



УДК 615.074

Изучение жирнокислотного состава растительных масел и масляных экстрактов фармацевтического назначения методами ГЖХ и ИКС

Тринеева О.В., Сливкин А.И.

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж

Поступила в редакцию 30.10.2015 г.

Методом ГЖХ изучен жирнокислотный состав растительных масел и масляных экстрактов фармацевтического назначения (на примере облепихового масла и масляного экстракта листьев крапивы двудомной). Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения облепихового масла не только в качестве регенераторного средства, но и для коррекции нарушений липидного обмена, так как в масле соотношение полиненасыщенных жирных кислот ω -6 к ω -3 (4:1) находится в оптимальном рекомендуемом физиологическом диапазоне. В исследуемом масляном экстракте методами ГЖХ и ИКС выявлены в составе «вредные» транс-изомеры жирных кислот. Метод ИКС можно использовать для экспресс-диагностики присутствия транс-жиров в растительных маслах и масляных экстрактах фармацевтического назначения.

Ключевые слова: жирнокислотный состав, растительные масла, масляные экстракты, транс-изомеры жирных кислот, газо-жидкостная хроматография, инфракрасная спектроскопия.

Study of the fatty acid composition of vegetable oils and oil extracts of pharmaceutical by the methods of GLC and IRS

Trineeva O.V., Slivkin A.I.

Voronezh state university, Voronezh

Vegetable oils are known to be sources of ω -6 and ω -3 polyunsaturated fatty acids. Adequate intake of food with *Mr. Zion* which reduces the risk of cardiovascular diseases and cancer, increases the immune system, lowers cholesterol, increases the body's resistance to infections and colds, etc. In a healthy person the diet of polyunsaturated fatty acids ratio of ω -6 to ω -3 should be 10:1, and at violation of lipid - from 3:1 to 6:1. Currently polyunsaturated fatty acid ω -3 family officially recognized a minor component of the food set their physiological need, which in adults is 0.8-1.6 g/day. Bioavailability oil caused by the presence of polyunsaturated fatty acids in combination with antioxidants (tocopherols and carotenoids), which are rich in fatty oils. The most valuable product of processing sea buckthorn is sea buckthorn oil, which has many applications in medical practice due to the unique composition of biologically active substances. In the standard documentation provided the definition of the fatty acid composition as the criteria for evaluating the authenticity and purity of sea buckthorn oil. Oil extracts pharmaceutical use are not currently standardized for fatty acid composition. Behavior oil extraction the skin and their biological effect is largely determined by which fatty acids are included in the data lipids. Therefore, the actual study should be regarded as fatty acid composition, not only officinal vegetable oils for internal, external and injectable use, and oil extracts of pharmaceutical grade. The aim of the work was to study the fatty acid composition of vegetable oils and oil extracts pharmaceutical use (for example, sea buckthorn oil and oil extract of nettle leaves) with modern physical and chemical methods for the assessment of purity and safety applications.

GLC examined fatty acid composition of the objects under study. These results suggests the possibility of using sea buckthorn oil not only as a regenerator means, and for correcting disorders of lipid metabolism, since oil ratio of polyunsaturated fatty acids, ω -6 to ω -3 (4:1) is in an optimal recommended physiological range. The oil extract studied by GLC and IRS identified in the "bad" trans-fatty acids. Method IRS can be used for rapid diagnosis of the presence of trans fats in vegetable oils and oil extracts of pharmaceutical grade.

Keywords: fatty acid composition of vegetable oils, oily extracts, trans-isomers of fatty acids, gas-liquid chromatography, infrared spectroscopy.

