

РЕГУЛИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПУТЕМ ИХ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ

Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко НАН Украины, г. Киев

Для повышения эффективности природных гуминовых кислот перспективной является их направленная химическая модификация для введения новых функциональных групп или изменения количества имеющихся в составе их макромолекулы групп. С помощью направленной химической модификации становится возможным регулирование поверхностно-активных, комплексообразующих, окислительно-восстановительных и других физико-химических свойств гуминовых кислот, а также их биологической активности. В данной работе газовольюметрическим методом определена антиоксидантная активность гуминовых кислот и продуктов их химического модифицирования в процессах радикально-цепного окисления в органической среде. Проведена реакция ацилирования гуминовых кислот хлористым бензоилом в условиях инверсионного трансфазного катализа. Методом потенциометрического титрования показано, что реакция взаимодействия гуминовых кислот с бензоилхлоридом может протекать как по гидроксильным (–ОН) так и карбоксильным (–СООН) группам. Найдены коэффициенты антиоксидантной активности для нативных и модифицированных гуминовых кислот. Доказано изменение антиоксидантной активности ацилированных гуминовых кислот по сравнению с исходными формами, что может быть связано с уменьшением количества активных гидроксильных групп в структуре макромолекулы за счет их связывания в результате химической модификации. Показано, что одним из способов регулирования окислительно-восстановительных свойств нативных гуминовых кислот может быть их направленная химическая модификация, которая позволяет путем изменения количества функциональных групп в составе макромолекулы за счет протекания реакции ацилирования, управлять свойствами природных субстратов.

Ключевые слова: гуминовые кислоты, окислительно-восстановительные свойства, антиоксидантная активность, радикально-цепное окисление, реакция ацилирования.

Введение

Гуминовые кислоты (ГК) являются наиболее химически активной частью бурого угля, торфа, почвенного гумуса, сланцев и донных отложений (сапропелей). Это делает их уникальными объектами для решения химически важных задач различного плана. Высокая реакционная способность гуминовых кислот обусловлена наличием в составе их макромолекул большого количества функциональных групп, прежде всего, карбоксильных и гидроксильных. Препараты ГК перспективны для применения в сельском хозяйстве, ветеринарии, медицине и технических направлениях [1–3]. В этой связи, получение препаратов на основе гуминовых кислот с заданными свойствами является актуальной задачей.

Для повышения эффективности природных

ГК перспективным является их направленная химическая модификация для введения новых функциональных групп или изменения количества имеющихся в составе их макромолекулы групп. С помощью направленной химической модификации становится возможным регулирование поверхностно-активных, комплексообразующих, окислительно-восстановительных и других физико-химических свойств гуминовых кислот, а также их биологической активности [4–6]. Окислительно-восстановительные свойства ГК определяются их функциональным составом. Известно, что нативные гуминовые кислоты способны окислять элементы в низких степенях окисления (Cu(I), Sn(II)) и восстанавливать элементы в высоких степенях окисления (Fe(III), Mn(IV), V(V), Pu(V, VI), U(VI) и др.) [7]. Можно полагать, что введение в состав ГК

ацильной группы ($>C=O$) изменит функциональный состав макромолекулы и повлияет на окислительно-восстановительные свойства гуминовых кислот.

Целью работы было исследование возможности проведения реакции ацилирования гуминовых кислот, как природных полиоксикарбонатов, в условиях инверсионного трансфазного катализа, получение продуктов ацилирования ГК и определение их антиоксидантной активности для выявления изменений окислительно-восстановительных свойств.

