

Выводы

С использованием метода обращенно-фазовой ВЭЖХ с рефрактометрическим детектированием и применением инкрементного подхода исследован триглицеридный и рассчитан жирнокислотный состав масел семян некоторых растений семейства *Pinaceae*.

Установлено, что все исследованные масла являются высоконасыщенными. Основными кислотами, образовавшими масла, являются линолевая (примерно 50 моль% и более); на олеиновую и пиноленовую приходится 15 – 20 моль % и 0,4 – 30 моль % соответственно.

Установлено, что в маслах семян некоторых видов трибы сосновые содержание октадекатриеновой кислоты может быть снижено до полного отсутствия.

Список литературы

1. Чавчавадзе У.С., Яценко-Хмелевский А.А. Семейство сосновые (*Pinaceae*) // Жизнь растений: в 6 т. – М.: Просвещение, 1978. – Т.4. – С. 350-374.
2. Озерова В.М. Кедровое масло против склероза и хронической усталости. – СПб.: ИД «Весь», 2006. – 128 с.
3. Дейнека В.И., Дейнека Л.А. Исследование триглицеридного состава масла *Pinus Sibirica* Du Tour. // Химия природн. соединений. – 2003. – № 2. – С. 126-128.
4. Wolff R.L., Marpeau A.M. Delta5-Olefinic Acids in the Edible Seeds of Nut Pines (*Pinus cembroides edulis*) from the United States // J. Amer. Oil Chem. Soc. – 1997. – V. 74. – P. 613-614.
5. Blaise P., Tropini V., Farines M., Wolff R.L. Positional Distribution of Delta5-Acids in Triacylglycerols from Conifer Seeds As Determined by Partial Chemical Cleavage // J. Amer. Oil Chem. Soc. – 1977. – V. 74. – P. 165-168.
6. Wolff R.L., Lavalie O., Pedrono F., Pasquier E., Deluc L.G., Marpeau A.M., Aitzetmuller K. Fatty acid composition of *Pinaceae* as taxonomic markers. // Lipids. – 2001. – V. 36. – P. 439-451.
7. Nasri N., Khaldi A., Hammami M., Triki S. Fatty acid composition of two Tunisian pine seed oil. // Biotechnol. Prog. – 2005. – V.21. – P. 998-1001.
8. Bagci E., Karaagacli Y. Fatty acid and tocopherol patterns of Turkish pines // Acta Biol. Cracov. – 2004. – V. 46. – P. 95-100.
9. Wolff R.L., Deluc L.G., Marpeau A.M., Comps B. Chemotaxonomic differentiation of conifer families and genera based on the seed oil fatty acid compositions: multivariate analyses. // Trees. – 1997. – V. 12. – P. 57-65.

TRIGLYCERIDES OF SOME CONIFER PLANT SEED OILS

V.I. Deineka, I.S. Efimova, A.V. Turtygin, V.N. Sorokopudov

Belgorod State University, Pobedy St., 85, Belgorod, 308015, Russia
E-mail: deineka@bsu.edu.ru

Triglyceride as well as fatty acid composition of seed oils of some conifer (*Pinaceae*) plants have been determined by means of reversed-phase HPLC with RI-detection. 5Z, 9Z, 12Z-octadecatienoic (pinolenic) acid was shown to account for some 20-30 mole % of the acids of the most seed oil under investigation. Triglycerides with more than one radical of pinolenic acid are not characteristic for the oils. For some oils of that of *Pinaceae* tribe the decrease of pinolenic acid content till the absence is not improbable.

Key words: HPLC, seed oils, triglycerides, composition, *Pinaceae*.

УДК 543.645.9:637.07

ПИЩЕВОЙ ДИЗАЙН: ИССЛЕДОВАНИЕ НАКОПЛЕНИЯ КСАНТОФИЛЛОВ В ЖЕЛТКЕ КУРИНЫХ ЯИЦ

Л.А. Дейнека, А.А. Шапошников, С.М. Вострикова, В.И. Дейнека

Белгородский государственный университет, Россия, 308015, Белгород, ул. Победы, 85
E-mail: deineka@bsu.edu.ru

В работе спектрофотометрическими и хроматографическими методами исследовано накопление ксантофиллов в желтке куриных яиц. Установлено, что среднее содержание каротиноидов в образцах

промышленного производства (20 мкг на 1 г желтка) заметно ниже, чем в образцах индивидуальных хозяйств. Основными компонентами каротиноидного комплекса желтка являются неэтерифицированные ксантофиллы (лютеин и зеаксантин). Экспериментально подтверждена возможность существенного повышения содержания ксантофиллов в желтке при использовании обогащенных каротиноидами кормовых добавок.

