

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВОДНОГО ЭКСТРАКТА СОЛОМЫ ОВСА (*AVENA SATIVA L.*) И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО РОСТОРЕГУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ

Р.Ю. Митрофанов, В.Н. Золотухин, В.В. Будаева

Учреждение Российской академии наук Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН

В статье приведены результаты по определению химического состава водного экстракта соломы овса и изучения росторегулирующей активности экстракта по отношению к важнейшим сельскохозяйственным культурам.

Ключевые слова: солома овса, водный экстракт, химический состав, ростостимулирующая активность.

ВВЕДЕНИЕ

Приоритетным направлением в области сельскохозяйственной биотехнологии всегда являлась комплексная переработка выращенного урожая. Внедрение комплексных технологий подразумевает переработку не только целевых продуктов, но и максимально эффективное использование вторичного сельскохозяйственного сырья. В настоящее время наблюдается огромный интерес к методам выработки целлюлозы из вторичного сельскохозяйственного сырья [1]. Однако наряду с целлюлозой, возможно получение дополнительных продуктов [2, 3], которые будут востребованы и потенциально снизят себестоимость целлюлозы. Применяя метод постепенного извлечения, можно добиться получения максимального количества ценных продуктов. Первым продуктом, образующимся при комплексной переработке вторичного сырья, является комплекс водорастворимых веществ. Водные экстракты, образующихся в ходе развития растения веществ ранее практически не исследовались. По своей природе это питательные вещества растения, «не успевшие стать» вторичными метаболитами. Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что комплекс этих веществ вероятнее всего будет являться эффективным стимулятором роста и развития растений [4].

Исследования росторегулирующей активности растворов, содержащих водорастворимые полисахариды, выделенные как из диких растений [5, 6], так и из отходов агропромышленного комплекса, в частности соломы и шелухи гречихи [7], показывают перспективные результаты.

Поэтому интерес представляют работы, направленные на исследование таких водорастворимых комплексов.

Целью настоящего исследования было изучение влияния водного экстракта соломы

овса на ростостимулирующую активность ряда ценных сельскохозяйственных культур.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектом исследования являлась солома овса, собранная в 2009 году в Бийском районе Алтайского края. Известно, что химический состав соломы меняется в зависимости от типа почвы и применяемых удобрений. По данным А.Р. Стейнифорта [8], в среднем в овсяной соломе содержится (% сухого вещества): целлюлозы – 41; гемицеллюлоз – 16; лигнина – 11; эфирорастворимых веществ – 2,1; водорастворимых веществ – 12,4; нерастворимой золы – 1,1.

Приготовление водного экстракта соломы (ВЭС)

В круглодонную колбу емкостью 4 л, снабженную обратным холодильником, помещали 138 г соломы и 3 л 0,2 М раствора соляной кислоты. Смесь оставляли для набухания при температуре 20-25 °С в течение 12 ч. По окончании выдержки кипятили в течение 4 ч, охлаждают и фильтровали. Получали 1,6 л экстракта оранжевого цвета (плотность 1,005 г/см³, концентрация сухих веществ 11 г/л, pH = 1).

Приготовление водного экстракта соломы (ВЭС (с))

В круглодонную колбу емкостью 2 л, снабженную обратным холодильником, помещали 50 г соломы и 1,5 л раствора спиртовой щелочи (1 %). Смесь кипятили в течение 6 ч, охлаждали и декантировали спиртовой раствор щелочного лигнина. Обработанную солому заливали 1 л 0,2 М соляной кислоты и кипятили 4 ч. По окончании охлаждали и фильтровали. Получали 1 л экстракта светло-оранжевого цвета (плотность 1,006 г/см³, концентрация сухих веществ 13 г/л, pH=1).

Целью работы являлось исследование химического состава водорастворимых комплексов соломы овса, полученных разными

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВОДНОГО ЭКСТРАКТА СОЛОМЫ ОВСА (*AVENA SATIVA L.*) И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО РОСТОРЕГУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ

методами и изучение их ростостимулирующей активности.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Способы получения экстрактов приведены на рисунке 1.

