

УДК 577.115–54.03

Превращения липидов при механохимической деструкции лечебной грязи

Н. В. ЮДИНА, И. В. ПРОЗОРОВА, А. А. ИВАНОВ, В. Н. БУРКОВА

*Институт химии нефти Сибирского отделения РАН,
проспект Академический, 3, Томск 634021 (Россия)**E-mail: nata@ipc.tsc.ru*

(Поступила 10.06.09; после доработки 30.10.09)

Аннотация

Изучено влияние механохимической активации лечебной грязи в планетарной мельнице АГО-2 на степень диспергирования, выход свободных и связанных липидов и содержание в них β -каротина и антиоксидантов. Показано, что после механохимической активации органоминерального сырья в планетарной мельнице в присутствии ортофосфорной кислоты количество экстрагируемых свободных липидов существенно увеличивается за счет высвобождения части связанных липидов. Установлено повышение содержания в липидах β -каротина и антиоксидантов.

Ключевые слова: лечебная грязь, механохимическая активация, липиды, каротиноиды, антиоксиданты

ВВЕДЕНИЕ

Органическое вещество лечебной грязи, сформированное в результате трансформации фито- и зоопланктона, содержит липиды. В современных осадках липиды находятся в свободной и связанной формах. Последняя представлена липидами, сорбированными минеральной матрицей (карбонатными, алюмосиликатными липидами) и химически связанными с протокерогеном (гидролизованными) [1–4]. В состав липидов могут входить спирты, жирные кислоты, сложные эфиры, азотистые основания, предельные и непредельные углеводороды, хлорофиллы, каротиноиды, фосфорная кислота и т. п. Отдельные классы и группы липидов (фосфолипиды, глицеролипиды, каротиноиды, углеводороды) обладают высокой биологической и антиоксидантной активностью [5–9], способствующей удалению токсичных радикальных продуктов перекисного окисления и, тем самым, предотвращению развития патологий в живых организмах. Связанные липиды, не подвергающиеся на ранних стадиях осадконакоп-

ления биохимическим преобразованиям, служат дополнительным источником ценных биологически активных веществ. Для их выделения используют щелочные и кислотные реагенты, которые оказывают существенное влияние на химический состав и антиоксидантные свойства липидов. В связи с этим необходим поиск новых, эффективных методов выделения связанных липидов.

Создание высокоэнергетических механоактиваторов позволило проводить измельчение органоминерального сырья до микро- и наноразмерных частиц, в ходе которого происходит разрушение минеральной матрицы и высвобождение внутриклеточных структур. Механохимическая активация способствует увеличению эффективной поверхности контакта между компонентами дисперсных систем, уменьшению диффузионных затруднений за счет нарушения морфологии сырья и создает условия для активного протекания химического превращения целевых веществ в формы, легко растворимые в воде или другом растворителе, что облегчает экстракцию [10, 11]. Высокая эффективность физических

воздействий позволяет управлять их превращениями в широком диапазоне и получать продукты с заданными свойствами [12, 13]. Изучение изменений состава и свойств липидов представляет самостоятельный интерес в плане использования липидов в качестве источника биологически активных веществ и создания на их основе препаратов физиологического действия [14, 15].

Цель данной работы – изучение химических превращений липидов при механохимической активации лечебной грязи.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования выбрана лечебная грязь оз. Тухлое (Новосибирская обл.), содержащая 20 % карбонатов и 80 % глины. Органоминеральное сырье предварительно высушивали до влажности 5–8 % и измельчали до размера частиц 1–3 мм. Механоактивацию (МА) проводили в мельнице планетарного типа АГО-2 (разработка ИХТТМ СО РАН, Новосибирск) при ускорении воздействующих тел g , равном 200 и 400 м/с². Загрузка исследуемого вещества составляла 50 г, масса шаров диаметром 8 мм – 250 г, время обработки – 1–5 мин. Обработку грязи в планетарной мельнице проводили в присутствии кварцевого песка для предотвращения слипания частиц, происходящего при выделении воды. В качестве гидролизующего реагента при МА лечебной грязи использовали ортофосфорную кислоту (1–5 мас. %).

Электронно-микроскопический анализ проводился с использованием просвечивающего электронного микроскопа LIBRA 120 фирмы Zeiss (Германия), ускоряющее напряжение 80–120 000 В. Размер частиц измеряли с помощью мягкой неразрушающей абляции под действием терагерцового излучения лазера на свободных электронах и диффузионного спектрометра аэрозоль [16].

Липиды из лечебной грязи выделены трехкратной экстракцией смесью растворителей спирт – хлороформ в соотношении 1 : 1 при перемешивании и нагревании на водяной бане до температуры 30 °С [17]. После этого образец грязи обрабатывали водным раствором соляной кислоты (1 : 1). Липиды, связанные с

минеральной матрицей, извлекали из высушенного осадка по методике, описанной в работе [18].

Содержание β -каротина в липидах из органоминерального сырья определяли по оптической плотности на спектрофотометре при длине волны $\lambda = 450$ нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм при калибровке по стандартному β -каротину [19].

Методом потенциометрического титрования определено количество карбоксильных групп, содержащихся в свободных и связанных липидах [17].

Содержание антиоксидантов (АО) в свободных и связанных липидах определяли кинетическим методом на основе модельной реакции инициированного окисления кумола [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С использованием метода мягкой неразрушающей абляции исследовано влияние времени МА органоминерального сырья на размеры частиц. Установлено, что после обработки в течение 1–5 мин размеры частиц лечебной грязи изменяются от 150 до 25 нм. Наличие наноразмерных частиц подтверждено методом электронной микроскопии.

На рис. 1 приведены данные о влиянии продолжительности МА органоминерального сырья на количество извлекаемых свободных и связанных липидов. Видно, что из лечебной грязи, измельченной до размера 1 мм, при использовании органических растворителей выделяется 0.22 мас. % свободных липидов, а после их обработки соляной кислотой –

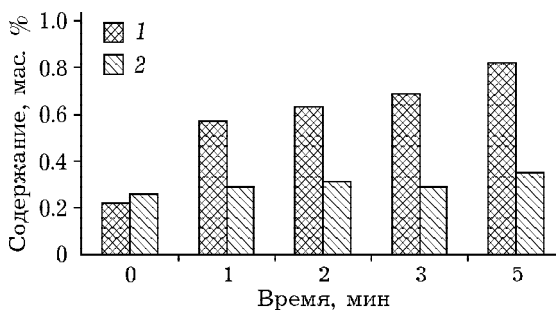


Рис. 1. Влияние продолжительности механоактивации органоминерального сырья в присутствии кварцевого песка на содержание свободных (1) и связанных (2) липидов.

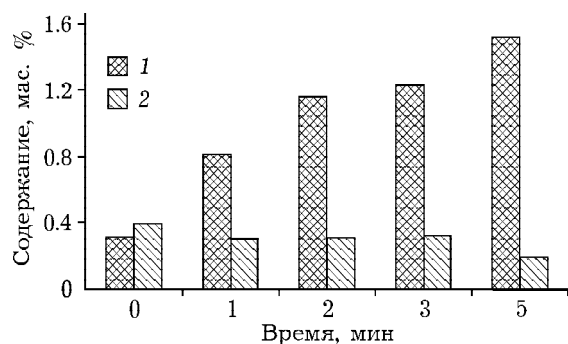


Рис. 2. Влияние продолжительности механоактивации органоминерального сырья в присутствии кварцевого песка и ортофосфорной кислоты на содержание свободных (1) и связанных (2) липидов.

0.26 мас. % связанных липидов. При увеличении времени МА от 1 до 5 мин количество свободных липидов возрастает в четыре раза, что связано с уменьшением размера частиц сырья до 25–37 нм. Выход липидов, связанных с минеральной матрицей, практически не зависит от времени обработки лечебной грязи.

Для сравнительной оценки влияния механохимической кислотной обработки на степень извлечения липидов из органоминеральных отложений проведена их предварительная обработка ортофосфорной кислотой. Установлено, что в результате предварительной обработки выход свободных липидов возрастает до 0.32 мас. %, выход связанных липидов – до 0.39 мас. % (рис. 2). Следует отметить, что после МА лечебной грязи в присутствии ортофосфорной кислоты значительно повышается количество экстрагируемых свободных липидов. С увеличением времени обработки их выход возрастает в несколько раз. В механоактивированных образцах с высоким содержанием свободных липидов снижается количество связанных липидов, перешедших в

ТАБЛИЦА 1

Влияние времени механоактивации (МА) органоминерального сырья на содержание СООН-групп в свободных и связанных липидах

Условия обработки	Содержание, мг-экв/г, в липидах	
	свободных	связанных
Без МА	6.2	11.3
Без МА + H_3PO_4	7.9	13.5
МА, 5 мин	10.8	14.9
МА + H_3PO_4 , 5 мин	12.5	17.8

свободную форму за счет разрыва химических связей, в том числе сложноэфирных, с минеральными компонентами. Нами определено содержание карбоксильных групп в липидах (табл. 1). Видно, что в составе свободных липидов повышается количество соединений кислотного характера. Полученные результаты согласуются с данными модельных экспериментов [21], которые подтверждают склонность карбонатов к адсорбции преимущественно жирных кислот. Как следствие, в связанных липидах преобладают соединения кислого характера.

В липидах озерных отложений содержатся каротиноиды, ксантофиллы, тетрапиррольные пигменты (до 4 мас. %), определяющие биологическую активность липидов лечебной грязи [7]. Вследствие ненасыщенности молекул эти соединения нестабильны и подвергаются глубокому биохимическому превращению при захоронении в осадках. Менее подвержены внешнему воздействию (химическому, физическому или микробиологическому) липидные компоненты, связанные с протокерогеновой матрицей. Нами исследовано влияние МА на количество экстрагируемых каротиноидов. На рис. 3 приведены данные по содержанию β -каротина в свободных липидах после МА органоминерального сырья. Видно, что при МА сырья в течение 2–3 мин в присутствии ортофосфорной кислоты происходит максимальное (в 3–5 раз) увеличение его количества в свободных липидах. Дальнейшая обработка сырья (до 5 мин) приводит к уменьшению содержания β -каротина, что, по-видимому, связано с их деструкцией.

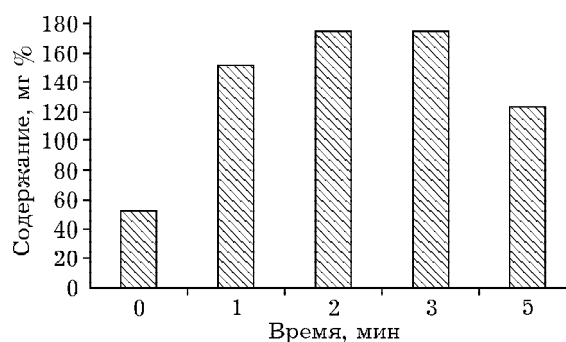


Рис. 3. Влияние продолжительности механоактивации органоминерального сырья в присутствии кварцевого песка и ортофосфорной кислоты на содержание в липидах β -каротина.

ТАБЛИЦА 2

Влияние механоактивации (МА) лечебной грязи на содержание антиоксидантов в свободных и связанных липидах

Условия обработки	Содержание, моль/кг, в липидах	
	свободных	связанных
Без МА	0.18	0.05
Без МА + H ₃ PO ₄	0.21	0.06
МА, 1 мин	0.34	0.10
МА, 3 мин	0.31	0.12
МА, 5 мин	0.27	0.10
МА + H ₃ PO ₄ , 3 мин	0.35	0.14

Известно, что в составе липидов многих живых организмов имеются ингибиторы радикально-цепных процессов окисления, которые наследуются осадочным материалом и преобразуются на разных стадиях образования органоминеральных отложений [20]. К АО, обрывающим цепи окисления за счет взаимодействия с пероксидными радикалами, относятся соединения с функциональными группами, содержащими подвижный атом водорода (–ОН, –NH, –SH).

В свободных липидах, выделенных из лечебной грязи, содержание АО составляет 0.18 моль/кг (табл. 2). Кислотная обработка сырья без МА практически не влияет на содержание АО, а диспергирование в течение 1–3 мин приводит к увеличению их количества почти в два раза. Максимальное содержание АО в свободных и связанных липидах отмечается при МА лечебной грязи в присутствии ортофосфорной кислоты.

Очевидно, в результате МА происходит разрыв водородных связей между отдельными компонентами в липидных молекулах и высвобождение групп –ОН и –NH. Увеличение продолжительности диспергирования сырья до 5 мин приводит к снижению количества АО, по-видимому, за счет их взаимодействия с активными радикалами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что в зависимости от условий механохимической активации размер частиц измельченного органоминерального сырья достигает десятков нанометров. Выход свободных липидов при экстракции механо-

активированного органоминерального сырья в присутствии кварцевого песка и ортофосфорной кислоты возрастает в 3–6 раз и зависит от времени обработки. Сравнительный анализ результатов кислотной и механической обработки лечебной грязи позволяет предположить, что увеличение содержания связанных липидов происходит за счет разрыва сложноэфирных связей и выделения их из протокерогеновой матрицы в виде соединений кислотного характера. При этом содержание в липидах β-каротина и антиоксидантов возрастает.

Работа выполнена при поддержке ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники на 2007–2012 годы» (гос. контракт № 02.523.12.3003 от 20.08.07).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Чешкова Т. В., Сагаченко Т. А., Бушнев Д. А., Бурдельная Н. С. // Изв. ТПУ. 2009. Т. 314, № 3. С. 111–117.
- 2 Leenheer M. J., Meyers P. A. Comparison of Lipid Compositions in Marine and Lacustrine Sediments // *Advances in Organic Geochemistry* / M. Bjoroy (Ed.). Chichester, 1981. P. 309–316.
- 3 Collister J. W., Schamel S. Lipid Composition of Recent Sediments from the Great Salt Lake // *Great Salt Lake. An Overview of Change*. Utah Geological Survey Publication. 2002. P. 128–142.
- 4 Stefanova M., Disnar J. R. // *Org. Geochem.* 2000. Vol. 31. P. 41–55.
- 5 Скаун Н. П., Шманько В. В., Охримович Л. М. Клиническая фармакология гепатопротекторов. Тернополь: Збруч, 1995. 270 С.
- 6 Шустов Л. П. Экстракты иловой сульфидной грязи и их лечебное применение. Томск: Изд-во ТПУ, 1996. 181 С.
- 7 Буркова В. Н. Липиды внутриконтинентальных субаквальных отложений и их роль в формировании нефтей неморского типа: Автореф. дис. ... докт. хим. наук. Томск: ТПУ, 1998. 45 С.
- 8 Ступникова Н. А. // *Вестн. ДВО РАН.* 2006. № 5. С. 95–100.
- 9 Юдина Н. В., Писарева С. И., Саратиков А. С. Противоязвенная активность фенольных соединений торфа // *Сб. тр. междунар. научн. конф.* Томск: ЦНТИ, 2000. С. 72.
- 10 Ломовский О. И., Иванов А. А., Рожанская О. А., Юдина Н. В., Королев К. Г. // *Химия уст. разв.* 2004. Т. 12, № 3. С. 355–361.
- 11 Ломовский О. И., Болдырев В. В. Механохимия в решении экологических задач: анал. обзор // *Сер. Экология.* Вып. 79. Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 2006. 221 С.
- 12 Болдырев В. Экспериментальные методы в механохимии твердых неорганических веществ. Новосибирск: Наука, 1983. 65 С.
- 13 Авакумов Е. Г. Механохимические методы активации химических процессов. Новосибирск: Наука, 1986. 305 С.
- 14 Юдина Н. В., Писарева С. И., Саратиков А. С. Липиды гумусовой природы: состав, свойства и биологическая активность // *Междунар. научн. конф.* «По-

- иск, разработка и внедрение новых лекарственных средств". Томск: ЦНТИ, 2000. С. 72–74.
- 15 Торф в народном хозяйстве / под ред. Б. Н. Соколова. М.: Недра, 1988. 265 С.
- 16 Petrov A. K., Kozlov A. S., Malyshkin S. B. et al. // Nuclear Instr. Meth. Phys. Res. Section A. 2007. Vol. 575, No. 1–2. P. 68–71.
- 17 Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1985. 333 С.
- 18 Робинсон В. Е. Органическая геохимия. Л.: Недра, 1974. 487 с.
- 19 ФС 42-3867-99. β -каротин.
- 20 Большаков Г. В., Буркова В. Н., Писарева С. И., Сидоренко А. А. // ДАН. 1991. Т. 316, № 5. С. 1205–1208.
- 21 Suess E. // Geochim. Cosmochim. Acta. 1970. № 34. P. 157–168.