Введение

В последние годы большое внимание уделяют растительным маслам (РМ) как источникам ω -6 и ω -3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Известно, что алиментарные ω -3 ПНЖК включаются в клеточные структуры организма и оказывают модифицирующее влияние на структурно-функциональную организацию клеточных мембран, активность мембрано связанных ферментов и биосинтез эйкозаноидов [1, 2]. Достаточное потребление с пищевым рационом ПНЖК снижает риск развития сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, повышает функции иммунной системы, снижает уровень холестерина, повышает устойчивость организма к инфекциям и простудным заболеваниям и т.д. В рационе здорового человека соотношение ПНЖК ω -6 к ω -3 должно быть 10:1, а при нарушении липидного обмена - от 3:1 до 6:1. В то же время, изучение фактического питания показало, что у значительной части населения это соотношение составляет от 10:1 до 30:1, что свидетельствует о дефиците в питании ПНЖК семейства ω -3 [1,2]. В настоящее время ПНЖК семейства ω -3 официально признаны минорными компонентами пищи, установлена их физиологическая потребность, которая для взрослых составляет 0.8-1.6 г/сут. Регулярное потребление ПНЖК существенно повышает потребность организма в антиоксидантах, т.к. при их недостатке из ПНЖК легко образуются токсичные продукты окисления, которые оказывают повреждающее действие на клетки и ткани организма [1, 2]. Кроме того, наличие ПНЖК приводит к уменьшению стойкости продукции при хранении. РМ богаты природными антиоксидантами (токоферолы и каротиноиды), что позволяет рассматривать их в качестве уникальных источников биологически активных веществ (БАВ) для организма человека. Таким образом, биологическая ценность масла обусловлена присутствием ПНЖК в комплексе с антиоксидантами.

Одним из растений, накапливающих в плодах значительное количество жирных кислот (ЖК), является облепиха крушиновидная. Наиболее ценным продуктом переработки плодов облепихи является облепиховое масло [3-12]. В нормативной документации (НД) предусмотрено определение состава ЖК в качестве критерия оценки его подлинности и доброкачественности [13,14]. Масляные экстракты (МЭ) фармацевтического назначения, большинство из которых относится к БАДам, в настоящее время не нормируются по содержанию БАВ, в том числе составу ЖК. Одним из таких МЭ является МЭ листьев крапивы двудомной, традиционно применяемый для укрепления волосных луковиц и лечения себорейного дерматита кожи головы. Упорядоченная структура эпидермальных липидов требует присутствия только определенных жиров в строго определенном соотношении. Экзогенные липиды могут вносить беспорядок в организацию липидных пластов, временно нарушая барьерные свойства кожи. Косметические масла, проникающие в глубокие слои кожи, следует рассматривать как БАВ, действие которых, во многом, определяется тем, какие ЖК входят в состав данных липидов. Поэтому актуальным является исследование ЖК-состава не только

официальных РМ для внутреннего, наружного и инъекционного применения, но и МЭ фармацевтического назначения.

Цель работы – изучение состава ЖК растительных масел и масляных экстрактов фармацевтического назначения (на примере облепихового масла и масляного экстракта листьев крапивы двудомной) методами ГЖХ и ИКС для оценки их доброкачественности, безопасности применения, а также перспективности использования для коррекции различных нарушений липидного обмена.

Эксперимент

Исследованиям подвергались облепиховое масло и МЭ листьев крапивы двудомной отечественных производителей, соответствующие требованиям НД, приобретенные в аптечных сетях г. Воронежа. Определение состава ЖК липидов исследуемых объектов проводили методом ГЖХ по ГОСТ 31663 и 31665 [15,16].

ИК-спектры изучаемых образцов снимали, используя методику «раздавленной капли» образца между двумя монокристаллическими кремниевыми пластинами. Для компенсации поглощения в канал сравнения помещали две такие же пластины без пробы. Регистрировали ИК-спектры в диапазоне частот 400-4000 см⁻¹ на ИК-спектрометре с Фурье-преобразованием «Vertex 70» с приставкой нарушенного полного внутреннего отражения и последующей обработкой программой OMNIC или GRAMS 4/32.

Обсуждение результатов

Хроматограмма разделения смеси метиловых эфиров стандартных образцов ЖК представлена на рис. 1. Идентификация и массовые доли ЖК в изучаемых образцах приведены в таблице 1.