Ключевые слова: определение каротиноидов, желток куриных яиц, пищевой дизайн, накопление ксантофиллов, кормовые добавки.

Введение

Относительно новое направление – пищевой дизайн (food design) – ориентировано на получение продукции с заданными свойствами. Применительно к птицеводству известно использование специально разработанных подкормок с целью, например, повышения содержания в яйцах эссенциальных жирных кислот, ксантофиллов [1], иода и т.д. Особое внимание, уделяемое содержанию ксантофиллов (лютеина и зеаксантина) в желтке, связано с установлением влияния недостатка этих веществ на развитие возрастного заболевания макулы (желтого пятна в сетчатке глаз). Потребление до 3 мг в сутки этих веществ позволяет существенно снизить риск заболевания [2]. В странах Западной Европы и США выпускается несколько кормовых добавок, предназначенных для улучшения цвета желтка. Они содержат ксантофиллы растительного происхождения, поскольку известно, что в организме птицы эти вещества не синтезируются (в том числе из β -каротина).

Задача настоящей работы – исследование качественного и количественного состава каротиноидного комплекса желтка куриных яиц рынка Белгородской области и возможности повышения содержания лютеина и зеаксантина в желтке куриных яиц за счет использования кормовых добавок на основе природных ксантофиллов с использованием хроматографических и спектрофотометрических методов.

Экспериментальная часть

Желток отделяли от белка и гомогенизировали. Навеску желтка в диапазоне 0,45 – 0,55 г смешивали с 9,5 мл растворителя, разминали коагулят до видимого обесцвечивания. Экстракт отделяли и отжимали на стеклянном фильтре, покрытом фильтровальной бумагой, под вакуумом. Экстракт переносили в мерную колбу (емкостью 10 мл) и доводили до метки тем же растворителем. При содержании каротиноидов более 50 мкг на 1 г желтка проводили повторную экстракцию (10 мл); экстракты объединяли, переносили в мерную колбу на 25 мл, доводили до метки тем же растворителем.

Для ВЭЖХ исследований при обращенно-фазовом варианте использовали растворы, полученные экстракцией ацетоном; при нормально-фазовом варианте к ацетоновому экстракту добавляли 10 мл гексана, воду (около 50 мл), 10 %-ный раствор хлорида натрия в воде, отделяя нижний слой в делительной воронке. Гексановый слой сушили добавлением прокаленного сульфата натрия.

Спектрофотометрические измерения производили с использованием КФК-3а и кварцевых кювет длиной оптического пути 1 см.

Для исследований использовали хроматографическую систему, состоящую из насоса Altex 110А, детектора LCD2563 ($\lambda = 436$ нм) и интегратора Shimadzu C-R3A. Колонки: 250×4 мм Диасфер-110-C18 (6 мкм) (ЗАО «БиоХимМак СТ») – для обращенно-фазовой ВЭЖХ (ОФ), 250×4,6 мм ZorbaxSil (5 мкм) – для нормально-фазовой ВЭЖХ (НФ). Подвижные фазы: 0 – 20 об. % ацетонитрила в ацетоне (ОФ); 25 об.% ацетона в гексане (НФ). Скорость элюента – мл/мин.

В работе использовали ацетон, 1-бутанол, ацетонитрил, гексан квалификации ч. или ч.д.а. для экстракции и для ВЭЖХ определений.

Для исследования накопления ксантофиллов при введении в качестве подкормки ксантофилл содержащего концентрата (ORO GLO 20 DRY, Kemin Europa NV, Belgium) было выбрано частное хозяйство, исходная продукция которого отличалась в лучшую сторону (~ 40 мкг лютеина и зеаксантина на 1 г) по сравнению с продукцией птицефабрик и многих частных хозяйств.

Результаты и обсуждение

Для оценки накопления каротиноидов часто применяют различные цветовые шкалы (наиболее распространенной из которых является веер Рош [3 – 6]). Несмотря на очевидную простоту визуального сопоставления окраски, остается много вопросов, на которые невозможно получить ответы. Так, хорошо известно, что в желтке может накапливаться ряд веществ (апо-каротеналь или апо-этиловый эфир каротиновой кислоты [7]), придавая продукту скорее эстетическую ценность. В плане определения соотношения между ксантофиллами не очень информативны спектрофотометрические методы, поскольку спектры лютеина и зеаксантина довольно близки, и практически бесполезно использование цветowych шкал.

