



УДК 54-386:577.125.53

Определение фосфолипидного состава масел льна и чужбы методом ТСХ

Санина Г.С., Назарова А.А., Селеменев В.Ф.

ГОУ ВПО ВГУ «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 10.08.2009 г.

Аннотация

Проанализирован качественный и количественный фосфолипидный состав масел льна и чужбы методом тонкослойной хроматографии с использованием стандартного образца лецитина.

Ключевые слова: масло льна и чужбы, фосфолипиды, тонкослойная хроматография, лецитин.

The qualitative and quantitative structure of oils of *Linum usitatissimum* and *Cyperus esculentus* by a method of the thin layer chromatography (TCL) with use of the standard sample of lecithin is analised.

Key words: Oils of *Linum usitatissimum* and *Cyperus esculentus*, phospholipids, TCL method, lecithin.

Введение

В настоящее время практически во всех продуктах питания, поступающих в продажу, наблюдается дефицит полезных биологически активных веществ. В то же время нарушения экологии, принимающие в последние годы все больший размах, ослабляют человеческий организм. Врачи рекомендуют для поддержания его нормального функционирования принимать биологически активные добавки, которые помогают предотвратить болезни и укрепить иммунную и другие системы организма [1]. Одной из биологически активных добавок, широко распространенных в продаже, является лецитин, в его состав входят различные фосфолипиды, выделенные из яичных желтков или проращенных семян сои, естественно, такие источники фосфолипидов довольно дороги [2]. Поэтому представляется актуальным поиск более дешевых и доступных источников для производства фосфолипидов.

Наибольший интерес в этом направлении представляют различные предприятия по производству растительных масел, в первую очередь, предприятия по выработке различных масел.

Как уже было сказано выше, для этой цели нами были выбраны масло чужбы и льна. Все упомянутые культуры пригодны для получения богатого витаминами и биологически активными веществами масла, однако точные сведения о качественном и количественном составе этих масел отсутствуют.

Эксперимент

Выделение фосфолипидного комплекса (ФЛК) из различных растительных масел проводилось по известной методике [3]. К пробе масла добавляли хлороформ, обрабатывали избытком холодного ацетона и помещали в холодильник. Образовавшийся осадок фильтровали.

Анализ методом ТСХ проводили в смеси растворителей хлороформ – метанол – уксусная кислота – вода в соотношении 50:25:8:4 [4].

Элюенты готовили смешиванием компонентов в указанных соотношениях непосредственно перед использованием. В процессе приготовления смешанных элюентов нужно обратить внимание на точную дозировку компонентов, поскольку даже небольшие изменения состава смеси могут привести к изменению величины R_f [3].

Для анализа использовались пластины марки Sorbfil. После нанесения проб стандартного образца концентрацией 5 мг/мл пластины помещались в камеру, насыщенную парами элюента. После поднятия фронта растворителя на 8 см пластины извлекались и просушивались. В качестве проявителя использовали 5%-ный спиртовой раствор фосфомолибденовой кислоты (ФМК) и 1%-ный раствор нингидрина [4]. Далее полученные хроматограммы были отсканированы на сканере Canon MP 180 и обработаны компьютерной программой Sorbfil TCL Videodensitometer.

Обсуждение результатов

В качестве объектов нами были взяты 5 масел льна различных фирм, произведенные способом холодного отжима (табл.1), а также свежеевыжатые масла льна и чужфы и осадки этих масел.

Таблица 1. Масла льна, используемые для анализа

№	Название объекта	Степень очистки	Фирма-производитель
1	Масло льняное	Нерафинированное недезодорированное	ООО «Агросельпром», Украина
2	Масло льняное с селеном	нерафинированное	ООО «Биокор», Россия
3	Масло льняное «Докторъ Масловъ»	нерафинированное	ООО «НКПФ ДекосТ», Россия
4	Масло льняное с витамином Е	нет данных	ООО «Соцсервис агро», Россия
5	Масло льняное «Алтайский букет»	нерафинированное	ООО НПФ «Алтайский букет», Россия

После выделения ФЛК из различных объектов нами был проведен сравнительный анализ содержания концентратов в различных объектах (табл. 2, рис. 1).

Таблица 2. Количественное содержание ФЛК в исследуемых маслах (относительная ошибка определения $\xi = 4,4\%$; количество измерений $n=3$; доверительная вероятность $\alpha=0,95$; коэффициент Стьюдента $t_a=4,3$)

Масло	Содержание ФЛК, %
Промышленное масло льна №1	10,08
Промышленное масло льна №2	8,52
Промышленное масло льна №3	0,33
Промышленное масло льна №4	0,35
Промышленное масло льна №5	0,32
Свежевыжатое фильтрованное масло льна	13,88
Свежевыжатое нефилтрованное масло льна	16,45
Осадок свежевыжатого масла льна	9,13
Свежевыжатое фильтрованное масло чумы	14,77
Осадок свежевыжатого масла чумы	9,81

