

Действие коламина на самоокисление жиров животного происхождения и витамин „А“

Из кафедры биохимии Ереванского Всесоюзного Зооветеринарного Института

Г. В. Камалян

Из работ Бунятына (1) известно что, холин, не ускоряя процесса самоокисления жиров и витамина „А“, сам по себе, с медью, а иногда и с железом, образует довольно мощную прооксидантную систему и способствует быстрому окислению жиров и витамина „А“.

Дальнейшие работы Бунятына (2) показали, что холин с медью оказывает такое же действие на окисление витамина „С“.

По Бунятыну, холин с медью образует комплексное соединение, окислительный потенциал которого выше, чем у одной меди.

Имея это в виду, мы задались целью установить, как подействует сам коламин на самоокисление жиров и витамина „А“, как в отдельности, так и в присутствии меди,—тем более, что коламин с медью также может образовать комплексное соединение, а комплексные соединения меди с различными аминами зачастую обладают высоким окислительным потенциалом.

Конец индукционного периода мы устанавливали по быстрому росту пероксидов, что является хорошим показателем конца индукционного периода и может также указать, с какой интенсивностью идет окисление в каждом данном случае.

Витамин „А“, а также каротиноиды в жирах, разлагаются и в конце индукционного периода исчезают совершенно. Их количественное определение может дать понятие об окончании этого процесса, и потому мы витамин „А“ и каротиноиды определяли также реакцией Carr и Price.

Кроме установления момента исчезновения по интенсивности получаемой окраски с SbCl_3 мы судили также и о количестве витамина „А“.

В опытах коламин брался в отдельности или в сочетании с медью и железом. Медь и железо применялись в виде CuSO_4 и FeSO_4 .

Растворы всегда готовились концентрированные для избежания внесения в опыты больших количеств воды, так как вода сама по себе влияет на самоокисление жиров.

Коламин был получен нами из хлоридрина по методу Ганна. Пероксидный индекс, реакция Крейса и определение кислотного числа производились обычными методами.

Опыты большею частью ставились с рыбьим жиром: он самоокисляется быстрее других жиров и, кроме того, богат витамином „А“.

В опыты было также включено сливочное масло, освобожденное от воды и белков.

Первые опыты были поставлены с рыбьим жиром.

В обыкновенных колбах, емкостью в 250 см³, брали по 30 г. рыбьего жира, не содержащего пероксидов. На это количество жира коламин добавлялся по 0,05 мл, медь—по 1 мг.

Каждый раз ставились параллельные опыты.

Колбы хранились в закрытом виде при температуре 32°C. в темном месте во избежание побочного влияния света, который ускоряет процесс самоокисления жиров. Каждый день в колбы пропусклся кислород по 120 пузырьков в минуту, причем кислород предварительно был высушен серной кислотой. Затем, колбы плотно закрывались простыми пробками и взбалтывались в течение 5 минут.

Через определенные промежутки времени из каждой колбы брались пробы для определения пероксидов, витамина „А“ и кислотного числа.

Результаты приведены в таблице 1.

Таблица эта показывает, что в тех случаях, где присутствовал коламин в количестве 0,05 мл, индукционный период сильно удлинялся, что узнавалось по задержке роста пероксидов, кислотного числа и сохранения витамина „А“.

Как видно из этой же таблицы, при коламинe витамин „А“ остается дольше 34 дней, между тем как в контроле и при одних металлах он отсутствует уже на 10—12-й день.

Медь, сама по себе, действует как прооксидант, так как при ней витамин „А“ исчезает на два дня раньше, чем в контроле.

Из этой же таблицы ясно, что в пробах, где участвуют комбинации коламин—медь индукционный период сильно укорачивается. Это наглядно видно по быстрому росту пероксидов, характерному запаху, который наблюдается во время прогоркания жиров, а также—по скорости разложения витамина „А“. Последний в присутствии коламин—меди исчезал на второй день, тогда как в пробах—рыбий жир, рыбий жир—коламин и рыбий жир с одними металлами, сохраняется от 10 до 34 дней и дольше.