Экспериментальная часть

Гуминовые кислоты получали из аналитической пробы бурого угля Александрийского месторождения (Украина) однократной экстракцией раствором NaOH ($[NaOH]=0,1$ н.) при соотношении твердой и жидкой фаз 1:8 и температуре 293 К (ГК(исх.)). Затем из «сырого» экстракта получали нерастворимые в воде гуминовые кислоты осаждением 5% раствором HCl, который добавляли при постоянном перемешивании до pH 1–2. Выпавший осадок ГК отделяли от надосадочной жидкости центрифугированием. Осадок промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции среды (pH 6–7). Промытые гуминовые кислоты сушили в сушильном шкафу при температуре 353 К до постоянной массы. Средняя молекулярная масса полученных таким способом образцов ГК составляет примерно 20 000 [8]. Натриевые соли гуминовых кислот получали растворением ГК в 0,1 н. растворе NaOH.

Химическую модификацию солей нативных гуминовых кислот осуществляли при взаимодействии их с бензоилхлоридом (БХ) в условиях трансфазного катализа. Реакцию ацилирования проводили следующим образом: в трехгорлую круглодонную колбу, снабженную мешалкой, помещали 0,3 г высушенной до постоянной массы гуминовой кислоты, добавляли 30 мл 0,1 н. раствора NaOH и перемешивали до полного растворения. К полученному раствору гумата натрия добавляли 0,2 мл 0,029 моль/л раствора 4-диметиламинопиридин-N-оксида (ДМАП-О), используемого в качестве катализатора. Затем в реакционную смесь добавляли раствор бензоилхлорида (0,10–0,35 г БХ в 30 мл дихлорметана). Реакционную смесь энергично перемешивали в течение 5 мин. После окончания перемешивания, органическую и водную фазы разделяли при помощи делительной воронки. Ацилированные гуминовые кислоты (ГК(ацил)) выделяли из водной фазы по методике, приведенной выше.

При потенциометрическом титровании отбиралась аликвота 1% раствора гумата натрия объемом 5 мл, к которой добавляли 20 мл 0,1 н.

NaOH и 25 мл дистиллированной воды. При этом объем титруемого раствора составлял 50 мл, а концентрация гумата натрия в титруемом растворе 0,1%. Титрование проводили 0,1 н. раствором HCl до pH=2,0 при 293 К. Раствор 1,0% гумата натрия получали растворением навески сухих гуминовых кислот в 0,1 н. растворе NaOH. После добавления каждой порции титранта систему перемешивали на магнитной мешалке в течение 3 мин. Аналогично было проведено титрование растворов NaOH без гуминового вещества, содержащих такое же количество щелочи, как и в растворах гумата натрия (холостой опыт). Значение pH растворов измеряли на прецизионном pH-метре (Metrohm 744 pH Meter, Швейцария). Точки эквивалентности определяли дифференциальным методом, как максимумы на дифференциальных кривых: $\Delta pH/\Delta V=f(V_{HCl})$ [9].

Окислительно-восстановительные свойства гуминовых кислот были изучены в процессах радикально-цепного окисления в органической среде как препараты антиоксидантного действия. Изучали инициированное азоиизобутиронитрилом (АИБН) жидкофазное окисление кумола (изопропилбензола, ИПБ) в среде диметилсульфоксида (ДМСО) в присутствии исходных (ГК(исх)) и ацилированных (ГК(ацил)) гуминовых кислот в широком диапазоне концентраций 0–5,0 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 [10]. Изучение процесса проводилось в кинетической области, где скорость реакции не зависит от скорости перемешивания. Скорость поглощения кислорода окисляемой смесью рассчитывали как тангенс угла наклона кинетической кривой, полученной построением зависимости количества поглощенного кислорода (V , мл) от времени (t , с). В работе использовались АИБН, ДМСО, ИПБ, очищенные по методикам, описанным в [11]. Концентрация ИПБ в исследуемой системе составляла 3,59 моль/л, АИБН – $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

Результаты и их обсуждение

Ранее нами было доказано [12], что ГК обладают антиоксидантными свойствами. Наличием ГК обусловлено замедление инициированного окисления кумола (ИПБ) молекулярным кислородом в гомофазных условиях. С увеличением концентрации ГК в исследуемой системе наблюдается уменьшение скорости окисления смеси. С целью изменить антиоксидантную активность ГК в данной работе проведена их химическая модификация в условиях инверсионного трансфазного катализа. Схема реакции ацилирования гуминовых кислот по гидроксильным

