

Торф и продукты его переработки

УДК 536.66 +543.86

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИПИДОВ ТОРФОВ И САПРОПЕЛЕЙ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

© Н.В. Сизова*, Е.Б. Стрельникова, И.В. Русских

Институт химии нефти СО РАН, пр. Академический, 4, Томск, 634055
(Россия), e-mail: sizovaNV@mail.ru

Методом микрокалориметрии оценена антиоксидантная активность липидов, экстрагированных из торфа и сапропелей Томской, Новосибирской областей и Ханты-Мансийского автономного округа. Присутствие АО в липидах всех исследованных торфов и сапропеле озера Долгого подтверждается наличием периода индукции (950–1400 сек) на кривой тепловыделения и снижением конечной скорости модельной реакции инициированного окисления кумола на 25–90%. По степени торможения реакции окисления определено суммарное количество липидных антиоксидантов, которое изменяется в пределах $(22–183) \cdot 10^{-3}$ моль/кг. Методом хромато-масс-спектрометрии установлена концентрация идентифицированных органических соединений (25–186 мкг/г), в состав которых входят алканы, жирные кислоты, стероиды, терпеноиды, токоферолы, что соотносится с количеством АО в торфе. Применение в работе эффективного экстрагента (хлороформ:метанол) для извлечения липидов из торфов и сапропелей обеспечивает выход большого количества биологически активных соединений с высокой антиоксидантной активностью, которые можно использовать в производстве лечебных препаратов для санаторно-курортного лечения. Показано, что по антиоксидантной активности образцы исследованных торфов располагаются в следующем порядке: сфагнум фускум > пушицевый > низинный древесный > сфагнум фаллак. Максимальной биологической активностью обладают сфагнум фускум торфы, что позволяет рекомендовать их в качестве оптимального сырья для практического применения.

Ключевые слова: липиды торфа, антиоксиданты, хромато-масс-спектрометрия, микрокалориметрия.

Введение

Экстракты торфов и сапропелей обладают лечебными свойствами и востребованы для применения в бальнеологии, растениеводстве, ветеринарии. Биологически активные соединения природного происхождения, проявляющие антиоксидантную активность, одновременно обладают противовирусным, противовоспалительным эффектом, поэтому определяя их количество, можно оценить лечебные свойства экстракта [1].

В Сибирском научно-исследовательском институте сельского хозяйства и торфа (г. Томск) разработаны технологии получения водных экстрактов из торфа, которые применяются в растениеводстве и животноводстве. Например, в настоящее время производится гуминовый стимулятор роста растений «Гумостим» [2, 3]. В Государственном реестре Россельхознадзора зарегистрированы лекарственное средство для животных Энтеросорбент ЭСТ-1 и кормовая добавка Гумитон [4]. Как правило, для более эффективного извлечения биологически активных водорастворимых веществ варьируют рН среды и применяют электростимуляцию [5].

Однако многочисленными исследованиями показано, что основные противовоспалительные, иммуномодулирующие эффекты лечения сапропелями и торфом обусловлены содержанием в них жирорастворимых веществ (липидов). Установлено, что липиды торфа входят в состав малообразованного органического вещества и содержат каротины, фосфолипиды, ненасыщенные жирные кислоты, имеют

высокую противовоспалительную активность, что позволяет их применять как гепатопротекторы [6]. Выход липидов из нативной грязи составляет 0,3–1% и зависит от выбора растворителя, способа экс-

Сизова Наталья Витальевна – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследования, e-mail: sizovaNV@mail.ru

Стрельникова Евгения Борисовна – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории природных превращений нефти, e-mail: seb@ipc.tsc.ru
Русских Ирина Владимировна – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории природных превращений нефти, e-mail: rus@ipc.tsc.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