Эта же таблица указывает и на то, что железо в отдельности и комбинация коламин—железо почти не оказывают никакого действия на самоокисление рыбьего жира.

Кроме рыбьего жира, в первой серии были поставлены опыты также со сливочным маслом. Предварительно масло подогревалось

Рыбий жир

Таблица 1

№№ проб	Наименование	Пероксидный индекс через:														Витамин „А“ через:								Кислотное число через:							
		2 дня	4 дня	6 дн.	8 дн.	10 дн.	12 дн.	14 дн.	16 дн.	18 дн.	22 дня	26 дн.	28 дн.	30 дн.	32 дня	34 дня	1 день	9 дн.	10 дн.	11 дн.	12 дн.	29 дн.	34 дня	6 дн.	10 дн.	12 дн.	16 дн.	26 дн.	29 дн.	34 дня	
1	Рыбий жир	0,7	0,7	1,5	3,0	6,1	10,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4+	2+	Сл.	Сл.	Нет	—	—	0,05	0,07	0,14	—	—	—	—	
2	„ +1 мг. меди	0,7	1,2	2,6	4,4	9,6	13,2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4+	Сл.	Нет					0,07	0,16	0,18					
3	„ +0,05 мл. ко-лам.	0,35	0,35	0,35	0,35	0,4	0,4	0,4	0,35	0,35	0,45	1,1	1,2	0,2	0,6	0,9	2,9	4+	4+	4+	4+	4+	4+	Сл.	0,05	0,07	0,07	0,07	0,07	0,09	0,16
4	„ +0,05 кол. + +1 мг. меди	2,3	2,9	3,9	3,0	4,6	6,4										Нет							0,26	0,29	0,32					
5	„ +1 мг. железа	0,65	0,7	1,5	2,8	6,9	11,4										4+	2+	+	Сл.	Нет			0,05	0,09	0,16					
6	„ +0,05 мл. ко-лам. + +1 мг. железа	0,65	0,65	1,6	2,0	3,0	5,0	5,4	4,6	6,1	6,6	9,2					4+	+	Сл.	Нет				0,07	0,07	0,20	0,29	0,36	0,36		

на водяной бане (70—80°) в атмосфере углекислого газа в течение 50 минут. Таким образом масло освобождалось от воды и белков и в теплом виде фильтровалось через стеклянную вату.

Пероксиды и витамин „А“ определялись в масле вышеуказанными методами, обработка жиров та же, что указано выше.

Результаты приведены в таблице 2.

Из этой таблицы видно, что одна медь в сливочном масле также проявляет прооксидантное действие, а комбинация коламина—медь и здесь значительно сокращает индукционный период, ускоряя образование пероксидов, исчезновение витамина „А“ и каротиноидов и повышая кислотное число. Витамин „А“ и каротиноиды исчезают в пробе с комбинацией коламина—медь через день, тогда как при одной меди—только на 10-й день.

Для проверки полученных результатов, а также для выяснения действия меньших количеств коламина была поставлена вторая серия опытов как с рыбьим жиром, так и со сливочным маслом.

Выше говорилось, что другая, азотистая, часть фосфатидов—холин, как показали опыты Бунятяна, сам по себе не проявляя почти никакого действия на самоокисление жиров, с медью образовал сильную прооксидантную комбинацию.

Коламин, сам по себе, является антиоксидантом, но с медью—что вытекает из наших опытов—также образует мощную прооксидантную систему.

Исходя из этого, для нас представлял интерес—сравнить действие обоих азотистых компонентов фосфатидов, коламина и холина, на самоокисление жиров. Поэтому в этой серии были поставлены опыты также и с холином.

Количество коламина здесь варьировалось—от 0,05 до 0,01 мл; холин брался по 20 мг; медь, как обычно—по 1 мг. на 30 гр. жира. Методика—та же, что и в первой серии. Результаты опытов с рыбьим жиром отражены в таблице 3.

