



УДК 547.632:547.992.3

Возможности модификации гидролизного лигнина в отношении его биологической активности

Ю. Н. Новицкая¹, Р. М. Островская², Л. Н. Новикова³

¹Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск

²Иркутский государственный университет, г. Иркутск

³Иркутская государственная сельскохозяйственная академия, г. Иркутск

E-mail: val@botdep.isu.ru

Аннотация. Изучено влияние гидролизного лигнина (ГЛ) и продуктов его модификации на моллюсков и кукурузу. Установлено, что исходный гидролизный лигнин обладает токсичностью и оказывает на данные объекты мутагенное действие. Обработка гидролизного лигнина электрическим газовым разрядом и электрогидравлическим ударом в водной среде снимают его токсический и мутагенный эффект, а также способствуют появлению рост-стимулирующего эффекта на кукурузе. Наблюдаемые положительные эффекты ГЛ после указанных модификаций, возможно, связаны с уменьшением его молекулярной массы и повышением содержания кислых групп.

Ключевые слова: гидролизный лигнин, генотоксичность, хромосомные aberrации, моллюски, кукуруза, модификация.

Одним из приоритетных компонентов отходов целлюлозно-бумажного и гидролизного производства являются лигнинсодержащие соединения (ЛСС), которые, с одной стороны, сбрасываются со сточными водами в водоемы, а с другой, скапливаются в больших объемах в местах сброса или складирования. Известно, что лигнинсодержащие соединения относятся к химически инертным, но в процессе трансформации могут служить источником образования токсичных и мутагенных веществ [2; 3; 4; 10]. Однако, несмотря на это, сброс их и на сегодняшний день контролируется не всегда строго. В связи с этим возникает и требует решения проблема утилизации лигнинсодержащих отходов. Одним из путей ее решения является использование ЛСС в сельском хозяйстве. Наиболее широко в этом направлении используется гидролизный лигнин, который в составе компостов или в чистом виде применяют в качестве органического удобрения, однако по ряду причин применение гидролизного лигнина в натуральном виде нежелательно. Одной из таких причин является мутагенная активность, которая была установлена практически для всех видов технических лигнинов, в том числе и для гидролизного [6; 7; 9]. Поэтому для получения эффективных и безопасных биостимуляторов на основе ЛСС необходимо предварительно исследовать не только их биологиче-

скую активность по различным показателям, но и генетическую активность.

В экспериментах на байкальских эндемичных моллюсках было показано, что воздействие на лигносульфонат нейтронного облучения, приводящее в результате его деструкции к понижению молекулярной массы, сопровождалось снижением цитогенетической активности. На основании этого было выдвинуто предположение, что цитогенетическая активность лигнинсодержащих соединений может быть связана с величиной их молекулярной массы [6]. В связи с этим, Проверка данного предположения, а также поиск других путей воздействия на лигнинсодержащие соединения с целью снижения их генетической активности представляют значительный интерес.

Материалы и методы

Исследовали гидролизный лигнин Зиминского гидролизного завода и продукты его модификации электрическим газовым разрядом (ЭГЛ) при напряжении на коронирующих электродах 20, 30, 40 и 48 кВ, электрогидравлическим ударом в водной (ГЛ ЭГУв) и в щелочной (ГЛ ЭГУщ) среде. Поскольку гидролизный лигнин нерастворим в воде, все исследованные образцы ГЛ растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), а полученные исходные растворы далее разбавляли водой до нужных

концентраций. Контролем служили вода и ДМСО.

Одним из объектов исследования были байкальские эндемичные моллюски *Benedictia baicalensis* – представители экологически важной группы гидробионтов, которые по ряду показателей могут выступать в качестве удобной модели для оценки качества вод [1] и использовались нами ранее в натурных и модельных экспериментах в рамках генетического мониторинга. Животных поднимали со дна озера аквалангисты в бухте Бол. Коты (юго-западный Байкал). Самцов моллюсков помещали на 24 ч в сосуды с растворами ЛВ (100 мкг/мл) или байкальской водой (контроль) из расчета одна особь на 50 мл раствора. Из семенников моллюсков готовили препараты методом «отпечатка» [8].