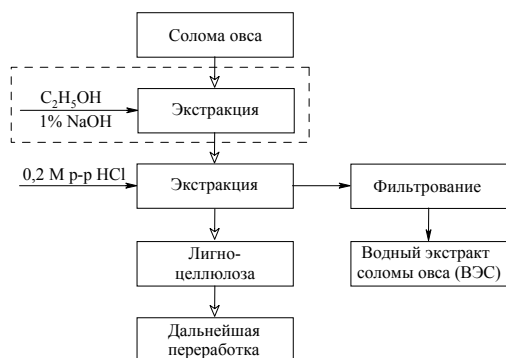


Рисунок 1. Способы получения экстрактов ВЭС

Экстракция водными растворами дает экстракты, содержащие весь комплекс водорастворимых веществ, находящихся в соломе. Водорастворимые вещества всех растений, а в частности соломы представлены несколькими классами веществ, которые являются питательными веществами растения. К ним относятся: олигосахариды, аминокислоты, неорганические соли, полифенолы различного строения, витамины и т.д.

Все эти соединения индивидуально отвечают за различные биохимические процессы, протекающие в клетке, а их сумма позволяет растению развиваться, сопротивляться болезням и т.д.

Перед проведением биологических испытаний был проведен анализ химического состава полученных экстрактов. Эксперимент проводился с целью установления наличия и определения концентраций групп веществ, обладающих биологической активностью индивидуально.

В ходе исследования было установлено, что массовая концентрация пектиновых веществ (М.к. П.В.) зависит от выбранного способа получения экстракта. В случае ВЭС М.к. П.В. колеблется около 0,55 г/л. В случае получения ВЭС (с) М. к. П.В. уменьшается и составляет около 0,28 г/л. Снижение содержания пектиновых веществ, по всей видимости, связано со спирто-щелочной обработкой соломы, в результате которой происходит нейтрализация свободных карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты с образованием натриевых солей и их частичной потерей.

Определение массовой концентрации редуцирующих сахаров проводили по методу Бертрана [9]. Было установлено, что массо-

вая концентрация восстанавливающих сахаров в ВЭС около 6,16 г/л, а ВЭС (с) – 2,22 г/л.

Снижение в ВЭС (с) массовой концентрации сахаров, по-видимому, связано с частичной их потерей при спирто-щелочной обработке, а так же протекающей реакции по альдегидной группе в щелочной среде.

Таблица 1

Массовая доля аминокислот в ВЭС

Аминокислота	Массовая доля, %
Аспарагин	0,096
Треонин	0,470
Серин	0,670
Глутамин	0,550
Пролин	0,000
Глицин	0,061
Валин	0,310
Метионин	0,042
Изолейцин	0,000
Лейцин	0,053
Тирозин	0,039
Фенилаланин	0,430
Гистидин	0,076
Лизин	0,030
Аргинин	0,040

Определение массовой доли аминокислот проводилось методом инфракрасной спектроскопии на приборе «Инфрарепид ИК-4500» (ВНР). Полученные данные сведены в таблицу 1.

Определение аминокислотного состава для ВЭС (с) не проводилось, по причине отрицательной нингидриновой пробы экстракта.

Микроэлементный состав определялся методом атомной абсорбции на атомно-абсорбционном спектрометре «Perkin-Elmer». Данные анализа сведены в таблицу 2.

Таблица 2

Микроэлементный состав ВЭС

Микроэлемент	Массовая концентрация, г/л
Зола	1,358
Кальций	0,172
Фосфор	0,034
Калий	0,360
Натрий	0,022
Магний	0,058
Железо	0,009
Марганец	0,250
Медь	0,200
Цинк	0,560

Массовая концентрация витаминов в водных экстрактах соломы определялась на высокоэффективном жидкостном хроматографе «Милихром-2» (Россия). Смесь содержала 36 компонентов, для сравнения был

взят образец РСО. Отнесение было проведено по времени удерживания. Результаты анализа сведены в таблицу 3.