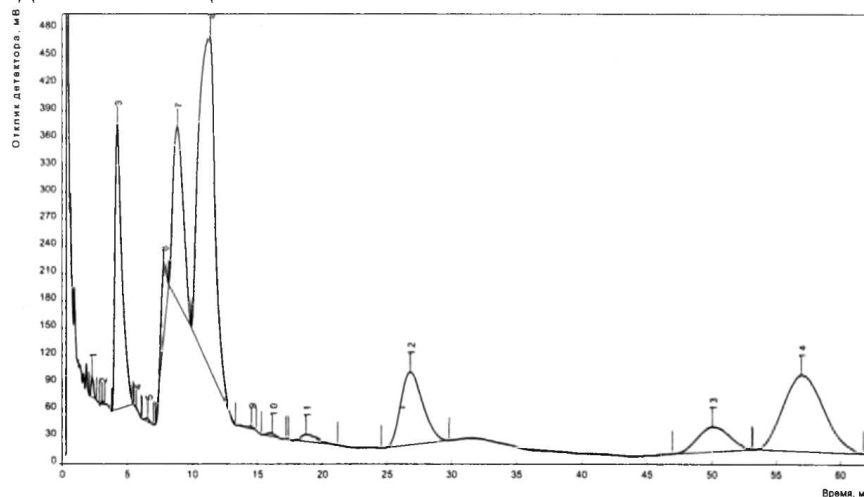


Рис. 1. - Хроматограмма смеси метиловых эфиров смеси стандартных образцов ЖК. Последовательность выхода пиков на хроматограмме метиловых эфиров: 1 - кислоты миристиновой; 2 - кислоты пентадекановой, 3 - кислоты пальмитиновой; 4 - кислоты пальмитолеиновой; 5 - маргариновой; 6 - кислоты стеариновой; 7 - кислоты олеиновой; 8 - кислоты линолевой; 9 - кислоты линоленовой; 10 - кислоты эйкозеновой; 11 - кислоты эйкозодиеновой; 12 - кислоты бегеновой; 13 – кислоты арахидиновой; 14 - кислоты лигноцереновой

Таблица 1. Результаты определения ЖК-состава РМ и МЭ фармацевтического назначения

№	ЖК	Облепиховое масло	МЭ листьев крапивы двудомной
Насыщенные ЖК, %			
1	миристиновая С 14:0	1.2	0.07
2	пальмитиновая С 16:0	36.2	5.99
3	стеариновая С 18:0	1.3	3.90
4	масляная С4:0	-	0.17
5	каприловая С8:0	-	0.01
6	пентадециловая С15:0	-	0.01
7	маргариновая С 17:0	-	0.04
8	арахиновая С20:0	-	0.15
9	бегеновая С22:0	-	0.64
Всего		38.70	10.98
Мононенасыщенные ЖК, %			
1	пальмитолеиновая С 16:1 (ω-9)	31.0	0.08
2	олеиновая С18:1n9c (ω-6)	9.3	22.74
3	цис-10-гептадециловая С17:1	-	0.09
4	элаидиновая С18:1n9t	-	0.03
5	гондоиновая С20:1 (ω-9)	-	0.10
Всего		40.30	23.04
ПНЖК, %			
1	линолевая С18:2n6c (ω-6)	15.0	63.72
2	линоленовая С18:3 (ω-3)	6.0	0.08
3	линолэлаидиновая С18:2n6t	-	0.56
4	Гамма-линолевая С18:3n6	-	1.41
5	цис-8,11,14-эйкозатриеновая С20:3n6c	-	0.06
6	тимнодоновая С20:5n3c- 5,8,11,14,17 (ω-3)	-	0.15
Всего		21.00	65.98

Как следует из данных таблицы 1, состав ЖК облепихового масла, в основном, представлен пальмитиновой и пальмитолеиновой кислотами, что согласуется с литературными данными о присутствии значительного количества трипальмитолеина в глицеридном составе масла [3-12]. Состав ЖК полностью идентичен рекомендованному составу, указанному в НД на облепиховое масло и препараты на его основе [13,14]. Отсутствие ЖК, характерных для РМ, традиционно применяемых в технологии изготовления МЭ [17,18] из лекарственного растительного сырья (таблица 2), свидетельствует о том, что анализируемое облепиховое масло получено, скорее всего, экстракцией сжиженными газами или органическими растворителями. Анализ данных таблиц 1 и 2 показал, что исследуемые образцы МЭ листьев крапивы двудомной получены с применением в качестве экстрагента подсолнечного рафинированного масла.

Соотношение ПНЖК ω-6 к ω-3 в РМ плодов облепихи составляет 4:1, что свидетельствует о возможности применения облепихового масла не только в качестве ранозаживляющего и гастропротекторного средства, но и при нарушениях липидного обмена. Соотношение ПНЖК ω-6 к ω-3 в МЭ составляет 376:1. Кроме

того, в исследуемом МЭ выявлены в составе транс-изомеры ЖК, известные своими канцерогенными, кардиотоксическими и атерогенными свойствами.

