

УДК 636.087.7:549.67:546.23:546.15

Модифицирование природных цеолитовых туфов Мухор-Талинского месторождения органическими комплексами селена и йода

С. В. ХОНИХОЕВА¹, С. Д. ЖАМСАРАНОВА¹, Е. В. СОРДОНОВА¹, Э. Л. ЗОНХОЕВА²¹Восточно-Сибирский государственный технологический университет,
ул. Ключевская, 40в, Улан-Удэ 670013 (Россия)

E-mail: sajana_85@mail.ru

²Геологический институт Сибирского отделения РАН,
ул. Сахьяновой, 6 а, Улан-Удэ 670047 (Россия)

E-mail: elis@geo.stbur.ru

(Поступила 18.04.11; после доработки 20.10.11)

Аннотация

Получены хелатные комплексы ионов селена и йода с пептидами белка эластина. Исследованы параметры сорбции селен- и йодсодержащих хелатных комплексов эластина на природных цеолитовых туфах в зависимости от концентрации хелатного комплекса и времени контакта хелатного комплекса с туфом.

Ключевые слова: селен, йод, белковый гидролизат, хелатные комплексы, цеолитовый туф

ВВЕДЕНИЕ

Микроэлементы поддерживают равновесие и согласованность основных регуляторных систем клеток организма, поскольку участвуют в сложном биохимическом обмене веществ, входя в целый ряд ферментов, коферментов и гормонов. Особое место среди микроэлементов занимают селен и йод, которые оказывают положительное влияние на функциональную активность щитовидной железы – регулятора многих процессов в живом организме. Йод и селен функционально связаны между собой, поскольку последний входит в состав фермента йодтирониндейодиназы, обеспечивающей трансформацию тироксина в трийодтиронин. Недостаток в организме этих микроэлементов может провоцировать йододефицитные состояния, в первую очередь, эндемический зоб. Одновременный дефицит йода и селена приводит к более сильному гипотиреодизму, чем дефицит только одного йода, поэтому

обеспеченность этими микроэлементами животных и человека имеет большое значение.

Для восполнения микроэлементов применяют их неорганические формы. Однако соли минеральных веществ усваиваются в желудочно-кишечном тракте животных неполностью. Повышение биодоступности микроэлементов – одна из актуальных задач в животноводстве. Для полного и безопасного усвоения микроэлементов используют хелатные соединения биогенных элементов с органическими лигандами [1].

Особый интерес представляют соединения металлов с аминокислотами, пептидами. Известно, что при образовании таких соединений наблюдаются изменения их химических и биологических свойств, причем ионы металлов в сочетании с аминокислотами становятся менее токсичными и могут катализировать различные биохимические процессы. Кроме того, высокая эффективность применения органических форм микроэлементов, их пол-

ноценная усвояемость в живом организме позволяют сократить дозы кормовых добавок в 3–4 раза. В результате такого подхода значительно сокращается концентрация микроэлементов в побочной продукции животноводства, что существенно снижает загрязнение окружающей среды. В связи с высокими экологическими требованиями в странах с развитым животноводством (США, Германия, Франция) активно ведутся работы по введению хелатов в кормовой рацион [2].

Способы доставки биологически активных веществ в организм разнообразны. В качестве носителя можно использовать природные цеолиты. Алюмосиликатный химический состав, включающий в качестве обменных ионов катионы щелочных и щелочноземельных металлов, вкуче с пористой каркасной наноразмерной структурой, определяющей молекулярно-ситовые свойства, придают им адсорбционные, ионообменные и каталитические свойства. Благодаря этому, цеолиты приобретают биологическую активность, которая способствует устранению дисбаланса пищевых продуктов по макро- и микроэлементному составу и значительному улучшению большинства жизненно важных функций организма [3].

Ранее нами исследовалась сорбция неорганической формы ионов селена на природных цеолитах [4]. Цель данной работы – получение хелатных комплексов селена и йода с гидролизатом белка эластина и изучение сорбции полученных органических соединений природными цеолитовыми туфами в зависимости от различных факторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Гидролизат белка эластина получен методом биотрансформации нативного белка эластина [5] и представляет собой жидкость желтого цвета, содержащую преимущественно смесь низкомолекулярных пептидов с рН 7.8. Концентрация пептидов в гидролизате равна 20 мг/мл.