Полученные результаты подтвердили данные 1-ой серии опытов; антиоксидантное действие коламина в рыбьем жире увеличивается соответственно с его количеством, но малые количества сравнительно эффективнее больших.

Например—в пробе, где участвует коламин в количестве 0,05 мл, индукционный период длится до 40 дней. Пероксидный индекс достигает здесь 4 единиц только на 43-й день, а витамин „А“ исчезает только после 40-го дня.

В пробах же с коламином в количестве 0,02 и 0,01 мл рост пероксидов: в первом случае (0,02)—начался с 17-го дня, дойдя до 8,5 единиц на 26-ой день. Во втором случае (кол. 0,01)—рост начался с 14-го дня, а пероксидный индекс после 21 дня был равен 10. Витамин „А“ исчез на 20-й день.

Медь, в отдельности, и здесь проявила прооксидантное действие.

Сливочное масло

Таблица 2

№ проб.	Наименование	Пероксидный индекс через:												Витамин „А“ через:				Кислотное число через:			
		2 дня	4 дня	6 дн.	8 дн.	10 дн.	12 дн.	14 дн.	16 дн.	18 дн.	22 дня	34 дня	1 день	9 дн.	10 дн.	34 дн.	6 дн.	10 дн.	16 дн.	22 дня	
1	Масло +1 мг. меди	Нет	Нет	0,15	0,4	0,8	1,3	1,55	1,6	2,0	2,4	2,1	+	Сл.	Нет		0,05	0,09	0,11	0,14	
2	„ +0,05 мл. коламина . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	0,05	0,07	0,07	0,07	
3	„ + 0,05 мл. коламина + + 1 мг. меди	0,2	0,4	0,9	1,0	1,2	1,9	2,0	1,9	1,9	1,9	2,0	Нет	—	—	—	0,11	0,18	0,23	0,23	
4	„ + 0,05 мл. коламина + + 1 мг. железа	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	0,05	0,07	0,07	0,07	

Рыбий жир

Таблица 3

№№ проб.	Наименование	Пероксидный индекс через:												Витамин „А“ через:												Кислотное число через:							
		2 дня	4 дня	6 дн.	8 дн.	10 дн.	12 дн.	14 дн.	17 дн.	21 день	26 дн.	33 дня	43 дня	1 день	2 дня	5 дн.	6 дн.	9 дн.	10 дн.	12 дн.	13 дн.	19 дн.	20 дн.	24 дня	26 дн.	39 дн.	40 дн.	7 дн.	11 дн.	17 дн.	22 дня	43 дня	
1	Рыбий жир	0,7	1,1	1,9	3,0	4,0	5,9	10,3	26,0	—	—	—	—	4+	4+	3+	3+	2+	2+	Сл.	нет	—	—	—	—	—	—	—	0,09	0,14	0,18	—	—
2	Рыбий жир + 0,05мл. коламина	0,35	0,35	0,35	0,45	0,45	0,4	0,4	0,45	0,45	0,8	1,8	4,0	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	Сл.	нет	0,07	0,07	0,07	0,07	0,09
3	„ + 0,02 мл. коламина	0,5	0,5	0,75	0,85	1,4	1,0	1,4	2,5	2,6	8,5	—	—	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	2+	Сл.	нет	—	—	0,07	0,09	0,09	0,09	—
4	„ 0,01 мл. коламина	0,6	0,65	1,1	1,6	1,9	1,9	2,2	4,6	10,0	—	—	—	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	Сл.	нет	—	—	—	—	—	0,07	0,09	0,11	0,16	—
5	„ + 1 мг меди	1,2	2,15	3,9	6,6	11,5	—	—	—	—	—	—	—	3+	3+	2+	+	Сл.	нет	—	—	—	—	—	—	—	—	0,11	0,16	—	—	—	
6	„ + 0,05мл. коламина	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
7	„ + 1 мг. меди	3,8	5,25	6,4	8,5	9,0	—	—	—	—	—	—	—	нет	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,25	0,36	—	—	—
8	„ + 0,02 мл. коламина + 1 мг. меди	4,5	5,4	9,8	11,0	18,6	—	—	—	—	—	—	—	Сл.	нет	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,23	0,27	—	—	—
9	„ + 0,01 мл. коламина + 1 мг. меди	3,3	6,75	9,7	10,8	15,4	5,9	—	—	—	—	—	—	Сл.	нет	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,23	0,31	—	—	—
10	„ + 0,02 мл. холина	0,8	1,65	2,2	3,45	3,76	5—	8,1	13,2	—	—	—	—	4+	4+	3+	3+	2+	+	Сл.	нет	—	—	—	—	—	—	—	0,09	0,11	0,22	—	—
11	„ + 0,02 г. холина + 0,1 мг. меди	1,35	4,15	7,6	8,9	9,8	—	—	—	—	—	—	—	4+	3+	Сл.	нет	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,16	0,27	—	—	—
	„ + 0,02 мл. коламина + 0,02г. холина + 1 мг. меди	5,2	5,2	7,1	10,35	10,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,25	0,38	—	—	—