Таблица 2. ЖК-состав рафинированных РМ, используемых для получения МЭ фармацевтического назначения (литературные данные) [3-12,19]

№ п/п	ЖК	Соевое масло	Подсолнечное масло	Кукурузное масло	Оливковое масло
Насыщенные ЖК, %					
1	миристиновая	-	0.07	-	-
2	пальмитиновая	12.93	8.42	13.77	11.0
3	стеариновая	6.07	6.83	3.42	4.0
4	маргариновая	0.10	0.07	0.10	-
5	арахиновая	0.51	0.45	0.73	0.2-0.4
6	бегеновая	0.66	1.26	0.26	-
Мононенасыщенные ЖК, %					
1	пальмитолеиновая	0.11	0.14	0,17	-
2	олеиновая	29.65	25.09	31.78	75.0
3	гондоиновая	0.40	0.28	0.50	-
ПНЖК, %					
1	линолевая	47.13	54.51	45.05	7.0
2	линоленовая	0.56	-	-	0.2

Метод ИКС применяется для оценки показателей качества и безопасности РМ в соответствии с ГОСТ Р 54896-2012 [20]. Для определения присутствия транс-изомеров ЖК в МЭ, нами также был использован метод ИКС. Вид полученного ИК-спектра МЭ представлен на рис. 2.

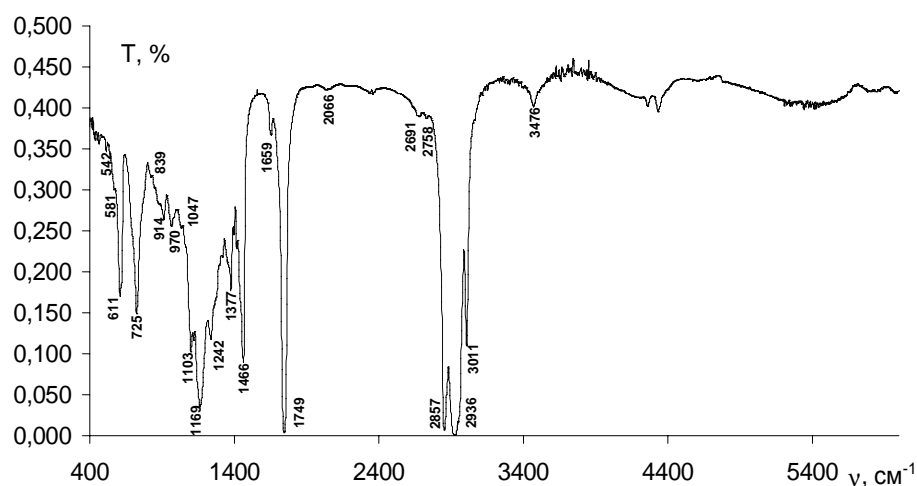


Рис. 2. ИК- спектр МЭ листьев крапивы двудомной

На ИК-спектрах МЭ листьев крапивы двудомной обнаружена полоса поглощения слабой интенсивности при 970 см^{-1} , характерная для неплоских, деформационных колебаний группировок -C-H при этиленовых углерод-углеродных фрагментах -C=C- в транс-конфигурации (в диапазоне частот $974-968 \text{ см}^{-1}$) [21,22]. Наличие данной полосы поглощения свидетельствует о присутствии в исследуемом объекте транс-изомеров ЖК, что согласуется с данными определения ЖК-состава методом ГЖХ. Следовательно, метод ИКС можно использовать для экспресс-диагностики присутствия «вредных» транс-жиров в РМ и МЭ.

Транс-изомеры ЖК могут содержаться в подвергшихся технологической обработке (нагревание для улучшения процесса экстракции) МЭ фармацевтического назначения [17,18], а также попадать в готовый продукт при применении некачественных дешевых масел-экстрагентов. Поэтому, совершенно очевидна необходимость нормирования МЭ и РМ, используемых в фармации в качестве вспомогательных веществ для получения различных лекарственных форм, на предмет отсутствия транс-жиров.