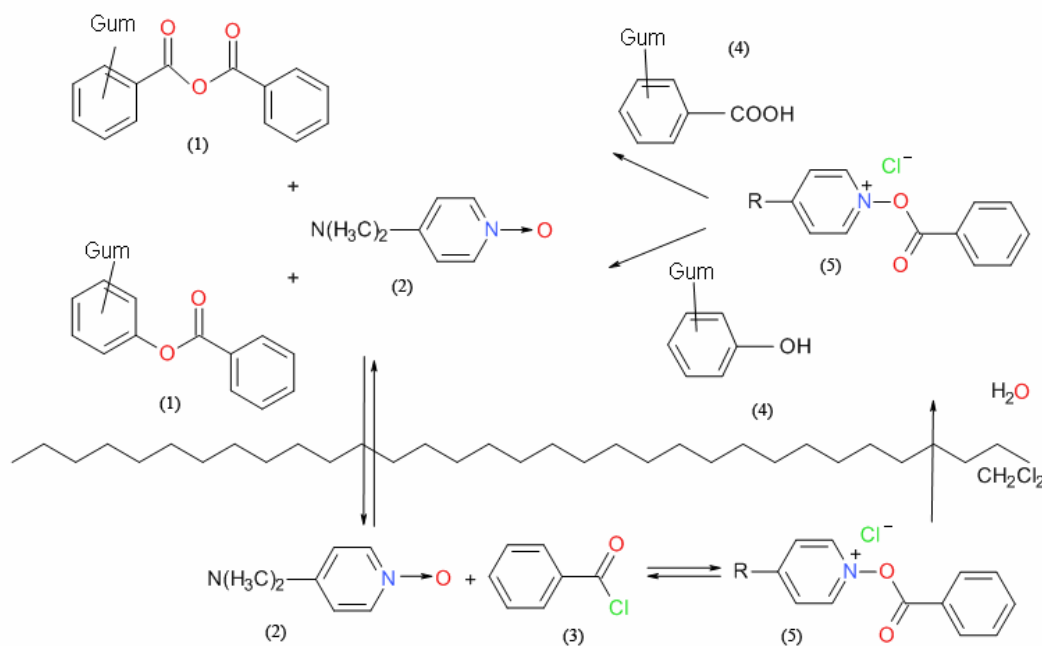


Рис. 1. Схема реакции ацилирования гуминовых кислот хлористым бензоилом в двухфазной системе вода–дихлорметан в присутствии катализатора: (1) – ацилированные гуминовые кислоты; (2) – 4-диметиламинопиридин-N-оксид; (3) – хлористый бензоил; (4) – исходные гуминовые кислоты; (5) – хлорид N-бензоилоксопиридиния

и карбоксильным группам хлорангидридом бензойной кислоты приведена на рис. 1.

В качестве катализатора использовали 4-диметиламино-пиридин-N-оксид (ДМАП-О), высокая эффективность которого доказана в ряде работ для реакций ацилирования различных фенолов и карбоновых кислот [13,14]. Специально поставленными в идентичных условиях опытами было показано, что без катализатора реакция бензоилирования гуматов практически не идет. Реакция ацилирования гуминовых кислот (4) включает в себя взаимодействие бензоилхлорида (3) с катализатором ДМАП-О (2) в органической фазе (дихлорметан). Образовавшийся хлорид N-бензоилоксопиридиния (5), переходит в водную фазу, поскольку его растворимость в воде выше, чем в дихлорметане (константа распределения для этого соединения в системе $H_2O-CH_2Cl_2$ составляет 96,1; измерена при $T=293\text{ K}$), где и протекает реакция между этим соединением и гуматами.

За ходом реакции следили по убыванию концентрации БХ в дихлорметане. После окончания реакции и расслоения системы вода – дихлорметан на две фазы, отбирали пробу из органического слоя, записывали ИК спектр органической фазы и рассчитывали интенсивность полос поглощения карбонильной группы БХ при $\nu_{с=о}$ 1775 и 1735 $см^{-1}$.