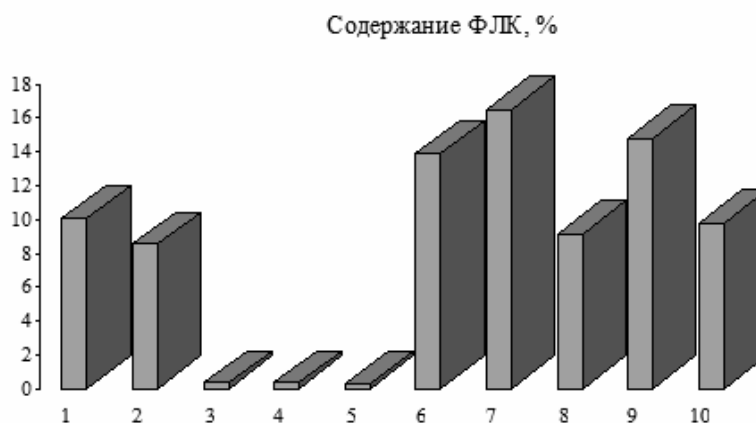


Рис. 1. Количественное содержание ФЛК в исследуемых маслах:

1- масло льна №1, 2 - масло льна №2, 3 - масло льна №3, 4 - масло льна №4, 5 - масло льна №5, 6 - свежее выжатое фильтрованное масло льна, 7 - свежее выжатое нефилтрованное масло льна, 8 - осадок свежевыжатого масла льна, 9 - свежее выжатое фильтрованное масло чумы, 10 - осадок свежевыжатого масла чумы.

Исходя из данных табл. 2 и рис.1, можно увидеть, что наибольшее количество ФЛК содержится в свежее выжатом нефилтрованном масле льна, его доля достигает 16 % (по массе). Поскольку ФЛ являются биологически активными веществами, их количество в готовом продукте может служить показателем пищевой ценности масла.

Из сравнения данных по содержанию ФЛК в фильтрованном и нефилтрованном масле льна можно сделать вывод, что при отжиме в масло переходят некоторые количества связанных ФЛ, а также гидратированных ФЛ, о чем говорит мутность масла и осадок, который образуется при хранении. После удаления этого осадка фильтрованием в масле остаются только свободные негидратированные ФЛ. В пищу рекомендуют употреблять именно свежее выжатое льняное масло, так как количество ФЛ в нем максимально. К сожалению, ФЛ отрицательно влияют на срок хранения масла, из-за их лабильности и быстрой окисляемости такое масло быстро портится. Поэтому при выпуске промышленных масел некоторую часть ФЛ все же удаляют. Однако на различных предприятиях по изготовлению льняного масла в промышленных масштабах используются различные виды обработки масла. Из

данных табл. 2 видно, что на предприятиях «Агросельпром» (Украина, Днепропетровск) и ООО «Биокор» (Россия, Пенза) (масла №1 и №2 соответственно) применяется более щадящий режим обработки, вследствие чего и количество ФЛ в этих маслах больше (10,08 % в масле льна №1 и 8,52 % в масле льна №2). В отличие от вышеперечисленных предприятий, в НКПФ «ДекосТ» (Россия, Москва), ООО «СоцСервис Агро» (Россия, Москва) и ООО НПФ «Интер-масло» (Россия, Барнаул) применяется рафинация и дезодорация, что положительно влияет на срок хранения масла, но отрицательно – на количество ФЛ.

Количество ФЛК в свежесвыжатом фильтрованном масле чумы достигает 14,77 %, что не сильно отличается от аналогичного показателя для свежесвыжатого фильтрованного масла льна (13,88 %). Осадки этих масел также не сильно отличаются по количественному содержанию ФЛК (9,81 % и 9,13 % соответственно), что может говорить о примерно одинаковой биологической ценности этих масел, а также об одинаковом соотношении свободных негидратированных и связанных гидратированных ФЛ в готовом продукте.

Далее нами был проанализирован качественный и количественный состав выделенных ФЛК.

Таблица 3. Качественный и количественный состав ФЛК исследуемых масел и их осадков ($\xi = 7,8\%$; $n=3$; $\alpha=0,95$; $t_a=4,3$)

ФЛ	Содержание ФЛ, %						
	Масло льна №1	Масло льна №2	Свежесвыжатое фильтрованное масло льна	Свежесвыжатое нефилтрованное масло льна	Осадок свежесвыжатого масла льна	Свежесвыжатое масло чумы	Осадок свежесвыжатого масла чумы
ЛФХ	+	+	6,6	15,8	9,4	1,7	11,6
ФИ	-	-	31,1	21,1	17,1	26,4	16,4
ФХ	15,1	24,1	36,1	33,3	38,5	15,9	34,8
ФС	11,3	23,3	4,9	15,8	13,2	40	13,4
ФЭА	73,6	52,6	21,3	14	21,8	15,9	23,9

Для всех ФЛ были определены данные по значениям R_f , которые практически не отличаются от литературных: лизофосфатидилхолин (ЛФХ) – 0,10; фосфатидилинозитол (ФИ) – 0,22; фосфатидилхолин (ФХ) – 0,55; фосфатидилсерин (ФС) – 0,66; фосфатидилэтаноламин (ФЭА) – 0,83 [3].

Количественный расчет проводился по градуировочным графикам для каждого из фосфолипидов в отдельности. Данные для графиков получены с помощью программы Sorbfil TCL Videodensitometer. При построении графика было отмечено, что площадь пятна на хроматограмме не зависит от вида ФЛ и при одинаковой концентрации зоны всех ФЛ имеют одинаковую площадь. Это объясняется нами тем, что в молекуле каждого ФЛ содержится только один атом фосфора, с которым вступает ФМК (проявитель).

Из данных табл.3 видно, что промышленные и свежесвыжатые масла сильно различаются по своему качественному и количественному составу. Что касается

масел №№1, 2, то в состав их ФЛК входят только три ФЛ – ФХ, ФС и ФЭА. ЛФХ в этих маслах находится в малом количестве, не превышающем ошибки метода. Пятен ФИ на хроматограммах не наблюдается вообще. Самое большое количество ФХ находится в масле № 2 (24,1% по сравнению с 15,1 % масла №1). Исходя из полученных данных, можно сделать вывод о том, что при обработке льняного масла (методом гидратации) из него удаляются в первую очередь ФИ и ЛФХ, очевидно, как более полярные и наиболее сильно взаимодействующие с водой (в первом случае – из-за пяти гидроксильных групп в остатке инозитола, во втором – из-за отсутствия одной жирной кислоты (ЖК) в положении С₂ глицерина).

Что касается ФЛК свежесжатых масел, то в их состав входят помимо ФХ, ФС и ФЭА еще и ЛФХ и ФИ. В нефilterованном масле все указанные ФЛ, кроме ФХ, содержатся примерно в равных количествах (от 14% для ФЭА до 21,1% для ФИ). ФХ в этом образце значительно больше, его количество достигает 31,1 %. В filterованном масле количества ФИ и ФЭА увеличивается, а количество ЛФХ и ФС уменьшается, так как они переходят в осадок. Исходя из этого, можно сделать вывод о том, что ЛФХ и ФС содержались в нерастворимых соединениях или частичках семян, которые при изготовлении масла переходили в готовый продукт, и удалялись из масла filterованием. Следовательно, можно предположить, что эти соединения являются гидратированными ФЛ, которые не растворяются в масле. Содержание ФХ во всех объектах примерно равное, следовательно, он может находиться как в гидратированном, так и негидратированном виде.

Если говорить о масле чужы, то в осадке содержится намного больше ЛФХ по сравнению с filterованным маслом. Это подтверждает предположение, что ЛФХ находится преимущественно в гидратированном виде, поэтому плохо растворяется в масле. Количество этого фосфолипида в filterованном масле чужы сравнимо с аналогичным в filterованном масле льна. Кроме того, наибольший процент в ФЛК в этом масле занимает ФС, в отличие от остальных образцов, где преимущественно содержится ФХ (исключение составляют масла льна).

ФС в filterованном масле льна содержится меньше, чем в осадке и в нефilterованном масле, следовательно, он также находится в нерастворимых или гидратированных липидах. ФЭА находится во всех образцах в значительных количествах, его содержание меняется от 14 % в свежесжатом нефilterованном масле льна до 73 % в промышленном масле льна № 1.

Таким образом, в результате проведенных исследований определены качественный и количественный фосфолипидный состав масел чужы и льна и их осадков, дан сравнительный анализ состава свежесжатого и промышленного масел льна.

Список литературы

1. Скатков С.А. Нарушение липидного обмена и репродуктивная функция женского организма // Фармация. 2001. №6. С. 30-32.
2. Филиппович Ю. Б. Основы биохимии: Учебник для студ. хим. и биол. специальностей пед. ин-тов. М.: Высшая школа, 1985. 502 с.
3. Арутюнян Н.С., Корнена Е.П. Фосфолипиды растительных масел. М.: Агропромиздат, 1986. С. 3-105.
4. Сикорская А.С., Назарова А.А., Селеменев В.Ф. Подбор оптимальных условий разделения фосфолипидных комплексов, полученных из семян подсолнечника // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9. Вып. 2. С.215 – 220.

5. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. В 2-х т. / Под ред. В.Г. Березкина. / Т. 1 / Пер. с англ. Под ред. Д.Н. Соколова, М.И. Яновского. М.: Мир, 1981. 616 с.

Санина Галина Сергеевна – магистр каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732)20-89-32

Назарова Александра Александровна – ассистент каф. аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732)20-89-32

Селеменев Владимир Федорович – заведующий кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, тел. (4732)20-89-32

Sanina Galina S. – the magistrate of the department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: asmadea@mail.ru

Nazarova Alexandra A. – ass. of the department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: march_rabbit@list.ru

Selemenev Vladimir F. – professor, head of the department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, e-mail: common@chem.vsu.ru