Заключение

Таким образом, методом ГЖХ изучен ЖК-состав РМ и МЭ фармацевтического назначения (на примере облепихового масла и МЭ листьев крапивы двудомной). Состав ЖК исследуемого облепихового масла полностью идентичен рекомендованному составу, указанному в НД. Замена и попытки фальсификации дорогостоящего натурального масла плодов облепихи более дешевыми МЭ шрота плодов приведет к изменению состава ЖК. Полученные результаты свидетельствует о возможности применения облепихового масла не только в качестве регенераторного средства для лечения ожогов, ран, эрозивных поражений слизистых, но и при нарушениях липидного обмена, так как в РМ соотношение ПНЖК ω -6 к ω -3 (4:1) находится в оптимальном рекомендуемом физиологическом диапазоне. В исследуемом МЭ методами ГЖХ и ИКС выявлены в составе «вредные» транс-изомеры ЖК. Метод ИКС можно использовать для экспресс-диагностики присутствия транс-жиров в РМ и МЭ фармацевтического назначения.

Список литературы

1. Табакаева О.В. // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2007. № 6. С. 33-35.
2. Наумова Н.Л., Чаплинский В.В., Ромашкевич О.А. // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2014. № 8 (118). С. 132-137.
3. Горемыкина Н.В., Верещагин А.Л., Кошелев Ю.А., Першин Н.С. // *Ползуновский вестник*. 2014. №3. С. 190 – 194.
4. Горемыкина Н.В., Верещагин А.Л., Кошелев Ю.А., Першин Н.С. // *Ползуновский вестник*. 2014. №3. С. 194 – 197.
5. Горемыкина Н.В., Верещагин А.Л., Кошелев Ю.А. и др. // *Химия растительного сырья*. 2014. №4. С. 197 – 201.
6. Золотарева А.М., Чиркина Т.Ф., Гончикова С.Д., Карпенко Л.Д. // *Изв. вузов. Пищевая технология*. 1994. №1-2. С.24-26.
7. Золотарева А.М. Дис. докт. техн. наук. Улан-Удэ, 2004, 32 с.
8. Золотарева А.М., Бороноева Г.С., Чиркина Т.М., Павлова А.Б. // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. 2003. №1. С. 80-81.
9. Золотарева А.М., Чиркина Т.Ф., Мешкова Е.А. // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. 2004. №4. С. 43-45.
10. Золотарева А.М., Габанова Г.В., Чиркина Т.Ф. // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. 2005. №1. С. 30-31
11. Золотарева А.М. // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. 2006. №1. С. 68-71.
12. Чиркина Т.Ф., Золотарева А.М., Гончикова Ц.Д., Карпенко Л.В. // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. 1994. №1-2. С. 24-26.
13. ФСП 42-0079020700. Облепиховое масло, суппозитории ректальные 0,5 г.
14. ФС 42-3873-99. Масло облепиховое в ректокапсулах по 0,55 для детей.
15. ГОСТ31663-2012. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот. - М.: Стандартинформ, 2013. – Введ.01.01.2014. - 11 с.

16. ГОСТ 31665-2012. Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот. - М.: Стандартинформ, 2013. – Введ. 01.01.2014. - 11 с.
17. Шиков А.Н., Макаров В.Г., Рыженков В.Е. Растительные масла и масляные экстракты: технология, стандартизация, свойства. М.: Издат. дом «Русский врач», 2004, С. 100 – 112.
18. Минина С.А., Каухова И.Е. Химия и технология фитопрепаратов. М.: Издат. дом «ГЭОТАР – МЕД», 2004, С. 252.
19. Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Дычко К.А., Куряева Т.Т. // *Химия растительного сырья*. 2006. №3. С. 27 – 31.
20. ГОСТ Р 54896-2012. Масла растительные. Определение показателей качества и безопасности методом спектроскопии в ближней инфракрасной области. – М.: Стандартинформ, 2012. - Введ. 01.01.2013. – 11 с.
21. Казицына Л.А., Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии. М.: Изд-во «Высшая школа», 1971, 264 с.
22. Наканиси К. Инфракрасная спектроскопия и строение органических соединений. М.: Мир, 1965, 216 с.