Для получения комплекса, содержащего йод и селен в связанных формах, растворы гидролизатов смешивали с данными микроэлементами в объемном соотношении 1 : 1. Степень связывания селена и йода с гидролизатом белка эластина определяли по кон-

центрации микроэлементов в исследуемых образцах, а также ИК-спектроскопическим методом. Неорганические формы солей селена и йода отделяли от связанных форм методом диализа в постоянном токе воды через полупроницаемую мембрану. Анализ селена проводили с использованием флюорометрического метода на приборе “Флюорат-02” согласно МУК 04-33-2004; концентрацию йода определяли кинетическим роданидно-нитритным методом [6].

В экспериментах по исследованию сорбции полученного хелатного комплекса белкового гидролизата с микроэлементами в качестве сорбента использовали цеолитовый туф Мухор-Талинского месторождения (Бурятия) (ТУ 2163-003-12763074-97) с диаметром частиц 1–3 мм. Туфы имели следующий химический состав, мас. %: SiO₂ 66.00, TiO₂ 0.99, Al₂O₃ 9.52, Fe₂O₃ 0.48, MnO 0.02, CaO 3.05, Na₂O 1.78, K₂O 1.98, P₂O₅ 0.04. Содержание цеолита в образцах составляло 80 мас. %, в качестве примесных минералов присутствовали кварц, кристобалит, слюда и вулканическое стекло. Согласно “Наставлениям по применению природных цеолитов” (1992 г.), размеры частиц цеолита для птиц составляли 1–3 мм. Исследование сорбции хелатного комплекса туфом проводили при различных соотношениях жидкой и твердой фаз. Концентрацию сорбированного соединения определяли по разности концентрации селена и йода в растворе.

Нами проводилась иммобилизация ионов селена на гидролизате белка эластина при рН 9.0 и температуре 18–20 °С путем внесения водного раствора селенита натрия с концентрацией 0.001 моль/л (рис. 1). Среда гидролизата щелочная, что обеспечивает реакционную способность селенит-иона [7].

Инкубацию проводили через каждый час в течение 16 ч, после каждой инкубации связанные формы селена и растворимые в воде неорганические соли разделяли методом диализа в течение 24 ч. Максимальная концентрация связанного селена наблюдалась через 4 ч инкубации, при этом концентрация селена составляла 1 мкг/мл. Через 7 ч концентрация связанного селена достигла постоянного значения (0.65 мкг/мл).

Взаимодействие микроэлементов с ферментативными гидролизатами белков не яв-

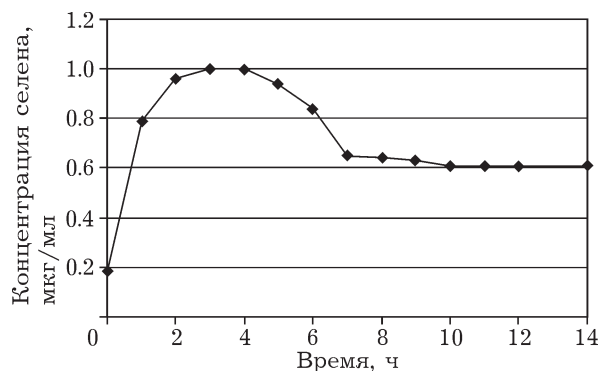


Рис. 1. Зависимость концентрации селена, связанного с гидролизатом эластина, от продолжительности инкубации.

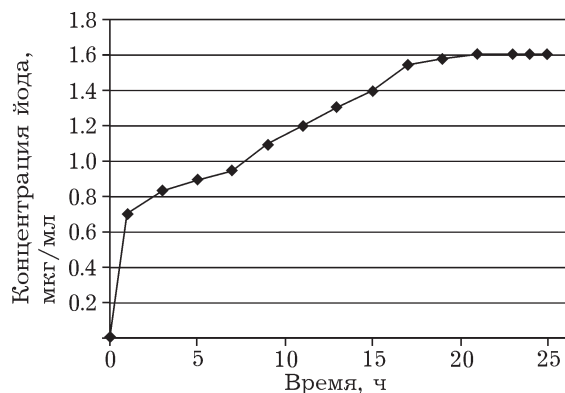
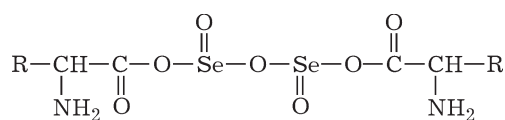


Рис. 3. Зависимость концентрации йода, связанного с гидролизатом эластина, от продолжительности инкубации.

