

СОСТАВ ГЛИЦЕРИДОВ ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЕЙ РАСТЕНИЯ

Горемыкина Н.В., Верещагин А.Л., Кошелев Ю.А., Першин Н.С.

Изучен глицеридный состав облепихового масла из различных частей растения методом высокотемпературной газовой хроматографии. Показана возможность прямой идентификации моно-, ди-, и триглицеридов. Установлено, что состав глицеридов облепихового масла может быть использован для определения состава сырья.

Ключевые слова: облепиховое масло, глицериды, ГЖХ, жирно-кислотный состав.

ВВЕДЕНИЕ

Ягоды облепихи богаты витаминами, каротиноидами, флавоноидами, протеинами, антиоксидантами, жирными кислотами и фитостеролами [1]. Наиболее ценным продуктом переработки ягод облепихи является облепиховое масло, обладающее многочисленными применениями в медицинской практике благодаря уникальному составу триглицеридов. Высокая стоимость и эффективность сделала облепиховое масло привлекательным для разработки новых методов выделения и расширения диапазона используемого сырья. Влияние географического происхождения и стадии созревания на состав триацилглицеридов в ягодах облепихи ранее изучали в работах [2, 3, 4].

Целью настоящей работы является изучение возможности идентификации образцов облепихового масла, полученного из разных частей ягод облепихи методом высокотемпературной газовой хроматографии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовались ягоды облепихи сорта «Чуйская», собранные на промышленных плантациях ГНУ НИИ садоводства имени М.А. Лисавенко Россельхозакадемии и в пойме р. Катунь в августе 2013 г.

Для исследования были взяты образцы облепихового масла, полученные методом экстракции дифторхлорметаном (хладоном 22), из различных частей облепихи: плодовой оболочки (кожура), дробленого жома (продукта получаемого отжатием сока из ягод), из семян, почек и листьев.

1. Подготовка образцов для определения глицеридов.

Глицериды жирных кислот определялись методом газовой хроматографии. Образцы для анализа готовили по следующей методи-

ке: 0,02 г масла растворяли в 5 мл гексана; 0,2 мкл полученного раствора вкалывали в испаритель. Анализировали на газовом хроматографе Shimadzu GC-2010 plus при следующих условиях.

Инжектор: температура инжектора 370⁰С, поток по колонке 0,75 мл/мин, линейная скорость 33 см/сек., коэффициент деления 10. Колонка: капиллярная SE-30 «Витохром - м», длина 15 м, внутренний диаметр 0,3 мм, толщина пленки 0,25 мкм, неподвижная фаза – полиметилсилоксан, программирование температуры колонки: изотермический режим 4 мин при начальной температуре 160⁰С, затем повышение до 365⁰С со скоростью 8 ⁰С/мин, время выдержки 15 мин. Общее время анализа 44 мин.

Детектор: пламенно-ионизационный, температура детектора 380⁰С, поток воздуха 400 мл/мин, поток водорода 40 мл/мин, поток газа носителя 30 мл/ мин, газ-носитель – гелий.

Для идентификации триглицеридов использовали стандарты фирмы SUPELCO Cat. No. 1787-1AMP; MDT12-1KT. Полученные результаты по глицеридному составу интерпретировали как компоненты, совпадающие по времени удерживания со стандартными веществами.

Типичные хроматограммы представлены на рисунках 1-2. Полученные данные представлены в таблице 1.

2. Подготовка образцов для определения жирно-кислотного состава. Объектами исследования выступили те же образцы масла из различных частей растения. Жирные кислоты превращались в их метиловые эфиры и анализировались на газовом хроматографе «Кристал люкс 4000».