References

1. Tabakaeva O.V., *Hranenie i pererabotka sel'hozsyrya (Storage and processing of agricultural raw materials)*, 2007, No 6, pp. 33-35.
2. Naumova N.L., Chaplinskij V.V., Romashkevich O.A., *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Bulletin of the Altai State Agrarian University)*, 2014, No 8 (118), pp. 132-137.
3. Goremykina N.V., Vereshhagin A.L., Koshelev Ju.A., Pershin N.S., *Polzunovskij vestnik*, 2014, No 3, pp. 190–194.
4. Goremykina N.V., Vereshhagin A.L., Koshelev Ju.A., Pershin N.S., *Polzunovskij vestnik*, 2014, No 3, pp. 194 – 197.
5. Goremykina N.V., Vereshhagin A.L., Koshelev Ju.A. i dr., *Himijarastitel'nogosyr'ja (Chemistry to flora resources)*, 2014, No 4, pp. 197 – 201.
6. Zolotareva A.M., Chirkina T.F., Gonchikova S.D., Karpenko L.D., *Izv. vuzov. Pishhevaja tehnologija (Proceedings of the universities. Food technology)*, 1994, No 1-2, pp. 24-26.
7. Zolotareva A.M. Dis. dokt. tehn. nauk. Ulan-Udje, 2004, 32 p.
8. Zolotareva A.M., Boronoeva G.S., Chirkina T.M., Pavlova A.B., *Izvestija VUZov. Pishhevaja tehnologija (Proceedings of the universities. Food technology)*, 2003, No 1, pp. 80-81.
9. Zolotareva A.M., Chirkina T.F., Meshkova E.A., *Izvestija VUZov. Pishhevaja tehnologija (Proceedings of the universities. Food technology)*, 2004, No 4, pp. 43-45.
10. Zolotareva A.M., Gabanova G.V., Chirkina T.F., *Izvestija VUZov. Pishhevaja tehnologija (Proceedings of the universities. Food technology)*, 2005, No 1, pp. 30-31
11. Zolotareva A.M., *Izvestija VUZov. Pishhevaja tehnologija (Proceedings of the universities. Food technology)*, 2006, No 1, pp. 68-71.
12. Chirkina T.F., Zolotareva A.M., Gonchikova C.D., Karpenko L.V., *Izvestija VUZov. Pishhevaja tehnologija (Proceedings of the universities. Food technology)*, 1994, No 1-2, pp. 24-26.
13. FSP 42-0079020700. Oblepihovoe maslo, suppozitorii rektal'nye 0,5 g.
14. FS 42-3873-99. Masloo blepihovoe v rektokapsulah po 0,55 dljadetej.
15. GOST 31663-2012. Masla rastitel'nye I zhiry zivotnye. Opredelenie metodom gazovoj hromatografii massovoj doli metilovyh jefirov zhirnyh kislot, M.: Standartinform, 2013, Vved. 01.01.2014, 11 p.
16. GOST 31665-2012. Masla rastitel'nye I zhiry zivotnye. Poluchenie me-tilovyh jefirov zhirnyh kislot, M.: Standartinform, 2013, Vved. 01.01.2014, 11 p.
17. Shikov A.N., Makarov V.G., Ryzhenkov V.E. Rastitel'nye masla I maslyanye ekstrakty: tekhnologiya, standartizatsiya, svoistva. M.: Izdat. dom «Russkijvrach», 2004, pp. 100–112.

18. Minina S.A., Kauhova I.E. Khimiya itekhnologiya fitopreparatov. M.: Izdat. dom «GEOTAR – MED», 2004, pp. 252.
19. Hasanov V.V., Ryzhova G.L., Dychko K.A., Kurjaeva T.T., *Himija rastitel'nogo syr'ja* (*Chemistry of plant raw materials*), 2006, No 3, pp. 27–31.
20. GOST R 54896-2012. Masla rastitel'nye. Opredelenie pokazatelej kachestva i bezopasnosti metodom spektroskopii v blizhnej infrakrasnoj oblasti, M.: Standartinform, 2012, Vved. 01.01.2013, 11 p.
21. Kazicyna L.A., Kupletskaya N.B. Primenenie UF-, IK- i YaMR- spektroskopii v organicheskoi khimii. M.: Izd-vo «Vysshayashkola», 1971, 264 p.
22. Nakanisi K. Infrakrasnaya spektroskopiya is troenie organicheskikh soedinenii. M.: Mir, 1965, 216 p.

Тринеева Ольга Валерьевна - доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, к.ф.н., Воронежский государственный университет, Воронеж

Сливкин Алексей Иванович - декан фармацевтического факультета ВГУ, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, д.ф.н., Воронежский государственный университет, Воронеж

Trineeva Olga V. - the senior lecturer to faculty of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, the candidate pharm. sciences, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: trineevaov@mail.ru

Slivkin Alexey I. - the dean of pharmaceutical faculty VGU, the professor, manager of faculty of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, the doctor pharm. sciences, Voronezh State University, Voronezh