ляется простым смешиванием, а представляет собой сложный физико-химический процесс, который сопровождается изменением структуры исходных гидролизатов.

Известно, что селен присутствует в белковых растворах в виде димера $-O-SeO-O-SeO-O-$, который связывает две свободные карбоксильные группы по типу соединения металлов с органическими веществами. Появление полосы поглощения при 1361.3 см^{-1} в ИК-спектре комплекса селен – гидролизат белка эластина, по нашему мнению, обусловлено встраиванием селенит-иона в структуру пептидов в виде димерного мостика $Se_2O_3^{2-}$, который связывает свободные карбоксильные группы COO^- гидролизата эластина [8] (рис. 2). Связывание димера селена с пептидами эластина может происходить по схеме



Параллельно с иммобилизацией селена на гидролизат эластина нами изучено связывание с белковым гидролизатом йодид-ионов (рис. 3). Установлено, что через 24 ч максимальная степень связывания йодид-ионов достигает 99.8%; при увеличении времени до 26 ч концентрация сорбированного соединения не изменилась. Это указывает на постепенный характер связывания йодид-ионов пептидами, при этом микроэлемент ориентируется на развернутые и доступные участки гидролизата эластина. На основе экспериментальных данных выбран регламент обработки гидролизата эластина водным раствором

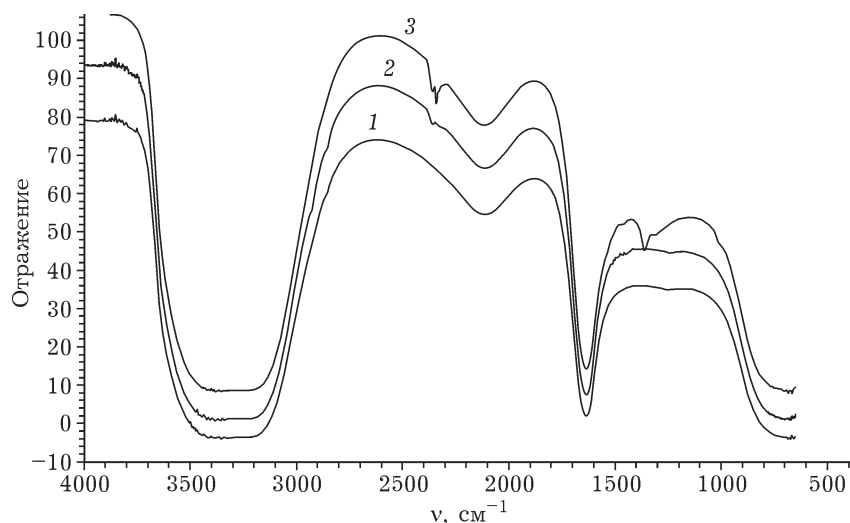


Рис. 2. ИК-спектры гидролизатов белка эластина: 1 – чистый, 2, 3 – модифицированный йодом (2) и селеном (3).

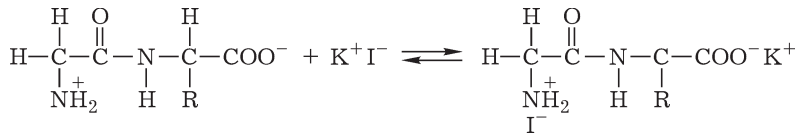


Схема 1.

йодида калия с концентрацией 0.001 моль/л, который способен обеспечить полное связывание внесенного количества йода: продолжительность выдержки с раствором йодида калия в течение 24 ч при температуре 0–4 °С. В этих условиях 1 мл гидролизата белка эластина связывает 1.6 мкг йода.