Определения полифенольных соединений в соломе проводилось по методике определения флавоноидов в зеленой траве овса посевного, а также методике определения суммарных количеств флавоноидов в пересчете на 2"-О-арабинозид изоветоксина. Последняя методика подробно изложена в действующей ВФС для определения 2"-О-арабинозид изоветоксина в спиртовой настойке зеленой травы овса посевного. Она заключается в спектрофотометрировании извлечения при длине волны 338 нм и вычислении с использованием удельного показателя поглощения 2"-О-арабинозид изоветоксина – 353 нм.

Таблица 3

Массовая концентрация витаминов в ВЭС и ВЭС (с)

Витамин	Массовая концентрация, мг/мл	
	ВЭС	ВЭС (с)
Аскорбиновая кислота	0,0108	0,0062
Никотинамид	0,0277	0,0126
Пиридоксина гидрохлорид	0,0051	0,0048
Тиамин хлорид	0,0137	-
Кальций пантотенат	0,0006	0,00004
Фолиевая кислота	0,0015	0,0035
Рибофлавин	0,0101	-

Определенные массовые доли суммарных количеств флавоноидов в ВЭС и ВЭС (с) с использованием указанных методик приведены в таблице 4. Там же приведены результаты определения массовой доли флавонолов в пересчете на рутин, измерение которого заключается в спектрофотометрическом определении поглощения при длине волны 410-413 нм комплексов флавонолов с хлоридом алюминия и использованием калибровочного графика, построенного для комплекса рутина с хлоридом алюминия. Поскольку 2"-О-арабинозид изоветоксина хорошо растворим в воде и водно-спиртовых растворах, массовая доля этого флавоноида в количествах, близких для обоих экстрактов, согласуется с общими представлениями о содержании 2"-О-арабинозид изоветоксина в объектах исследования и соответствует количественному извлечению 2"-О-арабинозид изоветоксина из соломы.

Известно, что флавонолы плохо растворимы в воде и хорошо растворимы в водно-спиртовых растворах, особенно при нагревании. Как следует из результатов, приведен-

ных в таблице 4, флавонолы отсутствуют в ВЭС и присутствуют в ВЭС (с) в концентрации, достаточной для стимуляции роста семян.

Полученные данные о химическом составе показали, что водный экстракт соломы овса – это многокомпонентная система. Большинство содержащихся в экстракте веществ индивидуально обладают биологической активностью и являются стимуляторами роста.

Второй этап работы заключался в скрининге ростостимулирующей активности водного экстракта овса: всхожести семян, определении длины корневой и надземной частей растения. Время выполнения этого этапа – весна 2006 года.

В качестве рабочих растворов, использовались растворы ВЭС и ВЭС (с) с концентрацией сухих веществ от 0,01 % до 0,13 %.

Эксперимент по определению активности проводился на наиболее распространенных сельскохозяйственных культурах Алтайского края: овес, рапс, подсолнечник, томаты, огурцы, морковь, капуста. В качестве контрольных растворов сравнения использовалась дистиллированная вода (для всех культур) и раствор торфо-гуминового удобрения «Золото флоры» (для семян овса) в разведении 1:100 и нейтрализованного до pH ≈ 7. Растворы ВЭС готовили нейтрализацией экстракта концентрированным раствором аммиака до pH ≈ 7, с последующим разбавлением до необходимого содержания сухих веществ. Экспериментальные данные сводились в таблицы. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили по методам малой выборки.

Для установления наиболее активных концентраций были взяты семена овса и определена их всхожесть [10] при обработке растворами всего диапазона концентраций. Экспериментальные данные сведены в таблицу 5.