Другим тест-объектом была кукуруза сорта «Российская», которая также удобна для оценки биологической активности различных лигнинсодержащих соединений [1; 5]. Воздушно-сухие семена кукурузы (100 шт.) после суточного набухания в отстоянной водопроводной воде переносили в чашки Петри с растворами (контроль) объемом 7 мл по 25 семян на чашку. Семена проращивали в термостате при температуре 22 °С в течение 5 суток. По завершении срока экспозиции определяли долю проросших семян и измеряли длину главного корешка у каждого проростка. Корешки фиксировали в этанол-уксусной смеси и хранили в 70%-ном этиловом спирте. Из корешков, окрашенных по Фельгену, готовили временные давленные препараты в насыщенном растворе хлоралгидрата.

Хромосомные aberrации учитывали анафазным методом. Статистическую оценку полученных данных производили стандартными методами.

Результаты и обсуждение

Оценка влияния образцов гидролизного лигнина на моллюсков показала токсичность исходного ГЛ в концентрации 100 и 300 мкг/мл, на что указывало снижение их двигательной активности. После воздействия образцов ЭГЛ каких-либо отклонений от нормального поведения моллюсков не наблюдалось ни при одной из исследованных концентраций.

При всех исследованных концентрациях ГЛ индуцировал хромосомные aberrации с достоверно большей частотой ($P < 0,05$), чем в контроле (рис. 1). Aberrации хромосом во всех случаях были представлены преимущественно ацентрическими фрагментами.

Обработка гидролизного лигнина электрическим газовым разрядом при напряжении на коронирующих электродах 30 и 48 кВ приводила к уменьшению молекулярной массы вещества, а также к снижению его цитогенетической активности до контрольного уровня, причем для полного снятия мутагенности ГЛ было достаточно уменьшение молекулярной массы от 11 600 до 9 000 (рис. 1).

Снятие мутагенного эффекта гидролизного лигнина за счет воздействия на него электрического газового разряда при напряжении на электродах 20–48 кВ отмечалось также и в клетках корневой меристемы кукурузы (табл. 1).

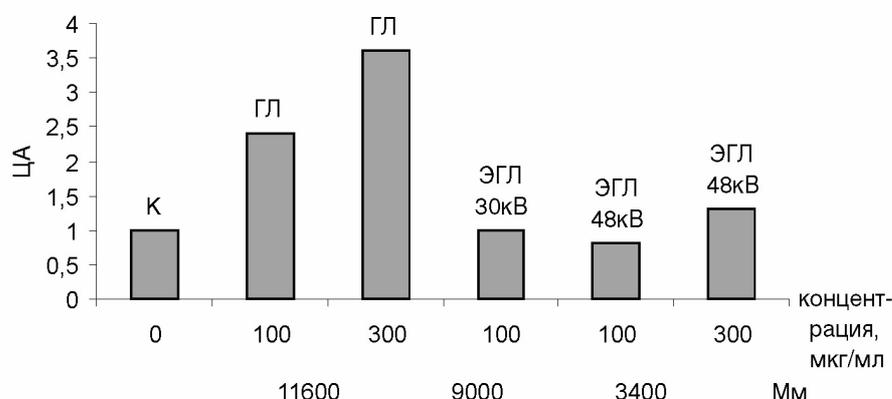


Рис. 1. Цитогенетическая активность (ЦА) образцов гидролизного лигнина на моллюсках *Benedictia baicalensis* (относительно контроля, принятого за единицу)

Таблица 1

Цитогенетические эффекты гидролизного лигнина и продуктов его модификации электрическим газовым разрядом на кукурузе