Определение жирных кислот проводили по следующей методике: 0,02 г масла поместили в колбу вместимостью 100 мл, снабженную обратным холодильником, прибавили 1 мл метанола, 3 капли ацетилхлорида и на-

СОСТАВ ГЛИЦЕРИДОВ ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЕЙ РАСТЕНИЯ

гревали в течение 1 ч на кипящей водяной бане. Затем избыток метанола отогнали на водяной бане. Остаток растворили в 0,2 мл гексана и 1 мкл полученной смеси вводили попеременно с модельной смесью в испаритель газового хроматографа с пламенно-ионизационным детектором и хроматографировали в следующих условиях: капиллярная колонка – FFAP 50м, внутренний диаметр 0,32 мм; газ-носитель – гелий. Температура

термостата была запрограммирована следующим образом: от 180 °С (изотермический режим в течение 1 мин) до 210 °С со скоростью 2 °С/мин, и изотермический период 30 мин при 210 °С. Температура инжектора и детектора 250 °С. Для идентификации жирных кислот использовали СО смеси метиловых эфиров фирмы SUPELCO Cat. No. 07631-1AMP. Полученные данные представлены в таблице 2.

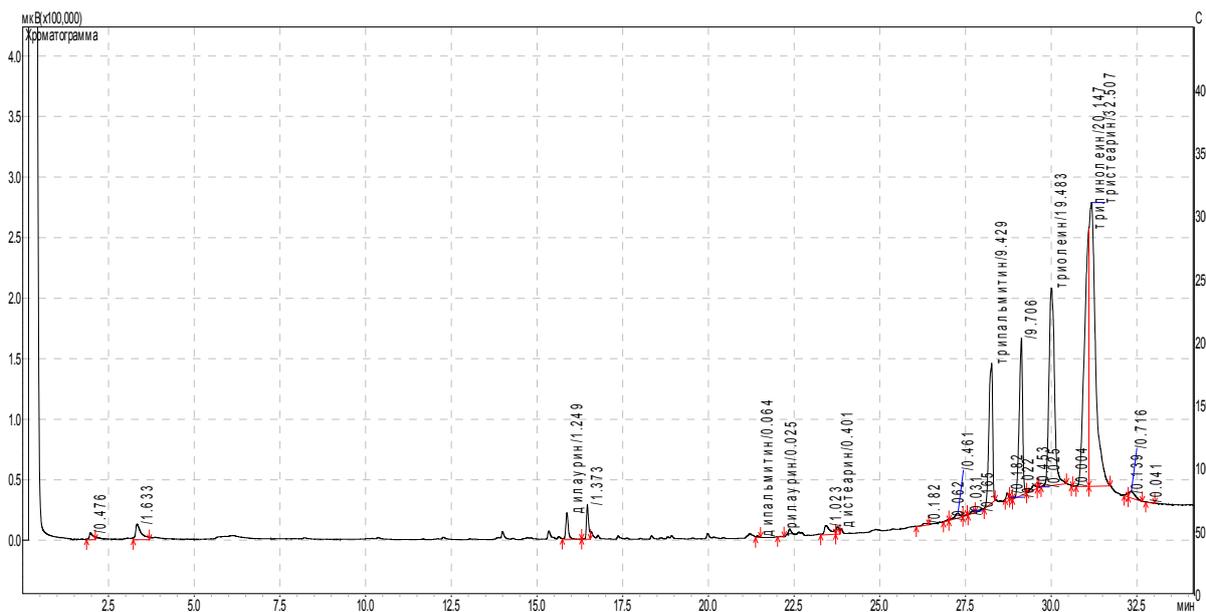


Рисунок 1 – Хроматограмма масла из семян ягод облепихи.