Опыты ясно показали, что комбинации коламин—медь являются очень сильными окислителями для рыбьего жира. Сочетания количеств—0,05, 0,02 и 0,01 мл. коламина с 1 мг меди и в этой серии значительно укорачивают индукционный период, что подтверждается следующими данными: в пробе, где находился коламин—медь в количестве 0,05 мл, пероксидный индекс с 1-го дня повышается до 3,8, доходя на 8-й день до 8,5, а витамин „А“ исчезает через день. В пробах же, где коламин берется в кол. 0,02 и 0,01 мл с медью, пероксидный индекс на 8-й день доходит до 11, начиная расти также с первого дня, а витамин „А“—исчезает на 3-й день.

Это указывает, что прооксидантное действие комбинации коламин—медь также повышается соответственно количеству коламина, но опять-таки малые количества сравнительно действуют интенсивнее больших. О прооксидантном действии комбинации коламин—медь говорит и быстрота исчезновения витамина „А“.

Интересно отметить, что в пробах, где участвовали комбинации коламин—медь, жир уже через несколько часов принимал буро-красную окраску, которая на следующий день становилась интенсивнее, причем интенсивность окраски зависела от количества коламина, возрастая параллельно с его увеличением.

Холин сам по себе никакого влияния на процесс самоокисления жира не оказывал, но с медью образовывал прооксидантную комбинацию, как и в опытах Бунятяна; однако, прооксидантное действие холин—медь слабее, чем таковое же в комбинации коламин—медь.

Результаты опытов подтверждают, что комбинация коламин—холин—медь еще сильнее сокращает индукционный период и тем самым является более сильной прооксидантной системой, чем коламин—медь и холин—медь, взятые в отдельности, что и следовало ожидать.

Кислотное число во всех пробах поднималось соответственно количеству пероксидов.

Были также поставлены опыты со сливочным маслом, причем и здесь брались более малые количества коламина (0,005мл). Полученные результаты приведены в таблице 4.

Результаты, полученные в опытах со сливочным маслом, более отчетливы и убедительны, чем с рыбьим жиром, потому что здесь имеем жир, обладающий длительным индукционным периодом, тогда как рыбий жир своим быстрым окислением иногда ступшевывает различие между отдельными опытами.

Из этой же таблицы видно, что индукционный период. при сочетании различного количества коламина с медью, сильно укорачивается, причем окисляющее действие увеличивается соответственно количеству коламина, но опять-таки малые количества коламина сравнительно эффективнее больших. Это замечается как по повышению пероксидного индекса, так и по исчезновению витамина „А“ и каротиноидов.