Вещество	Концентрация, мкг/мл	Проанализировано		Аберрантные клетки	
		растений	клеток	число	%
Контроль	0	28	2 461	14	0,6±0,2
ГЛ	4,0	10	555	4	0,6±0,3
	16,1	9	517	9	1,9±0,4*
	32,3	9	575	12	2,1±0,3*
	161	7	545	13	2,5±0,6*
ЭГЛ (20кВ)	4,0	10	740	3	0,3±0,2
	16,1	9	662	2	0,3±0,2
	32,3	9	659	2	0,2±0,1
	161	12	785	2	0,2±0,4
ЭГЛ (30кВ)	4,0	19	1 112	4	0,4±0,2
	16,1	13	675	2	0,3±0,2
	32,3	7	331	1	0,3±0,3
ЭГЛ (40кВ)	4,0	7	333	2	0,5±0,4
	16,1	8	382	2	0,6±0,4
	32,3	8	478	2	0,3±0,1
ЭГЛ (48кВ)	4,0	10	605	3	0,4±0,2
	16,1	9	589	4	0,8±0,6
	32,3	7	423	4	0,9±0,4
	161	9	487	3	0,6±0,3

Примечание: * – Различие с контролем статистически достоверно при $P < 0,05$

Еще одним положительным и важным в практическом отношении результатом такой модификации, помимо устранения мутагенного эффекта, явилось появление у ГЛ рост-стимулирующей активности. Как видно из таблицы 2, исследованный в данных экспериментах гидролизный лигнин проявил токсичность на кукурузе, которая выразилась как по доле проросших семян, так и по критерию «длина главного корешка», являющемуся интегральным показателем интенсивности роста. Электрическое воздействие положительно сказалось на свойствах ГЛ и привело не только к снижению фитотоксичности, но и к проявлению его рост-стимулирующей активности, которая на достоверном уровне ($P < 0,05$) отмечена в случае ЭГЛ (30 кВ) при концентрациях 4,0 и 16,1 мкг/мл и ЭГЛ (40 кВ) в диапазоне концентраций 4,0–32,3 мкг/мл, стимуляция роста при этом составляла 18–33 % относительно контроля. Таким образом, воздействие электрического газового разряда может приводить к появлению положительной биологической активности ГЛ в отношении стимуляции роста, зависящей от концентрации образцов ЭГЛ и условий электрической обработки. Отсутствие указанных эффектов в случае концентрации гидролизного лигнина 161 мкг/мл мы связываем с токсичностью для кукурузы диметилсульфоксида (ДМСО), который использовался для рас-

творения ГЛ и оставался в растворе в большом количестве после его разбавления водой до данной концентрации.

Исследование химических показателей гидролизного лигнина и продуктов его обработки электрическим газовым разрядом показало, что после указанной модификации отмечалось не только уменьшение молекулярной массы ГЛ, но и в значительной мере увеличивалось общее содержание кислых групп (табл. 3). Возможно, такие изменения в химической составляющей ГЛ и приводят к улучшению его качества.

Обработка ГЛ электрогидравлическим ударом в водной среде также снижала его цитогенетическую активность и приводила к появлению биостимулирующих свойств, тогда как данная обработка в щелочной среде приводила к противоположным результатам, хотя, судя по снижению молекулярной массы (табл. 4), процессы деструкции ГЛ происходят в щелочной среде даже в большей степени, чем в водной. Однако, наряду с процессами деструкции, электрогидравлический удар в водной среде, также как и электрический газовый разряд, приводил к увеличению общего содержания в ГЛ кислых групп (карбоксильных и фенольных гидроксильных), а в щелочной среде содержание данных функциональных групп уменьшалось.