тракции и пробоподготовки исходного сырья. Фармакологически активные полярные липиды максимально эффективно экстрагируются смесью спирта и хлороформа [7]. Лечебное действие липидов связывают с наличием антиоксидантов (АО) и их способностью гасить цепные реакции перекисидации полиеновых жирных кислот и фосфолипидов клеток [6, 7]. Действительно, в липидах разных видов торфа Томской области установлено высокое содержание антиоксидантов (до 0,6 моль/кг), возможно, вследствие механоактивации исходного сырья [8]. Использование хлорсодержащих органических растворителей для экстракции, хотя и является максимально эффективным, вредно для человека, поэтому развиваются технологии углекислотной, масляной экстракции. Применительно к растительному сырью для экстракции биологически активных веществ можно использовать жирное масло (подсолнечное), но как показано в работе [1], экстракция не является эффективной и имеет свои технологические сложности, например, усиление окисления жирных кислот масла при нагревании. Для донных отложений экстракция маслами и углекислотой не подходит вследствие плотности массы, присутствия песка, земли и прочих тяжелых компонентов.

Определение активности многокомпонентных природных смесей, например, нефтепродуктов, жирных и эфирных масел, углекислотных и масляных экстрактов является сложной задачей, поэтому работы по совершенствованию методик выделения и оценки биологической активности органических веществ (ОВ) природных объектов являются актуальными [9].

Цель данной работы – исследование антиоксидантной активности липидов торфов и сапропелей Томской и Новосибирской областей, Ханты-Мансийского автономного округа методом микрокалориметрии.

Объекты и методы исследования

В работе исследовали липиды торфов и сапропелей Томской (ТО) и Новосибирской областей (НО), Ханты-Мансийского автономного округа (ХМАО). Образцы до анализа в лаборатории хранились в полиэтиленовых пакетах в холодном месте не более 2 суток. Липиды экстрагировали из высушенных образцов раствором метанола (7%) в хлороформе при 60 °С.

Метод хромато-масс-спектрометрии. Органические соединения экстрактов после удаления растворителя идентифицировали с использованием магнитного хромато-масс-спектрометра DFS фирмы «Thermo Scientific» (Германия), предоставленного центром коллективного пользования ТомЦКП СО РАН, в соответствии с [10]. Хроматограммы ОВ регистрировали по общему ионному току (TIC) и характеристическим фрагментным ионам (SIM). Идентификацию индивидуальных органических соединений проводили по электронной библиотеке Национального института стандартов NIST-05, по литературным данным, реконструкцией структур по характеру ионной фрагментации при электронном ударе и времени удерживания. Содержание компонентов определяли по площади соответствующих пиков на хроматограммах с использованием внутреннего стандарта (дейтероаценафтен C₁₂D₁₀).

Метод микрокалориметрии. Суммарное содержание антиоксидантов в исследуемых образцах определяли с использованием микрокалориметра МКДП-2, характеристика и методика измерений описаны в работах [1, 9, 11]. Метод применяется для определения активности как синтезированных антиоксидантов, так и сложных природных смесей. Используемый метод основан на регистрации теплоты, выделяемой в процессе модельной реакции инициированного окисления кумола. Реакцию проводили в присутствии кислорода при $t = 60$ °С, скорости инициирования $w_i = 6.8 \cdot 10^{-8}$ л/моль·с [11]. Погрешность метода для растительных экстрактов составляет 10%.

Результаты и их обсуждение

Оценку антиоксидантной активности липидов исследуемых образцов осуществляли по следующим критериям: продолжительности периода индукции (ингибирования) (τ) модельной реакции, по которому рассчитывали концентрацию антиоксидантов [АО], и снижении скорости реакции ($w_{ок}$). Из всех идентифицированных компонентов растительного сырья только гомологи токоферола обладают структурой пространственно-экранированного фенола и проявляют четко выраженный период индукции модельной реакции [11]. Если на экспериментальной кривой тепловыделения реакции окисления в присутствии объекта исследования не наблюдается выраженного периода индукции, то о наличии ингибиторов в нем может свидетельствовать снижение конечной скорости окисления. Такая методика применена к оценке антиоксидантного действия азуленсодержащих эфирных масел [12].