Сливочное масло

Таблица 4

№№ проб	Наименование	Пероксидный индекс через:							Витамин „А“ через:						Кислотное число через:			
		2 дня	4 дня	6 дн.	8 дн.	10 дн.	12 дн.	14 дн.	17 дн.	2 дня	3 дня	4 дня	6 дн.	11 дн.	12 дн.	7 дн.	11 дн.	17 дн.
1	Масло		—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+			
2	Масло + 1 мг. меди	0,1	0,1	0,25	0,25	0,3	0,45	0,75	2,5	+	+	+	+	Сл.	Нет	0,20	0,20	0,23
3	„ +0,05 мл. кол. +1 мг. меди	0,4	0,75	1,1	1,2	1,55	—	—	—	Нет	—	—	—	—	—	0,25	0,25	
4	„ +0,02 мл. кол. + 1 мг. меди	0,5	0,75	1,2	1,6	2,0	—	—	—	Нет	—	—	—	—	—	0,25	0,25	
5	„ +0,01 мл. кол. + 1 мг. меди	0,7	1,35	1,8	2,2	2,8	—	—	—	Нет	—	—	—	—	—	0,25	0,25	
6	„ +0,005 мл. кол. + 1 мг. меди	0,2	0,65	1,0	1,7	2,0				+	Сл.	Нет	—	—	—	0,20	0,23	
7	„ +0,02 г. хол. + 1 мг. меди	0,1	0,15	0,6	1,1	1,25				+	+	+	Нет					

В сливочном масле холин—медь оказывает прооксидантное действие. При этой комбинации витамин „А“ и каротиноиды исчезают через 6 дней, тогда как одна медь разлагает их только через 11 дней. Но в сливочном масле прооксидантное действие холин—меди ниже прооксидантного действия коламин—медь.

Нами были поставлены также опыты для установления действия меньших количеств коламина и меди при самоокислении жиров.

Количество коламина варьировалось от 0,05 до 0,001 мл, количество меди—от 1 до 0,5 мг.

Поставленные опыты показали, что количества коламина от 0,05 до 0,01 сохраняют витамин „А“ в рыбьем жире от 21 до 45 дней, тогда как в контроле он исчезает на 14-й день. Комбинации коламин—медь опять-таки являются мощными прооксидантами.

Коламин в количестве 0,001 мл с 0,5 мг меди образует ясно заметную прооксидантную комбинацию. При этой комбинации витамин „А“ исчезает через 11 дней, а пероксидный индекс на 12-й день равен 9,0, тогда как в контроле витамин „А“ сохраняется до 15 дней, а пероксидный индекс равен 5.

Медь в количестве 0,5 мг действовала так же, как и 1 мг, что доказывает, что не существует сильной зависимости между прооксидантным действием меди и ее количеством. Явление это наблюдается и при многих других прооксидантах.

Интересно отметить, что количества меди в комбинации коламин—медь имеют большое значение. Например, 0,5 мг и 1 мг меди с равным количеством коламина дают различный эффект, причем прооксидантное действие растет с количеством меди. Когда же меняется количество коламина, то, при одинаковых количествах меди, прооксидантное действие растет с количеством коламина,—и опять малые количества коламина сравнительно эффективнее больших.

Для той же цели был поставлен ряд опытов со сливочным маслом и результаты показали, что и в сливочном масле комбинации малых количеств коламина с 1 мг меди дают высокий прооксидантный эффект. Так, 0,005 мл коламина с 1 мг меди и 0,001 мл коламина с 1 мг меди дают пероксидный индекс на 15-й день от 5,1 до 7,0, тогда как одна медь дает—3,4 единицы. Комбинация 0,0005 мл коламина с 1 мг меди в сливочном масле действует так же, как действует одна медь.

Таким образом, результаты 3-й серии опытов подтверждают выводы, полученные нами в опытах предыдущих серий. Они говорят об антиоксидантном действии коламина и о прооксидантном действии комбинации коламин—медь, причем ясно заметно, что прооксидантное действие в рыбьем жире и сливочном масле оказывают и малые количества коламина с малым же количеством меди: 0,001 мл коламина с медью от 1 до 0,5 мг достаточно для прооксидантного действия этой комбинации.

При комбинации 0,0005 мл коламина и 1 мг меди получается такое же прооксидантное действие в сливочном масле, как и при одной меди.

В ы в о д ы

1. Коламин является сильным антиоксидантом как при самоокислении рыбьего жира, так и сливочного масла.