Таблица 2

Влияние гидролизного лигнина и продуктов его модификации электрическим газовым разрядом на прорастание семян и интенсивность роста главного корешка кукурузы

Концентрация, мкг/мл	Доля проросших семян, %					
	Контроль (вода)	ГЛ	ЭГЛ 20кВ	ЭГЛ 30кВ	ЭГЛ40кВ	ЭГЛ 48кВ
4,0	57,5±5,9	32,0±4,9*	53,8±8,8	57,0±3,5	62,5±6,3	50,8±8,0
16,1		58,0±2,6	48,3±5,1	57,0±7,2	44,0±7,4	47,2±3,7
32,3		49,3±5,8	34,7±4,7	24,3±3,3*	41,2±4,9	27,3±2,2*
161		31,0±7,9*	32,2±2,7*	15,3±3,8*	12,0±2,3*	23,5±7,4*
Средняя длина главного корешка, см						
4,0	3,9±0,2	2,6±0,2*	3,7±0,5	5,1±0,2*	5,2±0,3*	4,0±0,2
16,1		3,3±0,2	4,1±0,2	4,6±0,3*	4,9±0,3*	4,4±0,3
32,3		3,9±0,2	3,8±0,3	3,5±0,3	4,7±0,3*	3,5±0,2
161		2,9±0,2*	2,8±0,3*	1,9±0,2*	1,9±0,2*	1,9±0,2*

Примечание: * – Различие с контролем статистически достоверно

Таблица 3

Характеристики продуктов модификации гидролизного лигнина электрическим газовым разрядом

Напряжение, кВ	Молекулярная масса (Mw)	Содержание функциональных групп, %	
		COOH	ОНфен
0	11 600	0,85	2,25
20	9 200	3,99	2,39
30	9 000	1,87	4,67
40	6 400	2,68	5,37
48	3 400	3,55	3,27

Таблица 4

Изменение физико-химических показателей и биологических эффектов гидролизного лигнина в результате воздействия на него электрогидравлического удара в различных средах

Образец	Молекулярная масса (Mw)	Общее содержание кислых групп, %	Аберрации хромосом, %			Длина главного корешка, см		
			концентрация, мкг/мл			концентрация, мкг/мл		
			4,0	16,1	32,3	4,0	16,1	32,3
ГЛ	9 680	2,0	1,0±0,3	1,7±0,3*	1,9±0,2*	5,3±0,3	4,6±0,4	4,5±0,1
ГЛ ЭГУВ	7 740	9,72	0,4±0,2	0,7±0,3	0,6±0,3	8,5±0,5*	6,9±0,6*	3,7±0,3*
ГЛ ЭГУЩ	6 460	1,41	0,7±0,3	1,5±0,3*	2,3±0,7*	4,5±0,1	3,6±0,3*	2,7±0,3*
Контроль	-	-	0,6±0,3			5,4±0,3		

Примечание: * – Различие с контролем статистически достоверно

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Гидролизный лигнин Зиминского гидролизного завода токсичен для моллюсков и кукурузы и обладает мутагенной активностью при воздействии на эти объекты. Воздействие на ГЛ электрического газового разряда, электрогидравлического удара в водной среде снижают его токсичность и устраняют генетическую активность.

2. Продукты модификации ГЛ электрическим газовым разрядом при напряжении 30 и

40 кВ и электрогидравлическим ударом в водной среде при концентрациях 4,0–16,1 мкг/мл обладают рост-стимулирующей активностью на растениях и являются перспективными для использования в качестве экологически безопасных органических удобрений.

3. Биологическая активность лигнинсодержащих соединений зависит от таких физико-химических показателей, как молекулярная масса и общее содержание кислых групп (фенольных гидроксильных и карбоксильных). Уменьшение молекулярной массы веществ и

увеличение содержания кислых групп приводит к снижению генетической и появлению биостимулирующей активности гидролизного лигнина.