Наличие АО в липидах всех исследованных торфов и сапропеле озера Долгое вызывает период индукции и снижение конечной скорости модельной реакции окисления. На кривой тепловыделения (рис. 1) в присутствии экстракта пушицевого слаборазложившегося торфа (Болото Темное, ТО) регистрируется период индукции, примерно равный 100 мин, и наблюдается снижение конечной скорости окисления на 25%. Поскольку период индукции для растительных экстрактов точно не определяется из-за сложного состава экстрактивных веществ, рассчитать концентрацию АО в экстрактах торфа и сапропелей удается с погрешностью (см. табл.). Иногда на экспериментальной кривой явно выделяются два периода индукции, что свидетельствует о наличии двух или нескольких АО, сильно отличающихся по активности, что установлено и другими исследователями [7, 8]. Например, в присутствии липидов сфагнум фускум торфа Верхнекетского района ТО фиксируется два участка, по которым рассчитаны два периода индукции с разными концентрациями антиоксидантов и скоростями окисления, что свидетельствует о комплексе веществ, проявляющих антиоксидантную активность. В экстрактах исследуемых образцов концентрация антиоксидантов варьирует в пределах $(25-186) \cdot 10^{-3}$ моль/кг (табл.). В торфе наблюдается корреляция количества АО с концентрацией идентифицированных органических соединений, в состав которых входят алканы, жирные кислоты, стероиды, терпеноиды, токоферолы (рис. 2). Однако концентрация органических соединений не всегда пропорциональна антиоксидантной активности выделенных липидов, что может быть связано с экстракцией нейтральных для радикальных процессов компонентов, например, жирных кислот.

Применяемая методика экстракции позволила выделить липиды с высокой концентрацией АО, что объясняется как использованием эффективного экстрагента (метанол+хлороформ), так и происхождением исходного сырья. Следует отметить, что в данной работе полученное количество АО сравнимо с таковыми в липидах озер Карачи НО (в среднем 0,3 моль/кг) и Кирек ТО (в среднем 0,17 моль/кг) [6, 7]. Авторами работы [13] было показано, что для торфа максимально эффективными экстрагентами являются этанол:гексан, хлороформ, этилацетат. Выделенные такими растворителями экстракты торфа при внесении в подсолнечное масло для усиления лечебного воздействия в концентрации 5–8% увеличивают количество АО на 10%.

В данной работе максимальное количество антиоксидантов обнаружено в сфагнум фускум торфах, а минимальное – в сфагнум фаллакс торфе, что коррелирует с содержанием токоферолов в этих торфах. Учитывая два критерия оценки антиоксидантной активности, наиболее активным является экстракт сфагнум фускум торфа Кондинского района ХМАО, для этого образца наблюдается и период индукции и значительное понижение скорости окисления кумола: за 3 ч реакции инициированного окисления она снизилась в 10 раз.

Из трех экстрактов сапропелей только в одном, полученном из сапропеля озера Долгое Нижневартовского района ХМАО, присутствуют АО.

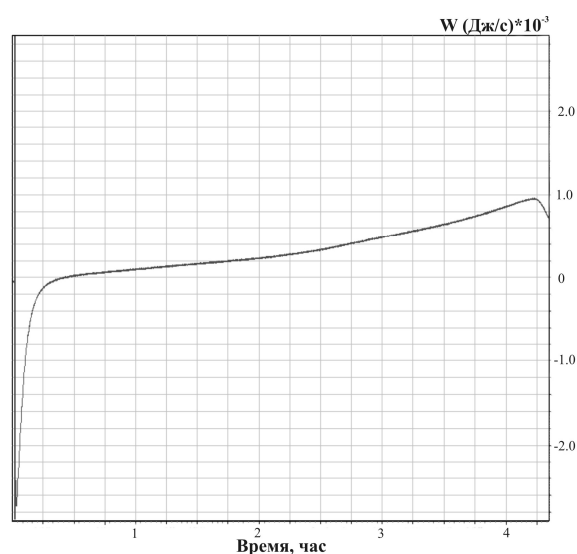


Рис. 1. Кривая тепловыделения модельной реакции инициированного окисления кумола в присутствии экстракта пушицевого слаборазложившегося торфа. $C = 2,3$ г/л; $w_i = 6,8 \cdot 10^{-8}$ л/(моль с); $[AO] = 135 \cdot 10^{-3}$ моль/кг, $W = 0,95 \cdot 10^{-3}$ Дж/с