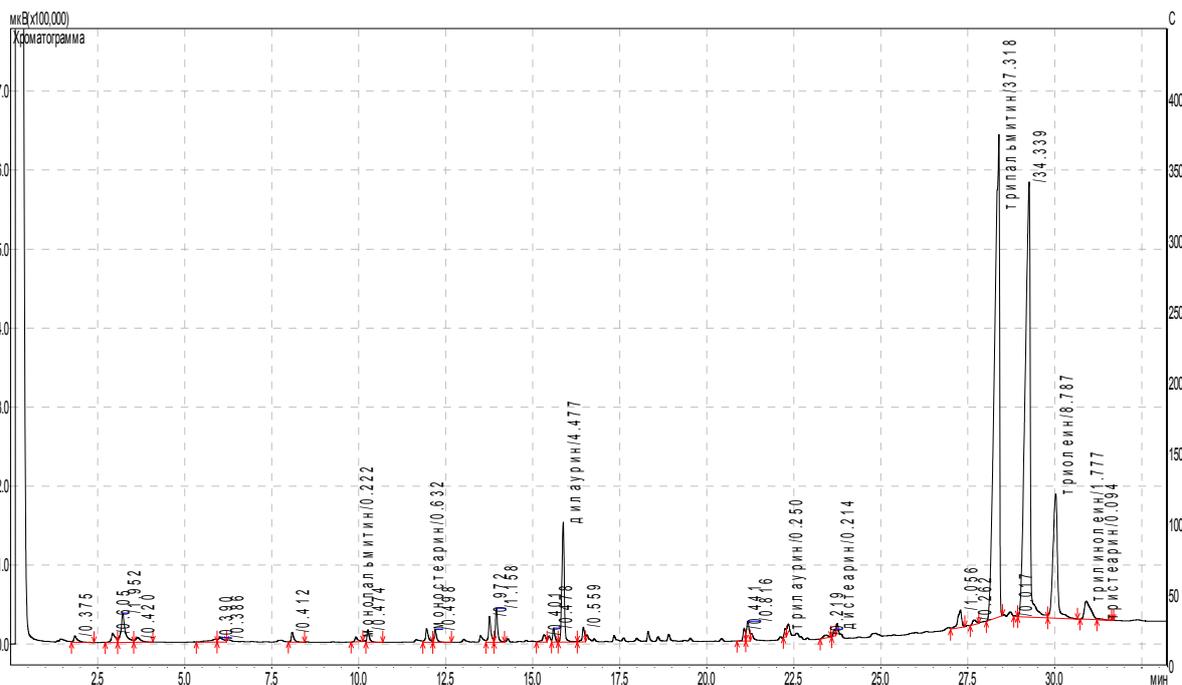


Рисунок 2 – Хроматограмма масла облепихового из кожуры ягод облепихи.

Таблица 1 – Состав глицеридов образцов облепихового масла

Глицерид, %	Масло облепиховое (100 %)				
	Кожура	Жом	Семена	Почки	Листья
Монолаурин	-	-	-	-	-
Мономиристин	0,07±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	2,20±0,44	0,44±0,09
Монопальмитин	0,25±0,05	0,04±0,01	0,06±0,01	1,24±0,02	0,62±0,06
Моноолеин	0,08±0,02	0,07±0,01	0,02±0,01	3,26±0,05	0,68±0,07
Моноинолеин	-	-	-	5,55±0,08	1,35±0,02
Моноинолиат	-	-	-	2,35±0,03	0,17±0,03
Моностеарин	0,71±0,14	0,04±0,01	0,06±0,01	-	-
Дилаурин	0,029±0,01	0,01±0,00	-	0,67±0,07	0,56±0,06
Диолеин	0,22±0,04	0,21±0,04	0,65±0,13	4,73±0,07	0,74±0,07
Дилинолеин	-	-	-	3,37±0,05	1,48±0,02
Димиристин	0,21±0,4	0,006±0,00	0,02±0,01	0,95±0,09	-
Дипальмитин	0,15±0,03	0,19±0,04	0,07±0,01	1,57±0,02	0,10±0,02
Дистеарин	0,41±0,08	0,21±0,04	0,15±0,03	8,25±0,12	0,93±0,09
Трилаурин	0,39±0,08	0,24±0,05	0,09±0,02	0,65±0,13	0,31±0,06
Тримиристин	0,07±0,01	0,05±0,01	0,03±0,01	0,99±0,02	-
Трипальмитин	35,75±0,53	34,72±0,52	8,54±0,17	6,90±0,10	30,04±0,03
Триолеин	1,08±0,10	-	-	0,40±0,08	8,70±0,13
Тристеарин	-	9,80±0,15	-	0,37±0,07	0,92±0,09
Триинолеин	-	-	49,11±0,49	0,19±0,04	14,41±0,22
Трипальмитолеин	32,90±0,49	29,1±0,44	8,58±0,17	1,46±0,02	18,84±0,28