Литература

1. Бедова П. В. Использование моллюсков в биологическом мониторинге состояния водоемов / П. В. Бедова, Б. И. Колупаев // Экология. – 1998. – № 5. – С. 410–411.
2. Грушко Я. М. Сброс лигнина в водоемы с промышленными сточными водами / Я. М. Грушко // Влияние фенольных соединений на гидробионтов. – Иркутск, 1981. – 109 с.
3. Калинкина Н. М. Эколого-токсикологическая оценка опасности сульфатного лигнина для гидробионтов : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Н. М. Калинкина. – СПб., 1993. – 24 с.
4. Криульков В. А. Лигнины в природных водоемах / В. А. Криульков, В. Т. Каплин // Гидрохимические материалы. Загрязнение и самоочищение природных водоемов, распад органических веществ и методы анализа. – Л., 1968. – Т. 46. – С. 226–234.
5. Лигнин и продукты его модификации как мутагенные биостимулирующие соединения / Р. М. Островская [и др.] // Современные проблемы экологии, природопользования и ресурсосбереже-

ния Прибайкалья : материалы юбил. конф. – Иркутск, 1998. – С. 67–69.

6. Новикова Л. Н. Обработка лигнинсодержащих соединений нейтронами и электрическим газовым разрядом как способ снижения их мутагенной активности / Л. Н. Новикова, Р. М. Островская, Г. К. Новиков // Химия в интересах устойчивого развития. – Новосибирск, 1996. – Т. 4, № 4–5. – С. 365–369.
7. Островская Р. М. Использование байкальских эндемичных моллюсков как объекта цитогенетического мониторинга / Р. М. Островская, Е. С. Побережный, Н. К. Петренко // Моллюски. Систематика, экология и закономерности распределения : сб. 7. – Л. : Наука. 1983. – С. 70–71.
8. Побережный Е. С. Байкальские эндемичные моллюски как объект гидробиологического мониторинга : дис. ... канд. биол. наук / Е. С. Побережный. – Иркутск, 1989. – 190 с.
9. Яковлева Ю. Н. Оценка генотоксичности лигнинных веществ как факторов риска для водных экосистем / Ю. Н. Яковлева, Р. М. Островская, Л. Н. Новикова // Экология. – 2004. – № 4. – С. 1–5.
10. BJORSETH A. Determination of halogenated organic compounds and mutagenicity testing of spent bleach liquors / A. BJORSETH, G. CARLBERG, M. WOLLER // Sciens of Total Environment. – 1979. – Vol. 11(1). – P. 197–211.

The possibilities of hydrolytic lignin modification concerning its biological activity

Yu. N. Novitzkaya¹, R. M. Ostrovskaya², L. N. Novikova³

¹Irkutsk State Medical University, Irkutsk, ²Irkutsk State University, Irkutsk,

³Irkutsk State Agricultural Academy, Irkutsk

Abstract. The influence of hydrolytic lignin (HL) and products of its modification on molluscs and maize was investigated. The initial HL was found to possess toxicity and mutagenicity to molluscs and maize. The processing of HL by electrical gas discharge and electrohydraulic attack in water medium remove its toxic and mutagenic effects on both biological objects and promote appearance of growth-stimulate effect on maize. The observed HL positive effects after noted modifications possibly relate to decrease of its molecular weight and increase of acid groups content.

Key words: hydrolytic lignin, toxicity, mutagenicity, chromosomal aberrations, molluscs, maize, modification.

Новицкая Юлия Николаевна
Иркутский государственный медицинский университет
664003, г. Иркутск, Красного восстания, 1
ассистент
Островская Раиса Матвеевна
Иркутский государственный университет
664003, г. Иркутск, Сухэ-Батора, 5
доцент
тел. (3952) 24–19–27
E-mail: val@botdep.isu.ru

Novitzkaya Yulia Nikolaevna
Irkutsk State Medical University
1 Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003
assistant
Ostrovskaya Raisa Matveevna
Irkutsk State University
5 Sukhe-Bator St., Irkutsk, 664003
ass. prof.
phone: (3952) 24–19–27
E-mail: val@botdep.isu.ru

Новикова Любовь Николаевна
Иркутская государственная сельскохозяйственная академия
664038, г. Иркутск, пос. Молодежный, 1
доцент

Novikova Lyubov Nikolaevna
Irkutsk State Agricultural Academy
1 Molodezhny, Irkutsk, 664038
ass. prof.