В работе изучена кинетика взаимодействия БХ с различными фракциями гуминовых кислот ГК(исх) в зависимости от начальной кон-

центрации БХ в исследуемых системах. Определение кинетических закономерностей взаимодействия БХ с гуминовыми кислотами ГК(исх) дает возможность оптимизировать процесс ацилирования ГК.

В процессе ацилирования должно происходить уменьшение количества $-OH$ и $-COOH$ -групп и увеличение количества $>C=O$ групп в структуре макромолекул ГК. Для подтверждения этого факта в данной работе проведено потенциометрическое титрование нативных и ацилированных фракций ГК. Исходя из полученных данных потенциометрического титрования рассчитано количество функциональных групп $-OH$ и $-COOH$, приходящееся на 1 г фракций гуминовых кислот (табл. 1).

Таблица 1

Количество функциональных групп в исходных и ацилированных образцах фракций ГК

Образец ГК	[БХ], моль/л	Количество функциональных групп, ммоль/г	
		$-COOH$	$-OH$
ГК(исх)	–	3,50	4,50
ГК(ацил)	0,052	1,70	3,10

Примечание: [БХ] – начальная концентрация бензоилхлорида в системе ацилирования ГК, моль/л.

Как следует из табл. 1, в продукте ацилирования количество гидроксильных и карбоксильных групп меньше, чем в нативной форме ГК. Увеличение концентрации бензоилхлорида

в реакции ацилирования приводит к снижению содержания $-\text{OH}$ и $-\text{COOH}$ групп в структуре макромолекул ГК, доступных для титрования.

Изменение соотношения $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$ и $>\text{C}=\text{O}$ групп в структуре макромолекулы ГК должны приводить к изменению ее окислительно-восстановительных свойств. Для оценки окислительно-восстановительных свойств ГК использовали газоволомометрический метод. В качестве модельной системы использовали реакцию инициированного радикально-цепного окисления изопропилбензола.

Как следует из рис. 2, добавление нативных (ГК(исх)) и ацилированных (ГК(ацил)) гуминовых кислот к окисляемой смеси ИПБ–АИБН–ДМСО приводит к понижению количества кислорода, поглощенного системой. При этом, в присутствии нативных ГК(исх) наблюдается большее уменьшение объема кислорода, поглощенного системой, чем в присутствии ГК(ацил).

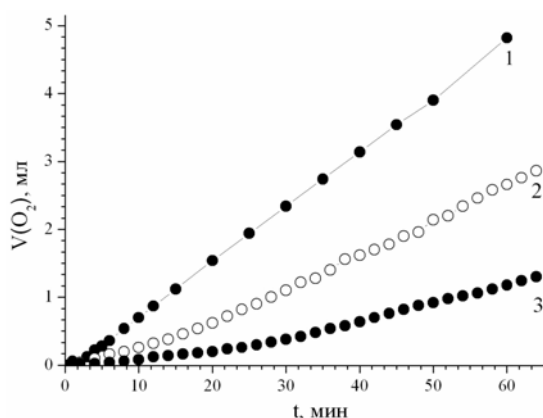


Рис. 2. Кинетические кривые поглощения кислорода системой ИПБ–ДМСО–АИБН в присутствии гуминовых кислот (2,0 г/л): 1 – без ГК, 2 – ГК(ацил), 3 – ГК(исх). [АИБН]= $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, [ИПБ]=3,59 моль/л, 348 К

В табл. 2 представлены значения скорости поглощения кислорода исследуемой системой в зависимости от концентрации ГК(исх) и ГК(ацил). Таким образом, нативные ГК обладают более выраженными антиоксидантными свойствами по сравнению с ацилированными.