Полученные результаты показывают, что наиболее активными растворами из серии являются растворы с концентрацией от 0,03 % до 0,07 %. Всхожесть семян овса после обработки выше контроля. Кроме того, растворы с концентрацией 0,03 % и 0,05 % не намного менее активны в сравнении с серийно выпускаемым удобрением. Так же, было отмечено, что при обработке раствором с концентрацией 0,03 % общее развитие растения опережает торфо-гуминовое удобрение. Показатели для ВЭС (с) по всхожести выше контроля, но ниже этого показателя для удобрения, однако общее развитие растения в диапазоне 0,03-0,07 % значительно опережает действие удобрения.

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВОДНОГО ЭКСТРАКТА СОЛОМЫ ОВСА (*AVENA SATIVA L.*) И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО РОСТОРЕГУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ

Таблица 4

Массовая доля флавоноидов и флавонолов в ВЭС и ВЭС (с)

Флавоноиды, %	ВЭС	ВЭС (с)	Погрешность метода ϵ , %
Сумма флавоноидов в пересчете на 2 ^н -О-арабинозид изоветоксина	0,060	0,055	$\pm 3,95$
Сумма флавонолов в пересчете на рутин	0,000	0,003	$\pm 2,60$

Таблица 5

Зависимость всхожести семян овса, длины корневой и надземной частей от обработки растворами ВЭС различной концентрации сухих веществ

Раствор	Концентрация с.в., %	Всхожесть, X, % к контролю	Длина, см	
			корня	надземной части
Вода (контроль)		100	4,54 \pm 1,49	4,35 \pm 1,39
Удобрение		108	5,28 \pm 1,04	4,25 \pm 0,49
ВЭС	0,01	99	3,31 \pm 0,88	5,25 \pm 1,37
	0,03	106	7,27 \pm 1,37	5,05 \pm 1,37
	0,05	107	4,90 \pm 1,32	5,02 \pm 1,28
	0,07	101	4,67 \pm 1,01	3,78 \pm 0,94
	0,09	87	3,66 \pm 0,26	2,1 \pm 0,00
	0,11	85	2,74 \pm 1,54	1,68 \pm 1,26
	0,13	79	2,34 \pm 0,89	0,64 \pm 0,48
ВЭС (с)	0,01	99	6,50 \pm 1,07	5,22 \pm 1,12
	0,03	103	6,20 \pm 1,15	5,16 \pm 1,01
	0,05	101	7,70 \pm 1,31	5,24 \pm 1,20
	0,07	102	7,10 \pm 1,20	3,20 \pm 0,59
	0,09	99	5,00 \pm 1,02	2,89 \pm 0,52
	0,11	94	4,62 \pm 0,74	2,23 \pm 0,63
	0,13	89	4,25 \pm 1,12	1,52 \pm 0,54

Таблица 6

Зависимость всхожести семян рапса, длины корневой и надземной частей от обработки растворами ВЭС различной концентрации сухих веществ (с.в.)

Раствор	Концентрация с.в., %	Всхожесть, X, % к контролю	Длина, см	
			корня	надземной части
Вода (контроль)		100	4,54 \pm 1,49	4,35 \pm 1,39
ВЭС	0,03	99	4,90 \pm 0,60	3,65 \pm 0,97
	0,05	101	4,32 \pm 1,30	3,72 \pm 1,08
	0,07	97	5,84 \pm 1,02	5,12 \pm 1,14
ВЭС (с)	0,03	103	4,45 \pm 0,73	6,20 \pm 1,51
	0,05	108	4,36 \pm 0,90	5,45 \pm 1,07
	0,07	101	4,83 \pm 1,18	4,52 \pm 1,12

Таблица 7

Зависимость всхожести семян подсолнечника, длины корневой и надземной частей от обработки растворами ВЭС различной концентрации сухих веществ

Раствор	Концентрация с.в., %	Всхожесть, X, % к контролю	Длина, см	
			корня	надземной части
Вода (контроль)		100	5,64 \pm 1,30	6,22 \pm 1,17
ВЭС	0,03	97	5,30 \pm 1,03	4,92 \pm 1,09
	0,05	98	8,09 \pm 1,41	5,92 \pm 1,18
	0,07	91	7,57 \pm 1,32	7,15 \pm 1,04
ВЭС (с)	0,03	93	7,40 \pm 1,28	6,13 \pm 0,91
	0,05	97	7,27 \pm 1,36	5,39 \pm 0,82
	0,07	102	6,10 \pm 1,05	5,77 \pm 1,07