При внесении раствора йодида калия в раствор гидролизата эластина может возникнуть ионная связь между протонированными группами NH_3^+ гидролизата эластина и I^- [9]. Учитывая содержание глицина в гидролизате (35.5 %) и избирательное расщепление пептином пептидной связи, образованной глицином, велика вероятность взаимодействия I^- именно с группой NH_3^+ глицина по схеме 1.

В ИК-спектре комплекса йод – гидролизат белка эластина изменений не наблюдается (см. рис. 2), что указывает на отсутствие ковалентных связей и наличие только ионных взаимодействий.

Основная задача при разработке селен- и йодсодержащих кормовых добавок на основе природных цеолитовых туфов – исследование их сорбционной способности по отношению к селен- и йодсодержащему хелатному комплексам в зависимости от различных факторов (концентрации и времени экспозиции). Для получения комплекса, содержащего оба микроэлемента в связанной форме, смешивали растворы гидролизата белка эластана, модифицированные селеном и йодом (1 : 1), с концентрацией селена и йода 1 и 1.6 мкг/мл соответственно. При этом кислотность гидролизата с селеном уменьшалась с pH 9 до pH 8 в результате его нейтрализации йодсодержащим хелатным комплексом, что позволяет сохранить полученные связи йода с пептидами. Одновременно концентрация селена уменьшалась до 0.5 мкг/мл, а йода – до 0.8 мкг/мл.

Влияние концентрации смеси йод- и селенсодержащих хелатных комплексов на сорбци-

онную способность цеолитового туфа изучали в интервале концентраций по селену 0.05–0.5 мкг/мл в течение постоянного времени (30 мин). Разбавление растворов проводили чистым белковым гидролизатом. Из рис. 4, а видно, что с увеличением концентрации исходного раствора более 0.05 мкг/мл концентрация сорбированного соединения по селену увеличивалась, а при концентрации исходного раствора по селену 0.4 мкг/мл концентрация сорбированного соединения достигала 0.7 мкг/г. При дальнейшем увеличении концентрации исходного раствора по селену концентрация сорбированного соединения не изменялась.

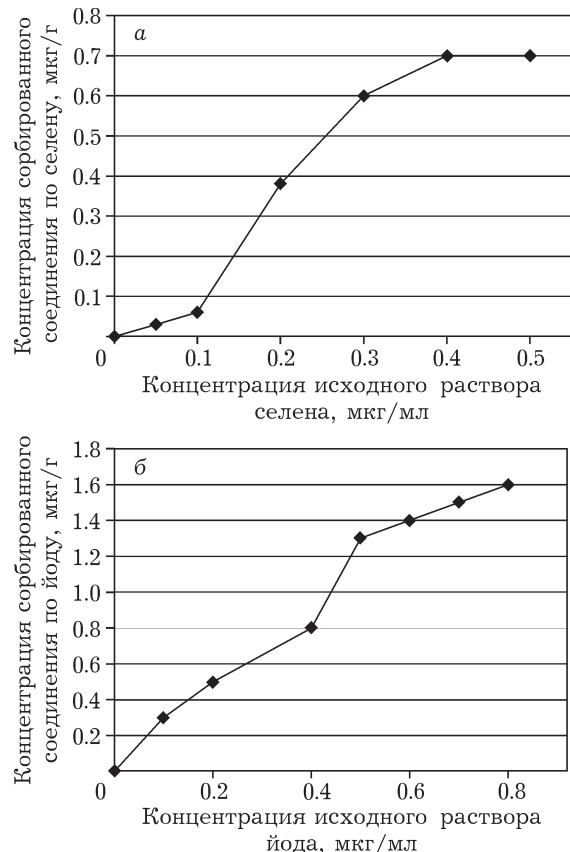


Рис. 4. Изотермы сорбции органической формы селена (а) и йода (б) на цеолитовом туфе.

Полученные результаты указывают на изменение концентрации сорбированного селенсодержащего хелатного комплекса на поверхности цеолитовых туфов: сильно разбавленные растворы слабо сорбируются на цеолитовые туфы, а с увеличением концентрации раствора сорбированные комплексы становятся центрами адсорбции последующих комплексов, что приводит к увеличению сорбционной способности цеолитовых туфов.