Полученные зависимости скорости поглощения кислорода от концентрации гуминовых кислот (ГК(исх) и ГК(ацил)) хорошо спрямляются в обратных координатах (рис. 3). Тангенс угла наклона полученных прямых характеризует антиоксидантные свойства вещества – это коэффициент антиоксидантной активности. Коэффициенты антиоксидантной активности (АОА) для нативных и модифицированных гуминовых кислот приведены в табл. 2, из которой следует, что нативные гуминовые кислоты

обладают более выраженной антиоксидантной активностью по сравнению с ацилированными формами.

Таблица 2
Значения скорости поглощения кислорода (W) системой ИПБ–ДМСО–АИБН–ГК в зависимости от концентрации (C) гуминовых кислот

C, г/л	$W \cdot 10^6$, моль/(л·с)	
	ГК(исх)	ГК(ацил)
0	2,76	2,76
0,1	2,51	–
1,0	1,72	2,60
2,0	0,93	1,61
3,0	–	1,40
5,0	0,31	0,95
АОА	0,60	0,15

Примечание: [АИБН]= $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, [ИПБ]=3,59 моль/л, 348 К.

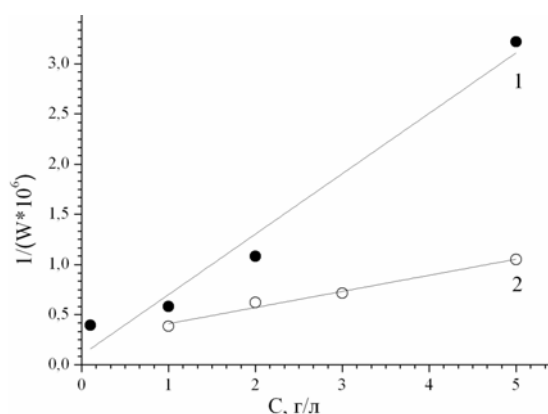


Рис. 3. Линейные анаморфозы зависимости скорости поглощения кислорода (W , моль/(л·с)) системой ИПБ–МСО–АИБН от концентрации гуминовых кислот (C , г/л): 1 – ГК(исх); 2 – ГК(ацил). [АИБН]= $2,00 \cdot 10^{-2}$ моль/л, [ИПБ]=3,59 моль/л, 348 К

Выводы

Газоволомометрическим методом изучено действие ГК(исх) и ГК(ацил) в процессе радикально-цепного окисления кумола и показано, что антиоксидантная активность ацилированных форм ниже, чем у нативных гуминовых кислот. Уменьшение антиоксидантной активности и увеличение окислительной способности ацилированных форм ГК связано с уменьшением количества $-\text{OH}$ групп при их взаимодействии с бензоилхлоридом.

Изучена возможность проведения реакции ацилирования гуминовых кислот хлористым бензоилом в условиях инверсионного трансфазного катализа с использованием катализатора 4-диметиламинопиридин- N -оксида.

Сравнение данных потенциометрического титрования нативных и ацилированных гуминовых кислот указывает на то, что реакция взаимодействия ГК с бензоилхлоридом протекает по гидроксильным (–ОН) и карбоксильным (–COOH) группам.