Таблица 8

Зависимость всхожести семян огурца, длины корневой и надземной частей от обработки растворами ВЭС различной концентрации сухих веществ

Раствор	Концентрация с.в., %	Всхожесть, X, % к контролю	Длина, см	
			корня	надземной части
Вода (контроль)		100	7,68±1,50	4,34±1,66
ВЭС	0,03	100	8,32±1,19	5,86±1,41
	0,05	100	5,60±0,82	3,32±0,64
	0,07	103	5,78±1,33	5,38±1,58
ВЭС (с)	0,03	39	7,18±1,23	5,96±1,64
	0,05	68	8,50±1,46	5,54±1,22
	0,07	70	7,76±1,25	4,64±1,39

Таблица 9

Зависимость всхожести семян томата, длины корневой и надземной частей от обработки растворами ВЭС различной концентрации сухих веществ

Раствор	Концентрация с.в., %	Всхожесть, X, % к контролю	Длина, см	
			корня	надземной части
Вода (контроль)		100	6,62±1,67	2,94±1,79
ВЭС	0,03	114	6,54±1,65	5,06±1,19
	0,05	76	5,86±1,02	4,06±0,68
	0,07	57	1,88±0,38	1,66±0,61
ВЭС (с)	0,03	132	7,48±1,19	6,06±0,61
	0,05	150	5,34±1,19	4,88±1,33
	0,07	95	5,98±1,46	3,96±1,23

Таблица 10

Зависимость всхожести семян капусты, длины корневой и надземной частей от обработки растворами ВЭС различной концентрации сухих веществ

Раствор	Концентрация с.в., %	Всхожесть, X, % к контролю	Длина, см	
			корня	надземной части
Вода (контроль)		100	3,38±1,18	3,96±1,94
ВЭС	0,03	94	3,04±0,33	3,86±0,55
	0,05	88	3,49±0,67	3,40±0,96
	0,07	102	3,14±0,46	4,84±1,41
ВЭС (с)	0,03	118	4,22±0,84	5,34±1,92
	0,05	118	4,04±0,64	5,00±1,82
	0,07	119	3,48±0,50	5,24±1,27

Таблица 11

Зависимость всхожести семян моркови, длины корневой и надземной частей от обработки растворами ВЭС различной концентрации сухих веществ

Раствор	Концентрация с.в., %	Всхожесть, X, % к контролю	Длина, см	
			корня	надземной части
Вода (контроль)		100	2,82±0,70	3,14±0,66
ВЭС	0,03	126	1,30±0,57	1,52±0,93
	0,05	104	1,88±0,45	1,76±0,33
	0,07	111	1,50±0,67	2,26±0,83
ВЭС (с)	0,03	121	2,22±0,67	2,22±0,96
	0,05	124	2,00±0,51	2,30±0,65
	0,07	116	1,72±0,55	2,94±0,45

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ВОДНОГО ЭКСТРАКТА СОЛОМЫ ОВСА (*AVENA SATIVA L.*) И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО РОСТОРЕГУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ

При обработке семян овса растворами с концентрацией сухих веществ 0,09 %, 0,11 % и 0,13 % наблюдалось нарастающее ингибирование как всхожести, так и общего развития растения.

Для определения активности на промышленных культурах были взяты растворы, активность которых превышала контрольные цифры (0,03-0,07 %).

Результаты экспериментов сведены в таблицы 6-11.

При обработке ВЭС, всхожесть рапса колебалась около контрольных значений. Общее развитие растения так же находилось в пределах контроля. Единственным раствором, активность которого была выше значения для удобрения, был раствор с концентрацией сухих веществ 0,07 %, однако всхожесть его составила 97 %. Чуть лучшие результаты на всхожесть рапса показали, растворы ВЭС (с), значения во всех случаях находились выше контроля. При обработке ВЭС (с) наблюдается более выраженная стимуляция роста надземной части, все показатели выше контрольных цифр, как для воды, так и для удобрения.