предполагаемый триглицерид

Таблица 2 – Состав жирных кислот образцов облепихового масла

Кислота, %	Состав облепихового масла, выделенного из, %				
	Кожура	Жом	Семена	Почки	Листья
насыщенные жирные кислоты					
Миристиновая (C14:0)	0,65±0,13	0,87±0,17	0,2±0,04	0,53±0,01	0,05±0,01
Пальмитиновая (C16:0)	35,0±0,53	36,65±0,55	10,80±0,22	9,61±0,19	20,83±0,31
Стеариновая (C18:0)	1,52±0,15	1,27±0,13	2,70±0,14	2,92±0,15	2,18±0,11
Арахидиновая (C20:0)	0,06±0,012	0,34±0,07	0,23±0,05	0,45±0,09	0,17±0,03
Бегеновая (C22:0)	0,52±0,10	0,17±0,03	1,1±0,11	13,61±0,27	1,35±0,14
Лауриновая (C12:0)	0,030±0,015	0,03±0,02	0,02±0,01	0,19±0,04	0,05±0,01
Лигноцериновая (C24:0)	0,31±0,06	1,11±0,11	0,37±0,07	3,89±0,19	0,32±0,06
Всего	38,09	40,44	15,42	31,2	24,95
мононенасыщенные жирные кислоты					
Пальмитолеиновая (C16:1)	31,66±0,47	34,45±0,51	2,58±0,13	0,50±0,10	23,42±0,35
Олеиновая (C18:1)	4,25±0,21	5,78±0,29	12,04±0,24	3,75±0,19	11,33±0,23
Вакценовая (C18:1)	6,15±0,31	5,76±0,29	1,98±0,01	3,95±0,20	4,66±0,23
Всего	39,06	45,99	16,6	8,20	39,41
полиненасыщенные жирные кислоты					
Линолевая (C18:2)	13,50±0,27	12,12±0,24	35,73±0,54	12,17±0,24	25,57±0,38
Линоленовая (C18:3)	1,08±0,11	0,87±0,17	25,71±0,39	12,87±0,26	3,55±0,18
Всего	14,58	12,99	61,44	25,04	29,12

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как следует из представленных данных (таблица 1), состав глицеридов облепихового масла из различных частей растения достоверно отличается.

Так, для масла из кожуры, жома и листьев характерно высокое содержание трипальмитина от 30 до 35 %, а в масле из семян и почек содержание трипальмитина значительно меньше от 6,9 до 3,8 %. Масло из семян облепихи отличается от других образцов вы-

соким содержанием триинолеина 49 %. Монолаурин не обнаружен ни в одном из образцов. Исследованные образцы по содержанию моноглицеридов согласуются между собой (монопальмитин от 0,02 до 2,2 %, монопальмитин от 0,04 до 1,24 %), но наряду с этим по содержанию моноолеина выделяется образец масла облепихового из семян – до 3 %. Моноинолеин и моноинолеат обнаружены только в образцах масел из почек и листьев, а моностеарин только в масле из кожуры, жома и семян. По содержанию диглицеридов

СОСТАВ ГЛИЦЕРИДОВ ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЕЙ РАСТЕНИЯ

исследованные образцы также согласуются между собой, но масло из почек отличается от других образцов более высоким содержанием димиристина до 0,95 %, дипальмитина 1,57% и дистеарина 8,25%

Можно предположить, что эти отличия обусловлены тем, что триглицериды облепихового масла существуют как в «чистом» виде (т.е. триглицерид состоит из одной жирной кислоты, как в представленных для идентификации стандартах), так и в «смешанном» виде – когда триглицерид состоит из разных жирных кислот. Идентификация таких триглицеридов затруднена в настоящее время из-за отсутствия необходимых стандартов.