Показано, что одним из способов регулирования окислительно-восстановительных свойств нативных гуминовых кислот может быть их направленная химическая модификация, которая позволяет путем изменения количества функциональных групп в составе макромолекулы за счет протекания реакции ацилирования, управлять свойствами природных субстратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лиштван И.И., Круглицкий Н.Н., Третинник В.Ю. Физико-химическая механика гуминовых веществ. – Минск: Наука и техника, 1976. – 264 с.
2. 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., Гостищева М.В., Исмадова Р.Р. К вопросу об использовании биологически-активных гуминовых веществ в медицине // Химия растительного сырья. – 2005. – № 1. – С.49-52.
4. 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. Хилько С.Л., Титов Е.В., Федосеева, А.А. Влияние сильных электролитов на водные растворы Na-солей нативных и сульфированных гуматов натрия // Коллоидный журн. – 2001. – Т.63. – № 5. – С.706-710.
6. Жоробекова Ш.Ж., Мальцева Г.М. О конформационной изменчивости гуминовых кислот. // Химия твердого топлива. – 1987. – № 3. – С.34-37.
7. Кучер Р.В., Компанец В.А., Бутузова Л.Ф. Структура ископаемых углей и их способность к окислению. – К.: Наукова думка, 1980. – 168 с.
8. Ребачук М.Н., Степаненко Л.С., Максимов О.Б. О молекулярных весах гуминовых кислот // Химия твердого топлива. – 1972. – № 2. – С.10-17.
9. Скотт Д., Уэст Д. Основы аналитической химии. – М.: Мир, 1979. – Т.1. – 453 с.
10. Эмануэль Н.М., Заиков Г.Е., Майзус З.К. Роль среды в радикально-цепных реакциях окисления органических соединений. – М.: Наука, 1973. – 297 с.
11. Armarego W.L.F., Chai Ch.L.L. Purification Of Laboratory Chemicals. – Elsevier Science, 2003. – 608 p.
12. Ефимова И.В., Хилько С.Л., Смирнова О.В. Антиоксидантная активность гуминовых кислот в процессах радикально-цепного окисления // Журн. прикл. химии. – 2012. – Т.85. – № 9. – С.1436-1439.
13. Инверсионный межфазный катализ. 1. Изучение

катализируемой п-оксидами пиридина реакции бензоилхлорида и 4-нитробензоат иона в двухфазной среде вода-дихлормета / В.И. Рыбаченко, А.Н. Редько, Г. Шредер, К.Ю. Чотий // Наукові праці Донецького національного технічного університету. – 2007. – Т.119. – № 9. – С.72-78.

14. Unconventional method used in synthesis of polyphosphoesters / S. Ilescu, A. Pascariu, N. Plesu et al // Polym. Bull. – 2009. – Vol.63. – № 4. – P.485-495.

Поступила в редакцию 2.04.2016

CONTROL OF THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF HUMIC ACIDS BY THEIR CHEMICAL MODIFICATION

O.V. Smirnova, I.V. Efimova

L.M. Litvinenko Institute of Physical Organic and Coal Chemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

To increase the efficiency of natural humic acids, their directed chemical modification seems to be rather perspective, the modification being associated with the introduction of new functional groups or the change of the number of groups which are present in the composition of the macromolecules. The application of directed chemical modification allows regulating surface-active, complexing, redox and other physicochemical properties of humic acids as well as their biological activity. In this paper, volumetric method was used to determine the antioxidant activity of humic acid and the products of their chemical modification in the processes of radical chain oxidation in an organic medium. The reaction of humic acids acylation by benzoyl chloride has been conducted under the condition of inversion trans-phase catalysis. The results of potentiometric titration showed that the interaction between humic acid and benzoyl chloride can occur via both hydroxyl (–OH) groups and carboxyl (–COOH) ones. We have determined the antioxidant activity coefficients for native and modified humic acids. The change in antioxidant activity of acylated humic acids in comparison with the baseline forms was stated which may be associated with a decrease in the number of active hydroxyl groups in the macromolecule structure by their binding as a result of chemical modification. It has been shown that the directed chemical modification of native humic acids may be a way to adjust their redox properties, this allows controlling the properties of natural substrates by means of the variation in the number of the functional groups in the macromolecules composition as a result of the acylation reaction.

Keywords: humic acids; redox properties; antioxidant activity; radical-chain oxidation; acylation reaction.