Всхожесть подсолнечника при обработке ВЭС была ниже контроля. При обработке ВЭС (с) только раствор с концентрацией с.в. 0,07 % показал результат 102 %. Во всех случаях развитие корневой системы и побега были выше контрольных значений, с преобладанием ризогенной активности. Максимум ризогенной активности наблюдалась при обработке ВЭС с концентрацией 0,05 % с.в.

Всхожесть огурца в случае ВЭС превысила контрольные значения только при обработке раствором с концентрацией 0,07 %. В случае ВЭС (с) минимум всхожести показал раствор с концентрацией 0,03 %. Общее развитие растения находилось на довольно высоком уровне с уклоном в корнестимулирование, максимальные значения которого были отмечены на растворах ВЭС 0,03 % и ВЭС (с) 0,05 %.

Всхожесть томата только для раствора ВЭС 0,03 % превысила контрольные значения. Максимум всхожести показал раствор ВЭС (с) с концентрацией 0,05 %, для этого раствора всхожесть составила 150 %. Общее развитие растения оставалось на высоком уровне, кроме эксперимента с раствором ВЭС концентрации 0,07 %.

Всхожесть капусты во всех экспериментах была на одном уровне с контролем и только в случае ВЭС (с) превышала контроль. Общее развитие растения значительно отставало от других культур. При обработке растворами ВЭС и ВЭС (с) наблюдается уклон в сторону образования надземной час-

ти. В некоторых случаях эти значения выше контроля.

Всхожесть моркови при обработке в целом выше контроля, однако полученные результаты показывают, что растворы ВЭС и ВЭС (с) проявляют ингибирующее действие на развитие растения.

ВЫВОДЫ

Полученные данные о химическом составе показали, что большинство содержащихся в экстракте веществ индивидуально обладают биологической активностью и являются стимуляторами роста.

Установлено, что раствор водного экстракта соломы овса обладает ростостимулирующей активностью. При концентрации сухих веществ в экстракте от 0,09 % до 0,13 % наблюдается ингибирующее действие.

Растворы водного экстракта соломы овса с концентрациями: 0,03 % обладают ризогенной активностью; 0,01 % усиливают рост надземной части; 0,05 % обеспечивают равномерное развитие растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Budaeva V., Zolotuhin V., Mitrofanov R. et al. // Journal of Mountain Agriculture in the Balkans– Bulgaria. – Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan – vol. 12, Number 5, 2009 – P. 1027-1039.
2. Мотина Е.В., Митрофанов Р.Ю., Будаева В.В. // Ползуновский вестник. – Барнаул: Изд-во АлГТУ им И.И. Ползунова. – 2006. – № 4-2. – С. 471-476.
3. Золотухин В.Н., Васишлин М.С., Будаева В.В. // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы III Всероссийской конференции, Барнаул, 23-27 апреля 2007 года – Барнаул: Изд-во АГУ, 2007. Кн. 3. – С. 42–46.
4. Обручева Н.В. // Физиология растений, 1977. – Т. 44, № 2. – С. 287-302.
5. Оводов Ю.С. // Биоорганическая химия, 1998. – Т.24, №7. – С. 483-501.
6. Елькина Е.А. и др. // Химия растительного сырья. – 2002. – № 2. – С. 105-109.
7. Анисимов М.М., Логачева В.В., Демина Е.А., // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: материалы Всероссийского семинара, Барнаул, Изд-во АГУ, 2005. – С. 321–324.
8. Стейнифорт А.Р. Солома злаковых культур: пер. с англ. М.: Колос., 1983.
9. ГОСТ 13192-73. Вина, виноматериалы и коньяки. Метод определения сахаров. –М.: Изд-во стандартов, 1973. – 14 с.
10. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. М.: Изд-во стандартов, 1985.