

ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД СТРУКТУРНИХ ЛІПІДІВ НОРМАЛЬНИХ І ПАТОЛОГІЧНО ЗМІНЕНИХ ВОВНЯНИХ ВОЛОКОН

В. В. ГАВРИЛЯК, В. М. ТКАЧУК

*Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна;
e-mail: havvita@ukr.net*

Метою досліджень було з'ясувати жирнокислотний склад структурних ліпідів, виділених із нормальних і патологічно змінених вовняних волокон. Одержані результати свідчать, що незалежно від виду дефекту вовняного волокна, мають місце кількісні зміни в їхньому жирнокислотному складі.

Показано, що основною жирною кислотою ковалентно зв'язаних ліпідів, виділених із вовняних волокон, є 18-метилейкозанова кислота (18-МЕК), вміст якої становить майже 40% від їх загальної кількості, при цьому кількість її у складі вільних ліпідів у нормі не перевищує 4%.

Встановлено зниження рівня 18-МЕК у складі ковалентно зв'язаних ліпідів як за патологічного стоншення, так і у разі звалювання вовняних волокон, що пов'язано з пошкодженням поверхні кутикулярного шару. Збільшення частки 18-МЕК у складі вільних ліпідів у разі звалювання вовняних волокон може свідчити про руйнування тіоефірних зв'язків між ліпідами і протеїнами ламелярних структур кутикулярного шару.

Ключові слова: волокно, вільні і зв'язані структурні ліпіди, жирнокислотний склад, пожовтіння, стоншення, звалювання.

Волос – складна структура, побудована із різних морфологічних компонентів та різних типів хімічних речовин. Загальновідомо, що в залежності від вмісту води в ньому, волос на 65–95% складається із кератину, решта складників – це вода, ліпіди, пігменти та мінеральні елементи [1, 2].

Серед мінерних компонентів вовняного волокна є ліпіди, які не походять із сальних залоз шкіри та локалізуються всередині волокна, тому їх називають внутрішніми, структурними, або інтегральними ліпідами (ІЛ). Відомо, що їх вміст у людському волоссі та вовні коливається від 0,7 до 1,3% і відрізняється від епідермальних ліпідів своїм складом [3].

Частина цих ліпідів перебуває у вільному стані, а інша – ковалентно зв'язана із протеїнами клітинно-мембранних комплексів (КМК) волоса. Характерно, що склад ліпідів КМК відрізняється від біологічних мембран відсутністю фосфоліпідів [2, 4]. Дані літератури свідчать, що у ліпідах, виділених із кератинових волокон, знайдено насичені та ненасичені жирні кислоти із довжиною ланцюга від 5 до 26 вуглецевих атомів, а локалізація подвійних зв'язків у ненасичених жирних кислотах має місце в 6, 7 позиції з ізомерами, в основному, у позиціях 8, 9 [2, 5]. Разом із холестеролом довголанцюгові жирні кислоти формують

високовпорядковані внутрішньоклітинні ліпідні ламели. І хоча роль ІЛ на сьогодні ще остаточно не з'ясовано, проте відомо, що вони істотно впливають на набухання волокон, дифузію та сорбційні властивості, стійкість до погодних умов, фізичні параметри тощо.

Основною жирною кислотою, зв'язаною з поверхнею волоса, є 18-метилейкозанова кислота. Ця антеізорозгалужена жирна кислота в малій кількості також знаходиться у сальних залозах і воску [6, 7]. Було показано, що короткі 13–17 вуглецеві антеізожирні кислоти є головними ліпідними компонентами деяких мікроорганізмів, де вони використовуються замість ненасичених жирних кислот для утворення мембран. На сьогодні остаточно роль цієї кислоти не з'ясована, хоча вважається, що 18-МЕК впливає на молекулярну рухливість мембрани і саме завдяки цій здатності розгалужені ланцюгові кислоти мають перевагу над ненасиченими щодо їхньої стійкості до окислювальних пошкоджень під час довготривалих атмосферних впливів [8].

Тому метою нашої роботи було дослідити жирнокислотний склад вільних і зв'язаних структурних ліпідів вовняних волокон за норми їх та за таких патологічних станів як пожовтіння, звалювання та стоншення.

Матеріали і методи

Зразки нормальної, патологічно стоншеної, звальної та пожовтілої звальної вовни овець були люб'язно надані к. с.-г. н. Свистулою М. М. (Інститут тваринництва степових районів ім. М. Ф. Іванова «Асканія-Нова»).

Зразки вовни спочатку промивали в нейтральному мийному розчині, ретельно споліскували та висушували. Поверхневі ліпіди (віск) екстрагували в апараті Сокслетта тетрахлорметаном впродовж 5 годин, а потім сумішню етиловий спирт–діетиловий ефір (1 : 1, v/v).

Для одержання вільних структурних ліпідів зразки вовняних волокон після екстракції поверхневих ліпідів повторно екстрагували сумішню хлороформ–метанол (2 : 1, v/v) в апараті Сокслетта протягом 5 годин. Ліпідний екстракт висушували під вакуумом і зважували.

Для одержання зв'язаних структурних ліпідів ми використали методику лужного омилення, описану Р. W. Wertz (1988) [8]. Зразки вовни, які залишилися після видалення вільних структурних ліпідів, гідролізували шляхом двогодинної обробки при 60 °С в 100 мл 1 М розчину гідроксиду натрію в 90%-му метанолі. Проби охолоджували і переносили в ділільні воронки. До кожної проби додавали 100 мл хлороформу і 25 мл дистильованої води. Через 12 годин нижній шар хлороформу відбирали, а верхню фазу підкислювали за допомогою 6 М розчину соляної кислоти і проводили повторне екстрагування шляхом змішування зі 100 мл хлороформу. Після відстоювання відбирали нижній шар хлороформу, додавали його до попередньо одержаного екстракту і висушували шляхом випаровування. Одержаний осад розчиняли в 10 мл суміші хлороформ–метанол (2 : 1, v/v), і до кожної проби додавали 3 мл 7,5%-го хлориду калію. Через 24 год верхню фазу відбирали за допомогою водоструминної помпи, а нижню, яка містила ліпіди, використовували для досліджень.

Для визначення жирнокислотного складу загальних ліпідів їх переводили у метилові ефіри шляхом прямої переетерифікації жирних кислот [9]. Розділення метилових ефірів жирних кислот проводили на газорідному хроматографі «Chrom-4» (Чехія) за умов: металеву колонку довжиною 240 см і діаметром 3 мм було заповнено хромосорбом 60–80 меш, покритим 15%-им поліетиленглікольсукцинатом, температура випаровувача – 240 °С, термоста-

та колонок – 196 °С, розхід газу-носія (азоту) – 25 мл/хв, повітря – 400 мл/хв.

Для ідентифікації жирних кислот використовували стандартні суміші фірми Supelco та вимірювали t_r-I_r всіх її компонентів і за формулами обчислювали частку окремих жирних кислот. Одержані дані хроматограм жирних кислот обробляли за допомогою програми «Excel» і виражали у процентному співвідношенні.

Усі використані реактиви були кваліфікації не нижче хч.

Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням середнього арифметичного та стандартної похибки ($M \pm m$) і достовірного інтервалу для оцінки ступеня вірогідності (P) за допомогою t -критерію Стьюдента. Розбіжності вважали статистично вірогідними при $P < 0,05$.

Результати та обговорення

Оскільки ліпіди волоса відіграють ключову роль у забезпеченні його цілісності, впливають на його міцність та гідрофобні властивості, цікаво було з'ясувати, чи є відмінності в жирнокислотному складі ліпідів, виділених із нормальних та патологічно змінених вовняних волокон. Такі дефекти вовняних волокон, як пожовтіння, звальювання та патологічне стоншення, істотно впливають на їхні фізико-хімічні та технологічні властивості. Так, у разі звальювання відбувається відшарування окремих лусочок, деформація їхньої поверхні, що є результатом механічного тертя волокон. Патологічне стоншення вовни супроводжується одночасним зменшенням як кутикулярного, так і коркового шару і, як наслідок, втрачається міцність волокон.

Із даних табл. 1–4 видно, що жирнокислотний склад вільних внутрішніх ліпідів представлений 19 кислотами, причому дві з них ми не ідентифікували, тоді як у складі ковалентно зв'язаних ІЛ – 10 кислот. Результати проведених досліджень показали, що основними жирними кислотами вільних ІЛ є пальмітинова, стеаринова та олеїнова кислоти, сумарний вміст яких становить більше як 60% від їх загальної кількості, причому це співвідношення характерне як для нормальних, так і патологічно змінених волокон. Натомість, у зв'язаних структурних ліпідах основна частка припадає на 18-МЕК, кількість якої у нормальній вовні становить практично 40%, що повністю узгоджується з наявними джерелами літератури [10–12].

Таблиця 1. Жирнокислотний склад вільних структурних ліпідів нормальної та зваляної вовни, % ($M \pm m, n = 3$)

Жирні кислоти	Код кислоти	Вовна		
		нормальна	зваляна	зваляна пожовтіла
Міристинова	14:0	1,29 ± 0,03	0,98 ± 0,08**	0,74 ± 0,09**
Пентадеканова	15:0	1,18 ± 0,28	0,93 ± 0,14	1,98 ± 0,77
Пальмітинова	16:0	27,13 ± 1,80	21,68 ± 1,90	19,49 ± 2,92
Пальмітолеїнова	16:1	2,61 ± 0,18	2,43 ± 0,21	2,01 ± 0,77
17-Метилгексодеканова	17:0 ізо	1,77 ± 0,25	1,58 ± 0,15	1,81 ± 0,39
Гептадеканова	17:0	1,03 ± 0,19	1,12 ± 0,10	1,26 ± 0,18
Стеаринова	18:0	19,48 ± 2,02	21,23 ± 0,47	20,39 ± 2,92
Олеїнова	18:1	24,70 ± 3,36	16,06 ± 1,64	16,75 ± 0,66
18-Метилоктадеканова	19:0 ізо	5,12 ± 0,86	6,46 ± 1,28	4,39 ± 1,08
Нонадеканова	19:0	0,46 ± 0,13	0,18 ± 0,01	0,28 ± 0,05
19-Метилнонадеканова	20:0 ізо	2,05 ± 0,33	2,21 ± 0,25	2,91 ± 0,04
Арахінова	20:0	3,69 ± 0,75	2,91 ± 0,13	5,25 ± 2,20
Ейкозаєнова	20:1	1,68 ± 0,14	1,32 ± 0,18	1,17 ± 0,37
Неідентифікована-1	—	0,42 ± 0,09	1,61 ± 0,65	0,43 ± 0,11
18-Метилейкозанова	21:0 антеізо	2,19 ± 0,37	11,54 ± 4,09*	12,26 ± 4,39*
Генейкозанова	21:0	0,68 ± 0,15	0,96 ± 0,11	1,27 ± 0,46
Неідентифікована-2	—	0,38 ± 0,15	0,75 ± 0,48	1,43 ± 0,70
Бегенова	22:0	1,53 ± 0,19	2,64 ± 0,65	2,80 ± 0,77
Лігноцеринова	24:0	2,62 ± 0,27	3,41 ± 0,17	3,37 ± 0,36
Σ насичених		70,22	77,83	78,20
Σ ненасичених		28,99	19,81	19,93
Σ неідентифікованих		0,80	2,36	1,86

Тут і в табл. 2–4 статистично вірогідні різниці порівняно до нормальної вовни * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,02$; *** $P \leq 0,01$; **** $P \leq 0,001$.

Внаслідок проведених досліджень було встановлено зміни стосовно жирнокислотного складу ІЛ дефектної вовни. Так, із даних табл. 1 видно, що у складі вільних ІЛ зваляної вовни вірогідно зменшується кількість міристинової кислоти та зростає вміст 18-МЕК. Подібні зміни характерні і для зваляної вовни з ознаками пожовтіння. Дослідженнями жирнокислотного складу вільних ІЛ патологічно стоншеної вовни (табл. 2) встановлено лише підвищення вмісту неідентифікованої нами жирної кислоти (в 4,8 рази, $P < 0,02$), тоді як стосовно інших кислот не виявлено статистично вірогідних відмінностей, хоча спостерігалася тенденція до зниження вмісту 18-МЕК, пальмітинової та олеїнової кислот, що супроводжувалося

зміною співвідношення насичених кислот до ненасичених.

Щодо жирнокислотного складу ковалентно зв'язаних ІЛ, то з даних табл. 3 видно, що у зваляній вовні вірогідно зростає кількість пальмітинової, ізооктадеканової та арахінової кислот, натомість кількість гептадеканової, і, особливо, 18-МЕК кислот вірогідно зменшується, а співвідношення насичених жирних кислот до ненасичених у нормальній та зваляній вовні залишається практично однаковим.

Отже, враховуючи, що основна кількість 18-МЕК локалізована на зовнішній поверхні кутикулярного шару, а у зваляній вовні саме цей шар зазнає найістотніших змін, встанов-

Таблиця 2. Жирнокислотний склад вільних структурних ліпідів нормальної і патологічно стоншеної вовни, % ($M \pm m$, $n = 3$)

Показники	Код кислоти	Вовна	
		нормальна	патологічно стоншена
Міристинова	14:0	0,94 ± 0,12	1,14 ± 0,31
Пентадеканова	15:0	0,61 ± 0,11	3,39 ± 2,40
Пальмітинова	16:0	26,28 ± 0,76	20,83 ± 4,71
Пальмітолеїнова	16:1	3,00 ± 0,06	2,19 ± 0,49
17-Метилгексодеканова	17:0 ізo	1,67 ± 0,08	2,25 ± 0,57
Гептадеканова	17:0	1,23 ± 0,04	1,00 ± 0,33
Стеаринова	18:0	23,61 ± 0,99	28,26 ± 5,09
Олеїнова	18:1	19,82 ± 1,46	16,08 ± 4,39
18-Метилоктадеканова	19:0 ізo	2,91 ± 0,02	2,47 ± 0,41
Нонадеканова	19:0	0,21 ± 0,03	0,21 ± 0,05
19-Метилнонадеканова	20:0 ізo	2,72 ± 0,19	2,92 ± 0,37
Арахінова	20:0	2,82 ± 0,21	2,59 ± 0,25
Ейкозаєнова	20:1	1,41 ± 0,05	0,95 ± 0,32
Неідентифікована-1	—	1,24 ± 0,64	0,92 ± 0,45
18-Метилейкозанова	21:0 антеїзо	3,47 ± 0,35	2,21 ± 0,86
Генейкозанова	21:0	0,94 ± 0,11	0,68 ± 0,16
Неідентифікована-2		0,70 ± 0,29	3,40 ± 0,19**
Бегенова	22:0	3,23 ± 1,40	2,54 ± 1,68
Лігноцеринова	24:0	3,20 ± 0,34	6,29 ± 2,87
Σ насичених		74,54	80,18
Σ ненасичених		22,82	18,27
Σ неідентифікованих		1,24	0,92

лена тенденція є цілком закономірною. Як свідчать результати досліджень, наведені у табл. 1, 3, кількість 18-МЕК у зв'язаних ліпідах зменшується приблизно у 7 разів, натомість у вільних ліпідах, навпаки, зростає майже у 6 разів. Це дозволяє зробити припущення, що у зв'язаній вовні руйнуються тіоефірні зв'язки, за допомогою яких ІЛ ковалентно зв'язуються через 18-МЕК з протеїнами, внаслідок цього значна частина зв'язаних ліпідів переходить у вільний стан.

Жирнокислотний склад ковалентно зв'язаних структурних ліпідів патологічно стоншеної вовни характеризується лише двократним зниженням рівня 18-МЕК (табл. 4), що, очевидно, також пов'язано зі зменшенням кутикулярного шару. Як і у разі зв'язаної вовни, співвідношення насичених до ненасичених жирних кислот у нормальних і патологічно стоншених волокон практично не змінюється.

Варто зазначити, що сумарна кількість 18-метилейкозанової кислоти у зв'язаній та патологічно стоншеній вовні є вдвічі меншою (17 і 20% відповідно) у порівнянні з нормальною (40%). Це наводить на думку, що певна її кількість втрачається завдяки механічному відшаруванню і подальшій втраті кутикулярного шару. На такі зміни вказують й інші автори. Зокрема, Thibaut S. et al. спостерігали подібну картину в людському волоссі від довготривалого впливу негативних факторів навколишнього середовища [13].

Отже, одержані нами дані вказують на те, що незалежно від виду дефекту вовняного волокна, мають місце кількісні зміни в їхньому жирнокислотному складі. Встановлено зниження рівня 18-МЕК у складі ковалентно зв'язаних ліпідів як за патологічного стоншення, так і у разі зв'язування вовняних волокон, що пов'язано з пошкодженням поверхні

Таблиця 3. Жирнокислотний склад ковалентно зв'язаних структурних ліпідів нормальної та зваленої вовни, % ($M \pm m$, $n = 3$)

Жирні кислоти	Код кислоти	Вовна		
		нормальна	звалена	звалена пожовтіла
Міристинова	14:0	1,81 ± 0,60	4,46 ± 0,77	2,27 ± 0,13
Пентадеканова	15:0	2,43 ± 0,74	3,30 ± 0,47	3,34 ± 0,32
Пальмітинова	16:0	11,47 ± 0,79	15,99 ± 1,10*	16,49 ± 0,56 ***
Пальмітолеїнова	16:1	4,97 ± 1,45	9,86 ± 1,62	6,59 ± 0,36
Гептадеканова	17:0	10,43 ± 0,52	4,01 ± 0,73***	8,33 ± 0,38*
Стеаринова	18:0	15,50 ± 1,31	12,82 ± 1,22	15,65 ± 0,38
Олеїнова	18:1	7,47 ± 1,17	4,20 ± 0,65	5,45 ± 0,93
Ізооктадеканова	18:0 ізо	2,76 ± 0,32	14,24 ± 1,99****	11,63 ± 1,96**
Арахінова	20:0	3,94 ± 0,87	25,51 ± 1,73****	26,35 ± 1,31****
18-Метилейкозанова	21:0 антеізо	39,23 ± 5,03	5,62 ± 1,07***	3,92 ± 0,61***
Σ насичених		87,57	85,95	87,98
Σ ненасичених		12,44	14,06	12,04

Таблиця 4. Жирнокислотний склад ковалентно зв'язаних структурних ліпідів нормальної і патологічно стоншеної вовни, % ($M \pm m$, $n = 3$)

Показники	Код кислоти	Вовна	
		нормальна	патологічно стоншена
Міристинова	14:0	1,06 ± 0,39	1,81 ± 0,82
Пентадеканова	15:0	1,83 ± 0,19	1,98 ± 0,35
Пальмітинова	16:0	11,77 ± 0,89	11,88 ± 2,05
Пальмітолеїнова	16:1	7,71 ± 1,29	7,25 ± 1,47
Гептадеканова	17:0	8,26 ± 0,98	11,19 ± 1,33
Стеаринова	18:0	15,31 ± 1,39	16,47 ± 2,61
Олеїнова	18:1	7,05 ± 1,48	10,30 ± 2,63
Ізооктадеканова	18:0 ізо	5,87 ± 0,80	8,56 ± 2,92
Арахінова	20:0	3,90 ± 0,55	13,19 ± 5,08
18-Метилейкозанова	21:0 антеізо	37,22 ± 4,27	17,36 ± 2,05**
Σ насичених		85,22	82,44
Σ ненасичених		14,76	17,55

кутикулярного шару. Збільшення частки 18-МЕК у складі вільних ліпідів у разі звалювання вовняних волокон вказує на руйнування тіоефірних зв'язків між ліпідами і протеїнами ламелярних структур кутикулярного шару.

Автори висловлюють подяку професорові університету штату Айова Р. Wertz за консультації та методичну допомогу.

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ СТРУКТУРНЫХ ЛИПИДОВ НОРМАЛЬНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ ШЕРСТНЫХ ВОЛОКОН

В. В. Гавриляк, В. М. Ткачук

Институт биологии животных
НААН, Львов, Украина;
e-mail: havvita@ukr.net

Целью исследования было изучить жирнокислотный состав структурных липидов, выделенных из нормальных и патологически измененных шерстных волокон. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что независимо от вида дефекта шерстного волокна, выявлены количественные изменения в их жирнокислотном составе.

Показано, что основной жирной кислотой ковалентно связанных липидов, выделенных из шерстных волокон, является 18-метилэйкозановая кислота (18-МЭК), содержание которой составляет почти 40% от их общего количества, при этом ее количество в составе свободных липидов в норме не превышает 4%.

Установлено снижение уровня 18-МЭК в составе ковалентно связанных липидов как при патологическом утончении, так и при свойлачивании шерстных волокон, что связано с повреждением поверхности кутикулярного слоя. Увеличение содержания 18-МЭК в составе свободных липидов при свойлачивании шерстных волокон может свидетельствовать о разрушении тиоэфирных связей между липидами и протеинами ламеллярных структур кутикулярного слоя.

Ключевые слова: волокно, свободные и связанные структурные липиды, жирнокислотный состав, пожелтение, утончение, свойлачивание.

FATTY ACID COMPOSITION OF STRUCTURAL LIPIDS OF NORMAL AND ABNORMAL WOOL FIBRES

V. V. Havrylyak, V. M. Tkachuk

Institute of Animal Biology, National Academy
of Agrarian Sciences, Lviv, Ukraine;
e-mail: havvita@ukr.net

Summary

The purpose of this study was to determine the fatty acid composition of structural lipids, isolated from normal and abnormal wool fibers. The

results of these studies show that regardless of the type of wool fibers defect there are quantitative changes in their fatty acid composition.

It was shown that the main fatty acid of the covalently bound lipids, isolated from the wool fibers, is 18-methyleicosanoic acid (18-MEA), comprising 40% of the total fatty acid, while its amount in free lipids in norm is less than 4%.

The decrease of 18-MEA content in the covalently bound lipid both in pathological thin and entangled wool fibers was established, which is associated with damage of the cuticle layer surface. Increasing of 18-MEA content in the free lipids in the entangled wool fibers may indicate a rupture of tioester links between lipids and proteins of cuticle layer lamellar structures.

Key words: fiber, free and bound structural lipids, fatty acid composition, yellowing, thinning, entangling.

1. *Рук А., Даубер Р.* Болезни волос и волосистой части головы. — Мир, 1985. — 528 с.
2. *Robbins C. R.* Chemical and physical behavior of human hair. 5th Ed., New York, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag — 2012. — 724 p.
3. *Schwan A., Herrling J., Zahn H.* // Colloid Polym. Sci. — 1986. — **264**. — P. 171–175.
4. *de Jager M. W., Gooris G. S., Dolbnya I. P. et al.* // J. Lipid Res. — 2004. — **45**. — P. 923–932.
5. *Körner A., Höcker H., Rivett D. E.* // Fresenius J. Analyt. Chem. — 1992. — **344**. — P. 501–509.
6. *Smith J. R., Swift J. A.* // J. Microscopy. — 2002. — **206**. — P. 182–193.
7. *Smith J. R., Swift J. A.* // Micron. — 2005. — **36**, N 3. — P. 261–266.
8. *Wertz P. W., Downing T. D.* // Lipids. — 1988. — **23**, N 9. — P. 878–881.
9. *Stoffel W., Chu F., Ahrens E. H.* // Anal. Chem. — 1959. — **31**. — 308 p.
10. *Dauvermann-Gotsche C., Körner A., Höcker H.* // J. Textile Inst. — 1999. — N 90, part 3. — P. 13–29.
11. *Jones L. N., Peet D. J., Danks D. M. et al.* // J. Invest. Dermatol. — 1996. — **106**. — P. 461–464.
12. *Thibaut S., Becker de E., Bernard B. A. et al.* // Inter. J. Cosmet. Sci. — 2010. — **32**. — P. 422–434.
13. *Won-Soo Lee, Tak Heon Oh, Seung Hyun Chun et al.* // J. Invest. Dermatol. Symp. Proc. — 2005. — **10**. — P. 234–237.

Отримано 13.06.2012