Антиоксидантная активность экстрактов торфов и сапропелей. Модельная реакция инициированного окисления кумола. Кислород, $t = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $w_i = 6,8 \cdot 10^{-8}$ л/моль с [10]

Объект исследования (место отбора пробы)	Концентрация идентифицированных органических соединений, мкг/г	$[\text{AO}] \cdot 10^3$, моль/кг	τ , сек	Скорость окисления, $w_{\text{ок}} \cdot 10^6$, л/моль с
Модельная реакция без добавок экстрактов	–	–	–	8,3
Торфы				
Низинный древесно-осоковый торф (Болото Темное, Томская область)	186	42±4	2400	2,9
Пушицевый слаборазложившийся торф (Болото Темное, Томская область)	Не определяли	135±13	6000	6,3
Сфагново-пушицевый сильноразложившийся торф (Болото Темное, Томская область)	Не определяли	96±9	4100	2,0
Сфагнум фускум торф (Верхнекетский район, Томская область)	110	22±2 184±18	950 7900	6,7 2,9
Сфагнум фаллак торф (Бакчарский район, Томская область)	44	40±4	1700	6,9
Пушицевый торф (Убинский район, Новосибирская область)	25	107±10	4600	2,1
Сфагнум фускум торф (Кондинский район, Ханты-Мансийский автономный округ)	73	183±18	8000	0,8
Сапропели				
Озеро Карасевое (Колпашевский район, Томская область)	35	0	0	6,3
Озеро Долгое (Нижневартовский район, Ханты-Мансийский автономный округ)	201	108±10	14400	0,8
Озеро Вачлор (Сургутский район, Ханты-Мансийский автономный округ)	307	0	0	6,6

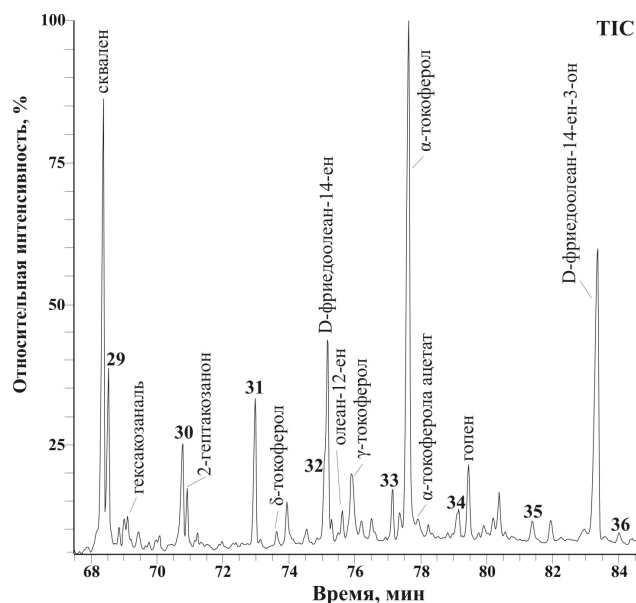


Рис. 2. Фрагментогаммы по общему ионному току липидов сфагнум фускум торфа, (Верхнекетский район, Томская область). Цифры обозначают число атомов углерода в молекулах *n*-алканов

Выводы

Применение эффективного экстрагента для извлечения липидов из торфов и сапропелей обеспечивает выход большого количества биологически активных соединений с высокой антиоксидантной активностью, которые можно использовать в производстве лечебных и косметических препаратов. По содержанию антиоксидантов исследованные образцы торфа располагаются в следующем порядке: сфагнум фускум > пушицевый > низинный древесный > сфагнум фаллак. Максимальной биологической активностью обла-

дают сфагнум фускум торфы, что позволяет рекомендовать их в качестве оптимального сырья для практического применения.

Высокая концентрация идентифицированных органических соединений не всегда соответствует повышенной антиоксидантной активности выделенных липидов, что может быть связано с экстракцией нейтральных для радикальных процессов компонентов.

Использование растворителей приводит к удорожанию экстрактов, но высокая активность субстанций торфа позволяет вводить их в маленьких концентрациях, что делает перспективным их практическое применение.

Список литературы

1. Сизова Н.В. Оценка эффективности экстракции растительного сырья по содержанию липидных антиоксидантов // Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Новосибирск, 2013. С. 107–109.
2. Патент № 2601588 (РФ). Способ стимулирования прорастания семян бобовых и твёрдо-семенных растений и устройство для его осуществления / О.Н. Змеева, Л.Д. Проскурина, Л.В. Петрова / 2016.
3. Kasimova L., Kravets A. Biological activity of Peat growth stimulator and its fractions Substaining Our Peatlands // Proceedings of the 11th International Peat Congress. Quebec City. Canada, 2000. Pp. 651–653.
4. Белоусов Н.М., Удинцев С.Н., Жиликова Т.П., Титова Э.В., Кравецкий П.А., Касимова Л.В., Сибгатов В.П., Копанев В.А., Мельников Д.П., Лычева Т.В., Сеницын В.А. Применение в животноводстве кормовой добавки Гумитон на основе биологически активных соединений торфа // Достижения науки и техники АПК. 2012. С. 232.
5. Лобанова Г.Л., Кравец А.В. Электроимпульсная обработка торфа в воде как метод выделения биологически активных веществ // Химия в сельском хозяйстве. 1994. №5. С. 6–8.
6. Низкодубова С.В., Медведев М.А. Липиды сапропелей. Томск, 2004. 149 с.
7. Буркова В.Н., Кураколова Е.А., Писарева С.И. Ингибиторы окисления в органическом веществе современных осадков // Горючие сланцы. 1988. Т. 5. №1. С. 29–33.
8. Юдина Н.В., Буркова В.Н., Мальцева Е.В., Иванов А.А., Савельева А.В. Антиоксиданты в липидах торфов // Химия твердого топлива. 2013. №3. С. 3–11.
9. Сизова Н.В., Попова И.Ю. Содержание антиоксидантов в экстрактах растительного сырья, полученных сверхкритической экстракцией // Химико-фармацевтический журнал. 2006. Т. 40. №4. С. 29–33.
10. Серебренникова О.В., Стрельникова Е.Б., Русских И.В., Прейс Ю.И., Дучко М.А. Химический состав липидов листостебельных мхов – торфообразователей эвтрофных болот Западной Сибири и Алтая // Химия растительного сырья. 2016. №1. С. 63–69.
11. Патент № 2249205 (РФ). Способ количественного определения токоферолов в растительных маслах / А.А.Великов, Н.В. Сизова / 2005.
12. Сизова Н.В. Состав и антиоксидантная активность эфирных масел, содержащих производные азулена // Химико-фармацевтический журнал. 2012. Т. 46. №6. С. 80–83.
13. Selyanina S.B., Sizova N.V., Zabelina S.A., Yarygina O.N., Ponomareva T.I., Bogolitsyn K.G. Biological activity of extractives of high-moor of European north of Russia // XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: тезисы докладов. Екатеринбург, 2016. Т. 4. С. 553.

Поступило в редакцию 29 марта 2017 г.

После переработки 20 апреля 2017 г.

Sizova N.V.*, Strel'nikova E.B., Russkikh I.V. INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PEAT LIPIDS AND SAPROPELS FROM WESTERN SIBERIA

Institute of Petroleum Chemistry SB RAS, pr. Akademichesky, 4, Tomsk, 634055 (Russia), e-mail: sizovaNV@mail.ru

The antioxidant activity of lipids extracted from peats and sapropels from Tomsk and Novosibirsk Regions and Khanty-Mansi Autonomous Okrug is estimated by microcalorimetry. The presence of antioxidants (AO) in the lipids of all peats under study and in a sapropel from the Dolgoye Lake is confirmed by the presence of an induction period (950–14000 s) on the heat release curve and the decrease in the final rate of the model reaction of the initiated cumene oxidation by 25–90%. The total amount of lipid antioxidants varying within the range $(22\text{--}183)\cdot 10^{-3}$ mol/kg is determined by the degree of inhibition of the oxidation reaction. The concentration of identified organic compounds (25–186 $\mu\text{g/g}$) including alkanes, fatty acids, steroids, terpenoids, and tocopherols is determined by chromatography-mass spectrometry, which correlates with the amount of AO in the peat. It is shown that the samples of initial peats are ordered by their antioxidant activity as follows: sphagnum fuscum > cotton grass > lowland wood > sphagnum phallax. Sphagnum fuscum peats are characterized by the maximum biological activity, which makes it possible to recommend them as an optimal raw material for practical use.

Keywords: Peat lipids, antioxidants, chromatography-mass spectrometry, microcalorimetry.

References

1. Sizova N.V. *Svobodnye radikaly i antioksidanty v khimii, biologii i meditsine: Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii*. [Free radicals and antioxidants in chemistry, biology and medicine: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference]. Novosibirsk, 2013, pp. 107–109. (in Russ.).
2. Patent 2601588 (RU). 2016. (in Russ.).
3. Kasimova L., Kravets A. *Proceedings of the 11th International Peat Congress*, Quebec City, Canada, 2000, pp. 651–653.
4. Belousov N.M., Udintsev S.N., Zhiliakova T.P., Titova E.V., Kravetskii P.A., Kasimova L.V., Sibagatov V.P., Kopanev V.A., Mel'nikov D.P., Lycheva T.V., Sinitsyn V.A. *Dostizheniia nauki i tekhniki APK*, 2012, p. 232. (in Russ.).
5. Lobanova G.L., Kravets A.V. *Khimiia v sel'skom khoziaistve*, 1994, no. 5, pp. 6–8. (in Russ.).
6. Nizkodubova S.V., Medvedev M.A. *Lipidy sapropelei*. [Lipids of sapropels]. Tomsk, 2004, 149 p. (in Russ.).
7. Burkova V.N., Kurakolova E.A., Pisareva S.I. *Goriuchie slantsy*, 1988, vol. 5, no. 1, pp. 29–33. (in Russ.).
8. Iudina N.V., Burkova V.N., Mal'tseva E.V., Ivanov A.A., Savel'eva A.V. *Khimiia tverdogo topliva*, 2013, no. 3, pp. 3–11. (in Russ.).
9. Sizova N.V., Popova I.Iu. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2006, vol. 40, no. 4, pp. 29–33. (in Russ.).
10. Serebrennikova O.V., Strel'nikova E.B., Russkikh I.V., Preis Iu.I., Duchko M.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2016, no. 1, pp. 63–69. (in Russ.).
11. Patent 2249205 (RU). 2005. (in Russ.).
12. Sizova N.V. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2012, vol. 46, no. 6, pp. 80–83. (in Russ.).
13. Selyanina S.B., Sizova N.V., Zabelina S.A., Yarygina O.N., Ponomareva T.I., Bogolitsyn K.G. *XX Mendeleevskii s"ezd po obshchei i prikladnoi khimii: Tezisy dokladov*. [XX Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry: Abstracts of Reports]. Ekaterinburg, 2016, vol. 4, p. 553.

Received March 29, 2017

Revised April 20, 2017

* Corresponding author.