2. Антиоксидантное действие коламина повышается соответственно с его количеством, но не пропорционально: малые количества действуют сравнительно сильнее, чем большие.

3. Комбинации коламин—медь являются сильными прооксидантами как при самоокислении рыбьего жира, так и в сливочном масле.

4. Холин, в отдельности, не проявляет никакого действия, но с медью образует прооксидантную комбинацию, которая, однако, действует значительно слабее, чем комбинация коламин—медь.

5. Прооксидантное действие комбинации коламин—медь усиливается с количеством коламина, но и здесь малые количества эффективнее больших: 0,005 мл коламина с 1 мг меди было достаточно для заметного прооксидантного действия.

Таким образом, сочетания от 0,05 до 0,001 мл коламина с 1,0 и 0,5 мг меди являются сильными прооксидантными системами.

6. 0,0005 мл коламина с 1 мг меди уже не оказывают никакого действия при самоокислении сливочного масла.

7. Комбинация коламин—холин—медь является более сильным прооксидантом в рыбьем жире, чем коламин—медь и холин—медь в отдельности.

В заключение считаю своим долгом выразить свою искреннюю благодарность профессору доктору Бунятяну Г. Х. за руководство и ценные советы при выполнении настоящей работы.

1. Бунятян Г. Х. Хим. сборник. Изд. Арм. ССР 1. 34, 1938 г.

2. Бунятян Б. Х. Восьмой Кавказский съезд физиологов, биохимиков и фармакологов. 81. 1939 г.

ԿՈԼԱՄԲԻՆԻ ԸԶՐԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԵՆՏՐԱՆԿԱՆ ԺԵՂՈՒՄ ՈՒՆԵՑՈՂ ԺԵՐՊԵՐԻ ԵՎ ՎԻՏԱՄԻՆ A-Ի ԻՆՔՆԵՐՈՋՍԻՎԵՑՄԵՆ ՎԵՐ

Գ. Վ. Քամալյան

Ներկայումս Զոոպետիկոսիոսի բիոֆիզիայի ամբիոնից

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Կոլամբինը ձկան յուղի և կովի յուղի ինքնաօքսիդացման պրոցեսի ժամանակ հանդես է գալիս որպես ուժեղ հակաօքսիդանտ (անտիօքսիդանտ):

2. Կոլամբինի հակաօքսիդանտային ազդեցությունը մեծանում է համաձայն նրա քանակին, սակայն ոչ համաչափ. փոքր քանակները ազդում են ավելի ուժեղ, քան մեծ քանակությունները:

3. Կոլամբին-պղինձ կոմբինացիաները հանդիսանում են ուժեղ համաօքսիդանտներ, ինչպես ձկան յուղի նույնպես և կովի յուղի ինքնաօքսիդացման ժամանակ:

4. խոլինն առանձին վերցրած չունի որևէ ազդեցություն, սակայն պղինձի հետ առաջացնում է համաօքսիդանտային կոմբինացիա, որն ազդում է ավելի թույլ, քան կոլամբին-պղինձ կոմբինացիան:

5. Կոլամբին-պղինձ կոմբինացիայի համաօքսիդանտային ներգործությունը ուժեղանում է կոլամբինի քանակի ավելացման հետ միասին, սակայն այստեղ ևս փոքր քանակները համեմատաբար էֆեկտիվ են մեծ քանակություններից: 0,005 մլ. կոլամբինը 1 մլ/գրամ պղինձի հետ բավական է զգալի համաօքսիդանտային ազդեցություն առաջացնելու համար: Այսպիսով 0,05—0,001 մլ. կոլամբինի և 1—05 մլ/գրամ պղինձի կոմբինացիաները հանդիսանում են ուժեղ համաօքսիդանտային սխտեմներ:

6. Կոլամբին-խոլին-պղինձ կոմբինացիան հանդիսանում է ձկան յուղի մեջ ավելի ուժեղ համաօքսիդանտ, քան կոլամբին-պղինձ և խոլին-պղինձ կոմբինացիան առանձին-առանձին վերցրած: