

В. А. КІЩЕНКО, канд. техн. наук, нач. наук.-метод. лабораторії хроматографічних досліджень, ДП «Укрметртестстандарт», Київ;
І. В. ЛЕВЧУК, канд. техн. наук, заст. нач. наук.-метод. лабораторії хроматографічних досліджень, ДП «Укрметртестстандарт», Київ;
М. І. ОСЕЙКО, д-р техн. наук, проф., НУХТ, Київ,
О. В. ГОЛУБЕЦЬ, канд. сіл.-госп. наук, с. н. с., ДП «Укрметртестстандарт», Київ,
О. А. ЛИТВИНЕНКО, канд. техн. наук, с. н. с., НТУ «ХПІ», Харків

ВИЗНАЧЕННЯ СКВАЛЕНУ – УНІКАЛЬНОГО ФІТОСТЕРИНУ ЛІПІДІВ МЕТОДОМ ГАЗОРІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Наведено унікальні властивості фітостерину ліпідів – сквалену. Показана необхідність ідентифікації сквалену в амарантовій олії і сумішевих оліях. Розроблено методику визначення сквалену для проведення контролю олій у виробництві дієтичних і лікувально-профілактичних продуктів, у виробництві косметичної, харчової та іншої продукції.

Ключові слова: рослинні олії, амарантова олія, сквален, ідентифікація, газорідинна хроматографія.

Вступ. Одним із шляхів вирішення проблеми здоров'я та харчування населення є виробництво і широке використання якісних і безпечних рослинних олій з гарантованим вмістом поліненасичених жирних кислот, вітамінів, фітостеринів та інших життєво-необхідних для організму людини біологічно-активних сполук [1, 2].

Перевага використання рослинної олії для корекції нестачі фізіологічно-функціональних інгредієнтів перед лікарськими препаратами, що їх містять, полягає в тому, що рослинна олія є традиційним харчовим продуктом, який не дає ускладнень і побічних реакцій в організмі.

Харчова цінність і біологічні властивості рослинних олій не обмежуються лише жирнокислотним складом. Велике значення має вміст в олії супутніх речовин, серед яких особлива роль належить антиоксидантам – токоферолам, каротиноїдам і фітостеринам. Перспективними джерелами нетрадиційної сировини в цьому відношенні є насіння льону, рижю, конопель, волоські горіхи, зародки пшениці і амарант [2 – 4].

Аналіз останніх досліджень та літератури. Амарант (*від грецьк. – вічний, нев'янучий*) – привертає на себе увагу дослідників та практиків сільського господарства та харчової промисловості багатством та збалансованістю білка, високою врожайністю, підвищеним складом вітамінів та мінеральних солей. Насіння амаранту містить в середньому 15 - 17 % білку, 5 - 8 % олії та 3,7 - 5,7 % клітковини, що більше, ніж в більшості зернових культур [5, 6]. Фізико-хімічний склад насіння амаранту, як і інших олійних культур, залежить від видової приналежності, кольоровості насіння, кліматичних умов вирощування. Вміст олії в світлому насінні складає 7,53 - 9,71 %, а в темному – 5,81 - 6,81 % [7]. Не зважаючи на низький вміст олії, насіння амаранту є джерелом для виробництва цінної олії. Унікальність олії амаранту визначають дві його складові. Перша – вітамін Е у доволі рідкій формі токотриєну, особливо активний (завдяки чому він вважається могутнім антиоксидантом), а друга – це сквален.

Сквален $C_{30}H_{50}$ – це природний ациклічний тритерпен з шістьма подвійними зв'язками, а саме: 2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14,18,22-тетракозагексаєн.

Сквален використовується в різних галузях фармацевтичної, парфумерної і косметичної промисловості. Ця речовина є обов'язковою складовою людської шкіри та являється проміжною ланкою при біосинтезі холестерину у вітамін D. Сквален активно сприяє нормалізації процесів тканинного дихання і обміну речовин в організмі, має антиканцерогенний та протипухлинний вплив, підвищує стійкість організму до різнотипних вірусів, бактеріальних і грибкових інфекцій та впливу радіаційного випромінювання [8, 9].

У чистому вигляді сквален отримують з печінки глибоководних акул (назва сквален походить від *squalus* – акула), що визначає високу собівартість отриманого продукту. Сквален міститься також в рослинних оліях, у більшості тваринних та рослинних тканин. В традиційних олійних культурах його вміст, як правило, не перевищує 1%. Так маслинова олія містить 0,7 % сквалену, олія з рисових висівок – 0,3 %, олія з пшеничних зародків і кукурудзяна олія – 0,1 %, в той час як в олії амаранту його вміст варіюється від 4,8 до 8 %. Таким чином, насіння амаранту є альтернативним джерелом натурального сквалену [9, 10].

Сучасний технологічний процес переробки олійного насіння передбачає наступні операції:

- підготовка до зберігання та зберігання насіння;
- підготовка насіння до вилучення олії;
- вилучення олії (пресуванням, прямою екстракцією, послідовним пресуванням та екстракцією);
- первинне та комплексне очищення олії;
- обробка шроту [2].

Однак низький вміст олії та наявність великої кількості крохмалістих речовин ускладнює вологотеплову обробку та пресування насіння амаранту. Отримати олію безпосередньо з насіння або борошна амаранту на шнекових пресах практично неможливо, тому для отримання олії з насіння амаранту зазвичай використовується екстракція органічними розчинниками. Хімічний склад амарантової олії може відрізнятися в залежності від виробника та способу отримання (пресовий, екстракційний, флюїдна екстракція, мацерація). Так, у складі екстракційної олії міститься більше фосфоліпідів та токоферолів, а при холодному пресуванні більшою мірою вивільняються тригліцерини, вільні жирні кислоти та ефіри стеринів, при екстракції рідким CO₂ та рослинною олією в екстрактах практично відсутні фосфоровмісні речовини та воски, тому екстракти придатні до використання без додаткової обробки [10 – 12].

Олія амаранту, завдяки своєму унікальному біохімічному складу має яскраво виражені профілактичні та лікувальні властивості. Поєднання протипухлинних, протизапальних, антибактеріальних, кровоспиняючих та сечогінних якостей амарантової олії значно підвищує ефект лікарської терапії онкологічних, токсико-інфекційних та інших захворювань. Амарантова олія добре поєднується з будь-яким медикаментозним лікуванням, знижує побічні ефекти активної терапії (хіміо- та радіотерапія), зменшує прояви токсикозів, відновлює роботу клітин та епітелію, залоз внутрішньої секреції, кровоносної системи, попереджує розвиток ерозійних процесів [13, 14].

В умовах сьогодення важливим є практичне використання амарантової олії у виробництві продуктів дієтичного, лікувально-профілактичного призначення, в технологіях парфумерно-косметичної та олієжирової продукції.

Необхідно зазначити, що у зв'язку з розповсюдженням псевдо амарантових олій та олійних екстрактів («Амарантова олія», «Олія амарантова», «Олія амаранту» тощо) актуальним є ідентифікація і кількісне визначення сквалену у рослинних і купажованих оліях.

Мета досліджень. Таким чином, метою дослідження є розробка методики визначення сквалену для проведення моніторингу олій за його вмістом.

Результати досліджень. Дослідження сквалену проведено на газовому хроматографі HP 6890 фірми HEWLETT PACKARD з автоматичним інжектором з діленням потоку (split), оснащеному термостатом колонки з програмуванням температури, полум'яно-іонізаційним детектором і комп'ютерною системою зі спеціальним програмним забезпеченням для автоматичного інтегрування та ідентифікації піків Chem. Station Ver. A.06.03. Для газохроматографічного розділення визначено такі умови:

1. Температурний режим термостата колонки наведено у таблиці.

Таблиця – Температурний режим термостата колонки

швидкість (°с /хв.)	температура, °с	час, хв.
початкова	250	0
15	280	1,0
15	340	4,0
0	350	1,0

2. Інжекційна система з діленням потоку (split): температура – 340°C; тиск – 20,75 psi; коефіцієнт ділення потоку (split ratio) – 20:1; потік ділення – 49,9 мл/хв; загальний потік – 55,3 мл/хв.

3. Газ-носії – гелій; потік газу-носія – 2,5 мл/хв.

4. Капілярна колонка Vf-5 ms з нерухомою неполярною фазою – (5%-феніл)-диметилполісілоксаном: довжина 30 м, діаметр 0,32 мм, товщина плівки 0,25 мкм, високотемпературна (максимальна температура – 350°C).

5. Детектор полум'яно-іонізаційний (ПІД): температура – 350°C; потік водню – 30 мл/хв; потік повітря – 300 мл/хв; допоміжний потік – 20 мл/хв; допоміжний газ-носії – азот.

6. Об'єм введеної проби – 1,0 мкл.

7. Концентрація зразка – 1,0 мг/мл.

8. Загальна тривалість аналізу – 11,0 хв.

При дослідженні як якісного так і кількісного визначення сквалену в оліях методом газорідинної хроматографії використано у якості внутрішнього стандарту сквалан [15].

Для підготовки проб брали наважки зразків олій по 2 г (на вагах Melter Toledo) у колбу об'ємом 250 мл.

Омилення проби відбувалось при додаванні 50 мл розчину гідроксиду калію в метанолі. Перед цим додали до проби 2 мл стандартного розчину сквалану (як внутрішній стандарт) та кип'ятили протягом 1 год. По закінченні нагрівання додавали 50 мл бідистильованої води та охолоджували вміст колби.

Після охолодження проводили екстракцію неомилюємих речовин (це стерини, вищі вуглеводні та спирти, спирти аліфатичного і терпенового ряду та інші органічні речовини, що присутні у продукті, які після омилення їдким калієм та екстракції гексаном залишаються у сухому залишку). Для цього переносили розчин у ділільну

лійку. Колбу промивали діетиловим етером (40 мл) та переносили її вміст у ділильну лійку. Струшували лійку протягом 1 хв. та залишали в спокої для розділення шарів.

Для видалення розчинника – діетилового етеру – кількісно переносили ефірний розчин з ділильної лійки у колбу (250 мл), лійку промивали діетиловим етером (5 мл) та випаровували розчинник з колби на ротаційному випарнику. Сухий залишок висушували протягом 15 хв. у сушильній шафі, розчиняли у діетиловому етері (1,0 – 1,5 мл) і переносили кількісно до віали. Залишали на плитці під витяжною шафою до повного випаровування етеру. Процедуру повторювали ще двічі. До одержаного сухого залишку додавали 1 мл розчинника – хлороформу. Для відокремлення стеринової фракції від інших неомилюємих речовин використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). Проявляли пластину 0,5 % розчином родаміну 6G в етанолі. Ідентифікували у світлі УФ-лампи смугу (пляму), що відповідає стеринам, порівнюючи зі смугою стандарту («свідка»). Переносили ідентифіковану смугу разом із сорбентом у колбу для фільтрування, додавали 5 мл діетилового етеру. Прокип'ятили протягом 15 хв та відфільтрували крізь паперовий фільтр. Повторили процедуру фільтрування з додаванням 5 мл етеру тричі. Залишали розчинник випаровуватись з фільтрату, після чого додали 1 мл етеру і перенесли кількісно до віали. Сквален було ідентифіковано за часом утримання відповідно до часу утримання стандарту (сквалену). Склад аналізованої суміші кількісно розрахували методом внутрішнього стандарту, який ґрунтується на тому, що до наважки проби додають відому кількість внутрішнього стандарту (сквалану) – сторонньої сполуки, що дає на хроматограмі добре розділений пік (рис. 1, 2).

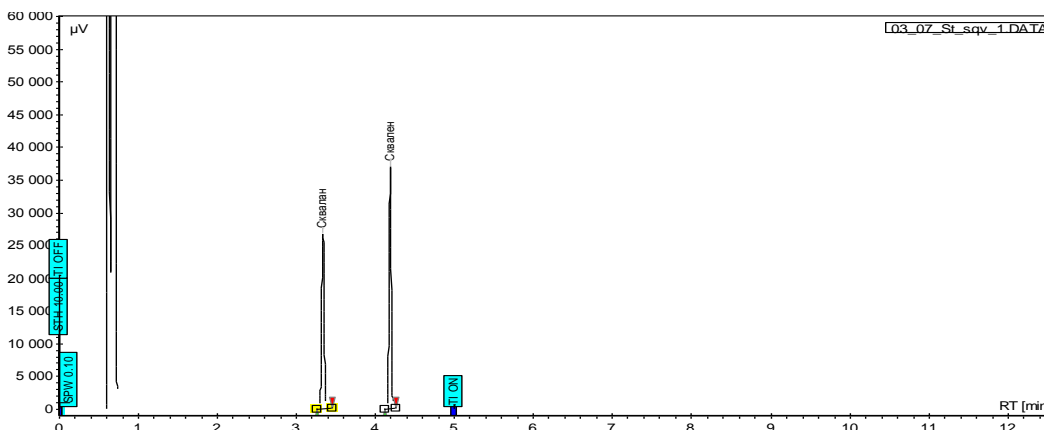


Рис.1 – Хроматограма стандартної суміші сквалану і сквалену

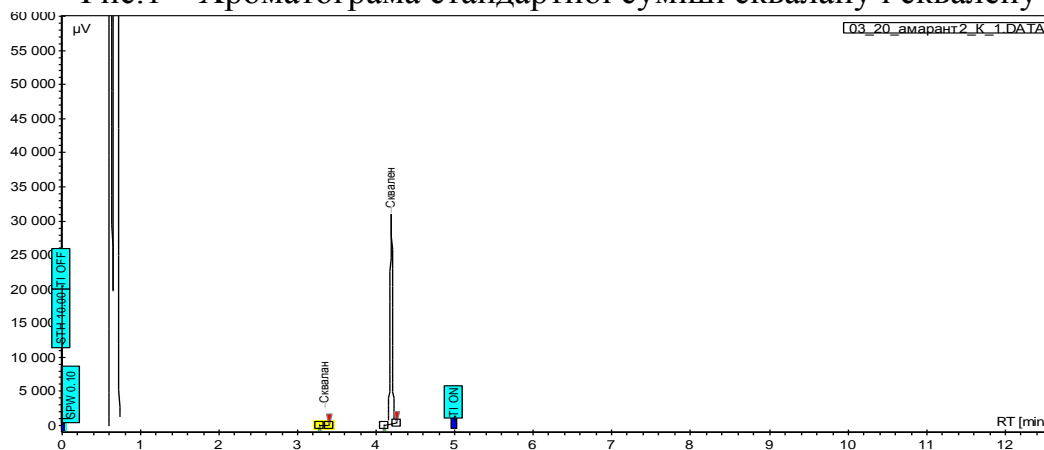


Рис. 2 – Хроматограма підготовленої проби амарантової олії зі скваленом

З використанням розробленої методики проводиться моніторинг вмісту сквалену в рослинних і купажованих оліях.

Висновки. Розроблено методику щодо визначення сквалену в амарантовій, рослинних оліях та олійних екстрактах методом газорідинної хроматографії. Методика забезпечує визначення якісного та кількісного вмісту сквалену в оліях, які використовуються у виробництві дієтичних, лікувально-профілактичних продуктів і добавок, в технологіях парфумерно-косметичної та олієжирової продукції.

Список літератури: 1. *Осейко М.* Інноваційні технології та безпечність олієжирової продукції / *М. Осейко, В. Кіщенко, І. Левчук* // Харчова і переробна промисловість. – К.: НУХТ, 2008. – Вип. 3 (343). – С. 22 – 24. 2. *Осейко М. І.* Технологія рослинних олій / *М. І. Осейко.* – Київ: ВВ «Варта», 2006. – 280 с. 3. *Осейко М. І.* Нанотехнології ліпидовмісних оздоровчих продуктів, екстрактів і добавок у системі КТІОЛ [Текст] / *М. І. Осейко* // Новітні технології оздоровчих продуктів харчування XXI століття: Міжнародна науково-практична конференція, 21 жовтня 2010 р. – Харк. держ. ун-т харчування та торгівлі. – Харків: ХДУХТ, 2010. – С. 65 – 66. 4. *Тутельян В. А.* Функциональные жировые продукты в структуре питания / *В. А. Тутельян, А. П. Нечаев, А. А. Кочеткова* // Масложировая промышленность. – 2009. – № 6. – С. 6 – 9. 5. *Кононков П. Ф.* Амарант перспективная культура XXI века / *П. Ф. Кононков, В. К. Гинс, М. С. Гинс.* – Науч. изд. – М.: Изд-во РУДН, 1999. – 297 с. 6. *Чиркова Т. В.* Амарант культура XXI века / *Т. В. Чиркова* // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 10. – С. 22 – 27. 7. *Камышева И. М.* Разработка технологий комплексной переработки семян амаранта на пищевые цели: Автореф. дис. канд. техн. наук: Спец. 05.18.06 / *И. М. Камышева*; ГНУ ВНИИЖ. – СПб, 2000. – 37 с. 8. *Козьрин И. П.* Амарант хвостатый – ценное пищевое и лекарственное растение / *И. П. Козьрин, Г. Н. Липкан* // Биология та фармація. – Київ, 2009. – № 3. – С. 60 – 63. 9. *He N. P.* Extraction and purification of squalene from amaranthus grain / *N. P. He, Y. Cai, M. Sun, H. Gorke* // J. Agric. Food Chem., 2002. – V.50. – P. 368 – 372. 10. *Быкова С. Ф.* Семена амаранта – новое масложировое сырье / *С. Ф. Быкова, Е. К. Давиденко, Ю. В. Быков* // Масла и жиры, 2006. – № 11 (68). – С. 14 – 15. 11. *Журавель Н. В.* Амарант – перспективная зернокармальная культура для возделывания на юге России: [Электронный ресурс] / *Н. В. Журавель, В. В. Чумакова* // Зерновое хозяйство России. – 2012. – № 2. – Режим доступа: [http://www.zhros.ru/num20\(2\)_2012/pdf/st03_02_2012-20_zhuravel.pdf](http://www.zhros.ru/num20(2)_2012/pdf/st03_02_2012-20_zhuravel.pdf) 12. *Кретов И. Т.* Масло из семян амаранта / *И. Т. Кретов, С. Н. Соколов, Л. А. Мирошниченко, И. М. Жаркова* // Масложировая промышленность, 2006. – № 1. – С. 22 – 23. 13. *Козьрин И. П.* Амарант хвостатый – ценное пищевое и лекарственное растение / *Козьрин И. П., Липкан Г. Н.* // Фітотерапія. Часопис. – 2009. – № 3. – С. 60 – 63. 14. Амарантовое масло – Ваш секрет долголетия: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.amarant-aktiv.com/index.html> 15. Жири та олії тваринні і рослинні. Визначення складу стерінової фракції. Газохроматографічний метод (ISO 6799:1991, IDT): ДСТУ ISO 6799-2002. – [Чинний від 2003-04-01]. – К. : Держспоживстандарт України, 2003. – 13 с. – (Національні стандарти України).

Поступила в редколегію 11.03.2013

УДК 664:665.1/7:539:542/543

Визначення сквалену – унікального фітостерину ліпідів методом газорідинної хроматографії / Кіщенко В. А., Левчук І. В., Осейко М. І., Голубець О. В., Литвиненко О. А. // Вісник НТУ «ХП». Серія: Нові рішення в сучасних технологіях. – Х: НТУ «ХП», – 2013. - № 11 (985). – С. 137-141. – Бібліогр.:15 назв.

Приведены уникальные свойства фитостерина липидов сквалена. Показана необходимость идентификации сквалена в амарантовом масле и смесевых маслах. Разработана методика определения сквалена для проведения контроля масел в производстве диетических и лечебно-профилактических продуктов, в производстве косметической, пищевой и другой продукции.

Ключевые слова: растительные масла, амарантовое масло, сквален, идентификация, газожидкостная хроматография.

Unique properties of phytosterol of lipids of squalene are brought. The necessity of identifying squalene in amaranth oil and blended oils is shown. The definition technique of squalene is developed for monitoring procedure of oils for the production of dietary and treatment-and-prophylactic products, for producing cosmetic, food and other products.

Keywords: vegetable oils, amaranth oil, squalene, authentication, gas-liquid chromatography.