Влияние концентрации смеси йод- и селенсодержащих хелатных комплексов на сорбционную способность туфов изучали в интервале концентраций по йоду от 0.1 до 0.8 мкг/мл в течение 30 мин. При увеличении концентрации йода более 0.8 мкг/мл в комплексе концентрация сорбированного соединения на цеолитовом туфе достигала постоянного значения – 1.6 мкг йода на 1 г цеолита (см. рис. 4, б).

Исследовали следующие значения объемных соотношений твердой и жидкой фаз для создания кормовой добавки: 4 : 1, 3 : 1, 2 : 1, 1.5 : 1, 1 : 1, 1 : 1.5, 1 : 2. При соотношениях жидкой фазы к твердой, равных 4 : 1, 3 : 1,

цеолитовый туф был полностью погружен в раствор, причем сначала наблюдалось вспенивание раствора, надсадочный слой жидкости был высоким. Так, при соотношении 2 : 1 высота слоя жидкости над сорбентом составляла 1–2 мм. При соотношениях 1.5 : 1, 1 : 1, 1 : 1.5, 1 : 2 жидкая фаза покрывала твердую фазу не полностью. При высоком уровне жидкости над твердой фазой продолжительность сушки увеличивалась, при неполном погружении цеолитового туфа в раствор комплексов селен – гидролизат белка эластина и йод – гидролизат белка эластина нарушалось их равномерное распределение на цеолитах. Следовательно, оптимальное соотношение адсорбата к адсорбенту равно 2 : 1.

Далее исследовалась зависимость сорбционной емкости цеолитового туфа от времени экспозиции при выбранном соотношении фаз. Максимальная емкость туфа по отношению к ионам селена, связанным с белковым гидролизатом эластина, составила 4.35 мкг/г при продолжительности сорбции 3 ч (рис. 5, а).

Максимальная емкость цеолитового туфа в отношении ионов йода, связанных с белковым гидролизатом эластина, составила 7.56 мкг/г (см. рис. 5, б) при контакте фаз в течение 3 ч при температуре 18–20 °С.

Максимальная сорбция комплексов на цеолитах наблюдалась через 3 ч, что, по-видимому, обусловлено природой и свойствами цеолитов Мухор-Талинского месторождения.

Далее полученные образцы сушили при температуре 40 °С до постоянной массы. Для модифицирования мухор-талинских цеолитовых туфов органическими комплексами селена и йода с белковым гидролизатом эластина выбраны следующие условия: соотношение адсорбата к адсорбенту 2 : 1, рН 8, продолжительность сорбции 3 ч, оптимальные концентрации ионов селена 0.5 мкг/мл, йода – 0.8 мкг/мл.

Полученные модифицированные цеолитовые туфы предложены для использования в качестве кормовой добавки. С использованием культуры *Tetrachimena Pyriformis* [10] нами исследована токсичность растворов селенита натрия и йодида калия, а также образца гидролизата эластина, модифицированного селеном и йодом и нанесенного на цеолиты. Концентрации исследуемых растворов

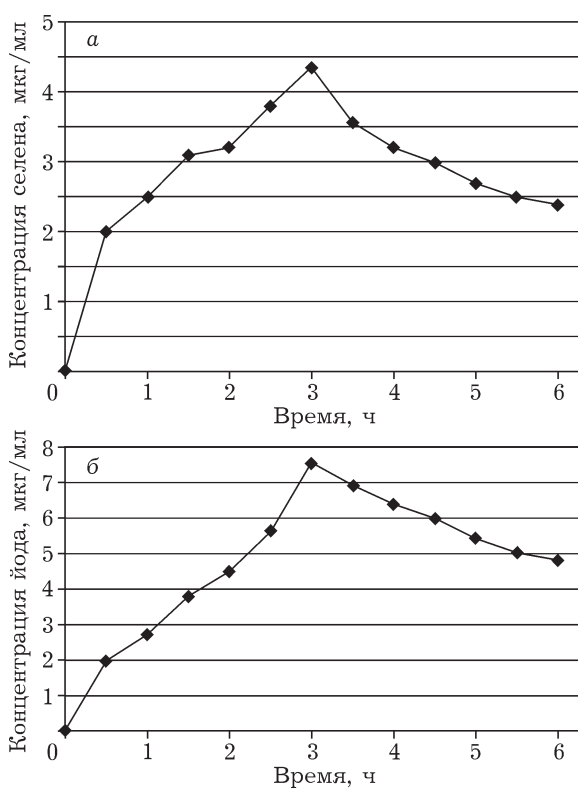


Рис. 5. Кинетические кривые сорбции на цеолитовом туфе ионов селена (а) и йодид-ионов (б), связанных с гидролизатом белка эластина.

составляли 0.01, 0.001 и 0.0001 моль/л. Установлено, что раствор 0.01 М Na_2SeO_3 проявляет сильно выраженную токсичность: гибель инфузорий наблюдалась через несколько минут, клетки подверглись лизису; раствор 0.001 М Na_2SeO_3 слабо токсичен, так как через 30 мин наблюдалась гибель 30 % клеток животных, инфузории не проявляли активности. Раствор с концентрацией Na_2SeO_3 0.0001 моль/л не токсичен. Растворы KI не проявляли выраженной токсичности при всех значениях концентрации. Модифицированный селеном и йодом гидролизат белка эластина, нанесенный на цеолит, не токсичен при концентрации растворов селенита натрия и йодида калия 0.001 моль/л. При этом количество селена на носителе составляло 4.35, йода – 7.56 мкг/г.

На основании изложенного сделан вывод о том, что модифицированные селеном и йодом гидролизаты эластина на цеолитовых туфах нетоксичны по сравнению с неорганическими формами микроэлементов. Таким образом, исследования по изучению токсичности показали, что содержащая селен и йод кормовая добавка безопасна благодаря связанной форме микроэлементов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для получения нетоксичной и биодоступной формы йода и селена использовали комплексобразование неорганических солей с гидролизатом с последующей адсорбцией на цеолите.

Экспериментально подобраны оптимальные условия иммобилизации ионов селена и йода на пептидах гидролизата эластина. На основании ИК-спектроскопического анализа

выдвинуто предположение о том, что димеры $\text{Se}_2\text{O}_3^{2-}$ встраиваются в структуру пептидов, связываясь со свободными карбоксильными группами COO^- гидролизата эластина. Йодид-ионы связываются путем взаимодействия со свободными NH_3^+ -группами пептидов. В качестве носителя связанной формы микроэлементов нами использованы дешевые, доступные природные цеолиты. Установлено, что при температуре 18–20 °С, соотношении жидкой и твердой фаз 2 : 1, продолжительности сорбции 3 ч концентрация селена в цеолитовом туфе составляла 4.35 мкг/г, а йода – 7.56 мкг/г. Температура сушки полученной кормовой добавки составляла 40 °С.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов-антиоксидантов / Под ред. В. К. Мазо, И. В. Гмошинского, Л. И. Шириной. М.: Миклош, 2009. 95 с.
- 2 Спиричев В. Б. // Пищевая пром-сть. 2000. Т. 76, № 4. С. 98–101.
- 3 Профилактические и лечебные свойства природных цеолитов / Под ред. Е. М. Блажитко, Ф. Т. Яншина. Новосибирск: Экор, 1999. 145 с.
- 4 Зонхоева Э. Л., Санжанова С. С. // Журн. физ. химии. 2004. Т. 78, № 12. С. 2228–2232.
- 5 Пат. 2245078 РФ, 2005
- 6 Проскурикова Г. Ф., Никитина Д. Н. // Агрохимия. 1976. № 7. С. 140–143.
- 7 Бубеев И. Т., Мангутова Е. В., Битуева Э. Б., Жамсаранова С. Д. // Химия и биологические активные вещества природных соединений: Сб. науч. тр. 2007. № 12. С. 8–11.
- 8 Битуева Э. Б., Жамсаранова С. Д. // Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья. 2004. № 2. С. 47–48.
- 9 Жамсаранова С. Д., Битуева Э. Б., Елаева Э. Б. Проблемы йодной недостаточности и пути коррекции. Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2008. с. 68.
- 10 Экспрессный контроль безвредности и качества сельскохозяйственных продуктов / Под ред. А. Д. Игнатова, Н. А. Корнеева. М.: , 1982.