Логично предположить, что на 29-й минуте «выходит» пик трипальмитолеина, и для подтверждения этого предположения был проведен анализ жирных кислотных остатков.

Как следует из представленных данных, жирно-кислотный состав облепихового масла из различных частей растения отличается.

Основную долю в масле из кожуры, жома и листьев составляют пальмитиновая кислота от 21% до 36 % и пальмитолеиновая кислота от 23% до 34 %, что подтверждает наше предположение о присутствии значительного количества трипальмитолеина в облепиховом масле. Образец масла из почек выделяется более высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот по сравнению с другими образцами: бегеновая кислота до 13 %, лауриновая до 0,2%, лигноцереновая до 4%, но наряду с этим очень низкое содержание пальмитолеиновой кислоты 0,5%. По содержанию линолевой кислоты значительно выделяется образец масла из семян до 35 %.

Был проведен сравнительный анализ данных количественного содержания триглицеридов – трипальмитина и трипальмитолеина и соответствующих им жирных кислот – пальмитиновой и пальмитолеиновой, который представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Содержание триглицеридов и жирных кислот

Глицерид или кислота, %	Масло облепиховое (100 %)				
	Кожура	Жом	Семена	Почки	Листья
Трипальмитин	35,75±0,53	34,72±0,52	8,54±0,17	6,90±0,104	20,04±0,03
Пальмитиновая	35,0±0,53	36,65±0,55	10,8±0,22	9,61±0,19	20,83±0,31
Трипальмитолеин	32,90±0,49	29,1±0,44	8,58±0,17	1,46±0,22	18,84±0,28
Пальмитолеиновая	31,66±0,47	34,45±0,51	2,58±0,13	0,50±0,10	23,42±0,35

Из таблицы видно, что представленные данные согласуются между собой, но наряду с этим есть существенные отличия.

Во первых – содержание трипальмитина и пальмитиновой кислоты в образцах облепихового масла из кожуры, жома и листьев близки по значениям. Содержание пальмитиновой кислоты в образцах масла из семян и почек выше, чем трипальмитина, что можно объяснить присутствием пальмитиновой кислоты в виде моно- и ди- глицеридов.

Во вторых – данные по трипальмитолеину и пальмитолетеновой кислоте в образцах облепихового масла из кожуры также близки по значениям. Содержание пальмитолеиновой кислоты в образцах масел из жома и листьев выше, чем содержание трипальмитолеина. А в образцах масел их жома и листьев также больше пальмитолеиновой кислоты, чем трипальмитолеина, что также объясняется присутствием пальмитолеиновой кислоты в виде моно- и ди- глицеридов. Но в образцах масел из семян и почек содержание пальмитолеиновой кислоты меньше, чем трипальмитолеина. Это можно объяснить затруднением в делении и идентификации пиков «чистых» и «смешанных» триглицеридов при небольших концентрациях.

Таким образом, показана возможность идентификации исходного сырья для выделения облепихового масла методом высокотемпературной газовой хроматографии по глицеридному составу.

Авторы выражают благодарность А.С. Петрову за помощь в проведении хроматографического исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кошелев Ю.А., Агеева Л.Д. Облепиха: Монография. – Бийск: НИЦ БГПУ им. В.М.Шукшина, 2004. – 320 с.
2. Vereshchagin A.G., Tsydendambaev V.D. Effect of geographic origin of sea buckthorn on the triacylglycerol composition of its fruits // Bull. Georg. Natl. Acad. Sci. 2010, V.4, P.92-100.
3. Цыдендамбаев В.Д., Кузнецова Э.И., Пчелкин В.П., Верещагин А.Г. Распределение н-октадеценовых кислот в триацилглицеринах околоплодника созревающих плодов облепихи // Доклады Академии наук. 2011. Т.436. С. 121-124.
4. Пчелкин В.П., Кузнецова Э.И., Цыдендамбаев В.Д., Верещагин А.Г. Распределение необычных жирных кислот в триацилглицеринах масла околоплодника облепихи// Физиология растений. 2006. Т. 53. С. 346-354.
5. Mondello L., Tranchida P.Q., Stanek V., Jandera P., Dugo G., Dugo P. Silver-ion reversed-phase comprehensive two-dimensional liquid chromatography

combined with mass spectrometric detection in lipidic food analysis // Journal of Chromatography. A. 2005. No9. 1086(1–2). P. 91–98.

