{[O]}$  системами с разными окисляемыми субстратами: (---) - ИПБ, (-) - АК; от концентрации  $C$  гуминовых веществ: (○) - ГМК, (●) - ГК.  $[АИБН] = 2,00 \cdot 10^{-2}$  моль/л,  $[ИПБ] = 3,59$  моль/л,  $[АК] = 0,24$  моль/л.

Исходя из полученных кинетических параметров, были рассчитаны значения антиокислительной активности (АОА) ГК и ГМК и коэффициента ускорения окисления (КУО)

в присутствии ГК и ГМК в радикально-цепных процессах окисления модельных субстратов по уравнениям:

$$AOA = W_{[O]}^* / W_{[O]} \quad (1)$$

$$КУО = W_{[O]} / W_{[O]}^* \quad (2)$$

где  $W_{[O]}^*$  – скорости поглощения кислорода системой без гуминовых веществ, моль/(л·с);  $W_{[O]}$  – скорость поглощения кислорода системой с гуминовыми веществами, моль/(л·с).

Показано, что значения АОА и КУО гуминовых веществ увеличиваются с ростом концентрации ГК и ГМК в исследуемых системах (табл. 2).

Таблица 2. Действие гуминовых веществ в реакциях радикально-цепного окисления модельных субстратов.

Содержание ГК или ГМК С, г/л	Антиоксидантная активность		Коэффициент ускорения окисления	
	ГК	ГМК	ГК	ГМК
0,1	1,09	1,02	-	-
1,0	1,60	1,45	2,63	1,36
2,0	2,97	2,00	3,20	1,64
3,0	-	2,12	-	2,08
4,0	-	2,38	-	2,73
	Антиоксидантная эффективность		Эффективность ускорения окисления	
	1,67	0,49	0,57	0,34

Значения антиоксидантной и эффективности ускорения окисления ГК и ГМК определяли как значение тангенса угла наклона начального участка кривых, полученных отношением АОА или КУО к концентрации соответственных гуминовых веществ. Как видно из полученных значений, ГК является наиболее эффективным антиоксидантом в процессах радикально-цепного окисления кумола по сравнению с ГМК и наиболее эффективно ускоряет окисление АК.

### Выводы.

1. Изучено инициированное жидкофазное окисление ИПБ кислородом в присутствии ГК и ГМК из бурого угля. Показано, что добавление гуминовых веществ к исследуемой системе вызывает торможение процесса окисления данного модельного субстрата, причем наблюдаемый эффект усиливается с увеличением концентрации гуминовых веществ. Это значит, что ГК и ГМК являются эффективными ингибиторами радикально-цепного окисления углеводов, т.е. проявляют выраженные антиоксидантные свойства.

2. Добавление гуминовых веществ к системе, содержащей АК, вызывает ускорение процесса поглощения кислорода. Наблюдаемый эффект усиливается с увеличением концентрации ГК и ГМК в системе. Это доказывает, что гуминовые вещества из бурого угля

эффективно ускоряют радикально-цепное окисление АК, т.е. в данном случае проявляют выраженные прооксидантные свойства.

3. Полученные значения эффективности ускорения окисления и антиоксидантной эффективности гуминовых веществ показали, что ГК проявляют наиболее выраженные антиоксидантные и прооксидантные свойства в процессах радикально-цепного окисления субстратов по сравнению с ГМК.

4. Обнаруженные избирательные антиоксидантные и прооксидантные свойства гуминовых веществ из бурого угля открывает широкие возможности для применения ГК и ГМК в качестве новых классов антиоксидантов для технических целей, медицины и фармацевтики.

#### Список литературы.

1. Авакумова Н.П. Исследование антиоксидантных свойств гуминовых кислот пелоидов. / Н.П. Авакумова, М.Н. Глубокова, Е.Е. Катунина // Известия Самарского научного центра. - 2013. - № 1. – С. 1160-1161.
2. Гаврильчик Л.И. Ингибиторы коррозии металла на основе гуминовых кислот торфа / Л.И. Гаврильчик, А.В. Быстрая, В.Л. Соловьев [и др.] // Торфяная промышленность. - 1991. - №8. - С.30-33.
3. Федько И.В. К вопросу об использовании биологически-активных гуминовых веществ в медицине / И.В. Федько, М.В. Гостищева, Р.Р. Исмадова // Химия растительного сырья. - 2005. - № 1. - С. 49-52.
4. Юдина Н.В. Параметры оценки биологической активности органического вещества сапропелей / Н.В. Юдина, С.И. Писарева, В.И. Пынченков, Ю.В. Лоскутова // Химия растительного сырья. - 1998. - №4. - С. 33–38.
5. Nenadis N. Use of Reference Compounds in Antioxidant Activity Assessment / N. Nenadis, O. Lazaridou, M.Z. Tsimidou // J. Agric. Food Chem. - 2007. - Vol.55. - P.5452-5460.
6. Mignone R.A. Modulation of Optical Properties of Dissolved Humic Substances by their Molecular Complexity / R.A. Mignone, M.V. Martin, F.E.M. Vieyra, V.I. Palazzi, B.L. de Mishima, D.O. Martire, C.D. Borsarelli // Photochem. Photobiol. – 2012. - Vol.88. - P.792-800.
7. Жоробекова Ш.Ж. О конформационной изменчивости гуминовых кислот / Ш.Ж. Жоробекова, Г.М. Мальцева // Химия твердого топлива. - 1987. - № 3. – С. 34-37.
8. Эмануэль Н.М. Роль среды в радикально-цепных реакциях окисления органических соединений / Н.М. Эмануэль, Г.Е. Заиков, З.К. Майзус - М.: Наука, 1973. - 379 с.



9. Armarego W.L.F. Purification Of Laboratory Chemicals / W.L.F. Armarego, C.L.L. Chai. - Elsevier Science, 2003. - 608 p.
10. Хилько С.Л. Влияние сильных электролитов на водные растворы Na-солей нативных и сульфированных гуматов натрия / С.Л. Хилько, Е.В. Титов, А.А. Федосеева // Коллоид. Журн. - 2001. – т. 63. - № 5. – С. 706-710.
11. Ребачук М.Н. О молекулярных весах гуминовых кислот / М.Н. Ребачук, Л.С. Степаненко, О.Б. Максимов // Химия твердого топлива. - 1972. - № 2. – С. 10-17.