REFERENCES

1. Lishtvan I.I., Kruglitsky N.N., Tretinnikov V.Y., Fiziko-khimicheskaya mekhanika guminovykh veshchestv [Physico-chemical mechanics of humic substances]. Science and Technology Publishers, Minsk, 1976. 264 p. (in Russian).
2. Gavrilchik L.I., Fast A.V., Solovyov V.L. Ingibitory korrozii metalla na osnove guminovykh kislot torfa [Metal corrosion inhibitors based on peat humic acids]. Torfyannaya Promyshlennost', 1991, no. 8, pp. 30-33. (in Russian).
3. Fedko I.V., Gostischeva M.V., Ismatova R.R. K voprosu ob ispol'zovanii biologicheskii-aktivnykh guminovykh veshchestv v meditsine [On the issue of the application of biologically active humic substances in medicine]. Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya, 2005, no. 1, pp. 49-52. (in Russian).
4. Yudina N.V., Pisareva S.I., Pynchenkov V.I., Loskutova Yu.V. Parametry otsenki biologicheskoi aktivnosti organicheskogo veshchestva sapropeli [The parameters for the evaluation of biological activity of organic substances of sapropel]. Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya, 1998, no. 4, pp. 33-38. (in Russian).
5. Khil'ko S.L., Titov Ye.V., Fedorova, A.A. Vliyaniye sil'nykh elektrolitov na vodnyye rastvory Na-soley nativnykh i

sul'firovannykh gumatov natriya [Influence of strong electrolytes on the aqueous solutions of Na-salt native and sulfonated sodium humates]. *Kolloidnyi Zhurnal*, 2001, vol. 63, no. 5, pp. 706-710. (in Russian).

6. Zhorobekova Sh.Zh., Mal'tseva G.M. O konformatsionnoi izmenchivosti guminovykh kislot [About the conformational variability of humic acids]. *Khimiya Tverdogo Topliva*, 1987, no. 3, pp. 34-37. (in Russian).

7. Kucher R.V., Kompaniyets V.A., Butuzova L.F., *Struktura iskopayemykh uglei i ikh sposobnost' k okisleniyu* [The structure of coals and their ability to oxidize]. Naukova Dumka, Kyiv, 1980. 168 p. (in Russian).

8. Rebachuk M.N., Stepanenko L.S., Maksimov O.B. O molekulyarnykh vesakh guminovykh kislot [On the molecular weights of humic acids]. *Khimiya Tverdogo Topliva*, 1972, no. 2, pp. 10-17. (in Russian).

9. Skut D., Uest D., *Osnovy analiticheskoy khimii* [Fundamentals of analytical chemistry]. Mir, Moscow, 1979. Vol. 1. 453 p. (in Russian).

10. Emanuel' N.M., Zaikov G.Ye., Mayzus Z.K., *Rol' sredy v radikal'no-tsepnnykh reaktsiyakh okisleniya organicheskikh soedineniy* [The role of environment in the radical-chain reactions of organic compounds oxidation]. Nauka, Moscow, 1973. 297 p. (in Russian).

11. Armarego W.L.F., Chai Ch.L.L., *Purification of laboratory chemicals*. Elsevier Science, 2003. 608 p.

12. Efimova I.V., Khil'ko S.L., Smirnova O.V. Antioksidantnaya aktivnost' guminovykh kislot v protsessakh radikal'no-tsepnogo okisleniya [Antioxidant activity of humic acids in the processes of radical chain oxidation]. *Zhurnal Prikladnoi Khimii*, 2012, vol. 85, no. 9, pp. 1436-1439. (in Russian).

13. Rybachenko V.I., Red'ko A.N., Shreder G., Chotiy K.Yu. Inversionnyi mezhfaznyi kataliz. 1. Izucheniye kataliziruyemoy n-oksidami piridina reaktsii benzoilkhlorida i 4-nitrobenzoat iona v dvukhfaznoi srede voda-dikhlorometan [Vapor phase transfer catalysis. 1. Study on n-catalyzed reaction of benzoyl chloride with oxides of pyridine and 4-nitrobenzoate ion in a biphasic water-dichloromethane medium]. *Naukovi Pratsi Donets'kogo Natsional'nogo Tekhnichnogo Universitetu*, 2007, vol. 119, no. 9, pp. 72-78. (in Russian).

14. Iliescu S., Pascariu A., Plesu N., Popa A., Macarie L., Iliu G. Unconventional method used in synthesis of polyphosphoesters. *Polymer Bulletin*, 2009, vol. 63, no. 4, pp. 485-495.