6. Resource site for lipid studies. <http://www.cyberlipid.org/cyberlip/home0001.htm>.

7. Buchgraber M., Ulberth F., Anklam E. Capillary GLC: a robust method to characterize the triglyceride profile of cocoa butter – results of intercomparison study // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004. V. 52. P. 3855–3860.

8. Buchgraber M., Ulberth F., Emons H., Anklam E. Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques// European Journal of Lipid Science and Technology. 2004. V. 106. P. 621–648

9. Дайнека В.И., Дайнека Л.А. Исследование триглицеридного состава масла *Pinus sibirica* Du Tour// Химия природных соединений. 2003. №2.С. 126–128.

УДК 581.19

СОСТАВ ГЛИЦЕРИДОВ ОБЛЕПИХОВОГО МАСЛА АЛТАЙСКОГО КРАЯ, ПОЛУЧЕННОГО РАЗЛИЧНЫМИ СПОСОБАМИ

Горемыкина Н.В., Верещагин А.Л., Кошелев Ю.А., Першин Н.С.

В продолжение работы по изучению состава глицеридов облепихового масла Алтайского края методом газовой хроматографии исследован состав триглицеридов облепихового масла выделенного разными способами: экстракцией дифторхлорметаном (хладон 22), центрифугированием и маслом, полученное ферментативным гидролизом. Установлено, что химический состав облепихового масла зависит от способа производства и соотношение индивидуальных видов глицеридов может быть характеристикой, отражающей способ получения масла.

Ключевые слова: облепиховое масло, глицериды, ГЖХ, жирно-кислотный состав

ВВЕДЕНИЕ

Ранее было изучено влияние различных почвенно-климатических условий Алтайского края на состав облепихового масла, в том числе наиболее важных биологически активных составляющих – полиненасыщенных глицеридов [1]. Влияние географического происхождения и стадии созревания на состав триацилглицеридов в ягодах облепихи ранее изучали в работах [2, 3, 4].

В настоящее время существуют различные способы выделения облепихового масла. Среди самых распространенных можно отметить три основных: экстракционный, с использованием летучего растворителя (хладон 22), метод с использованием осадительных центрифуг, и метод гидролиза амилопектическими ферментами. В промышленном масштабе основным критерием характеристики метода является выход продукта. Сравнение же методов с целью выделения продукта с максимальной биологической активностью, что обусловлено составом триглицеридов, изучено недостаточно. Также не изучен и глицеридный состав облепихового масла, что представляет интерес для идентификации масла различного происхождения.

В настоящее время для анализа жирно-кислотного состава используется метод газовой хроматографии путем переэтерификации триглицеридов в метиловые эфиры жирных кислот, что не дает возможности определить исходный состав глицеридов.

Целью настоящей работы является определение состава глицеридов облепихового масла выделенного разными способами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовались ягоды облепихи сорта «Чуйская», собранные на промышленных плантациях ГНУ НИИ садоводства имени М.А. Лисавенко Россельхозакадемии в 2012 г. Для исследования были взяты образцы облепихового масла, полученные из дробленого жома (продукта получаемого отжатием сока из ягод) разными способами: экстракцией дифторхлорметаном (хладон 22), маслом, полученное ферментативным гидролизом. Процесс экстрагирования облепихового масла осуществляли в экстракторе в течение 8 часов, с последующим удалением хладона-22. Для получения масла ферментативным гидролизом использовались ферменты прото-