Лепестки цветков бархатцев (*Tagetes* sp.) содержат в основном диэфиры лютеина и зеаксантина [8]. С использованием обращенно-фазовой ВЭЖХ, экстрактов лепестков цветков этого растения и их частичных гидролизатов [8] в качестве стандартов нами было установлено, что более чем в 50 исследованных образцах желтков практически отсутствовали (не более 0,5 % от суммы каротиноидов) диэфиры лютеина и зеаксантина; содержание моноэфиров и β -каротина не превышало 2,0 % и 2,5 % соответственно. При этом возникает вопрос о целесообразности часто используемого омыления на предварительном этапе определения [9, 10], тем более, что любые манипуляции с каротиноидами следует проводить с учетом высокой лабильности этих соединений.

Наиболее информативна при исследовании каротиноидов желтка яиц нормально-фазовая ВЭЖХ. Анализируя хроматограммы экстрактов желтка (рис. 1), можно сделать вывод о том, что кроме лютеина и зеаксантина в желтках весьма заметно присутствие других веществ (до 25 % по площадям пиков), относимых к изомерам этих ксантофиллов и их метаболитам [11, 12]. Соотношение лютеин : зеаксантин варьировало в значительных пределах, но наиболее характерным является соотношение $\sim 4:1$.

Отметим, что разделение и количественное определение лютеина и зеаксантина возможно и при использовании обращенно-фазовой ВЭЖХ (в подвижных фазах, обогащенных ацетонитрилом). Но метод может быть использован только после отделения жиров (или омыления), экстрагируемых вместе с каротиноидами, поскольку при высоком содержании ацетонитрила в ацетоне жиры выпадают в осадок, сорбируя значительную часть каротиноидов.

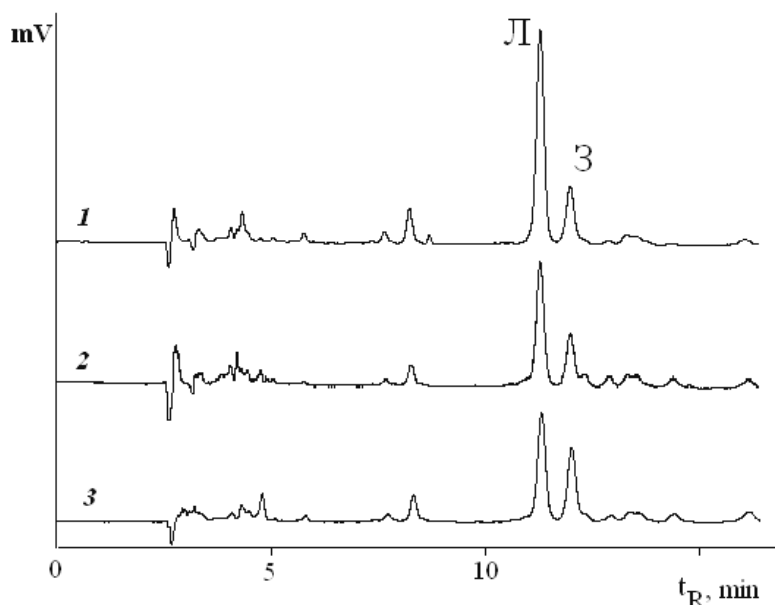


Рис. 1. Разделение каротиноидов экстракта желтка куриных яиц.

Условия: колонка 250×4,6 мм ZorbaxSil (5 мкм); подвижная фаза: 25% ацетона в гексане, 1 мл/мин; детектор: 436 нм. Экстракты: из желтков яиц 1 – экспериментальных; 2 – птицефабрики «Майская», племенное; 3 – птицефабрики «Северное»; Л – лютеин; 3 – зеаксантин

При исследовании желтков яиц, выпускаемых птицефабриками, в течение всего 2004 года было найдено, что содержание каротиноидов в среднем составляло 20 мкг на 1 г желтка с большими относительными вариациями как в сторону увеличения (до 30 мкг на 1 г), так и в сторону уменьшения (до 7 мкг на 1 г). В желтке яиц частных хозяйств ксантофиллов заметно больше (в среднем 30 мкг на 1 г), но с еще большими вариациями, что свидетельствует о различии рационов кормления.

При использовании концентратов ксантофиллов в качестве подкормок в рационе кур было установлено, что уже через две недели их содержание в желтке оказалось более высоким (рис. 2). К концу эксперимента среднее содержание суммы ксантофиллов превысило 110 мкг на 1 г (а в отдельных образцах – более 150 мкг на 1 г).

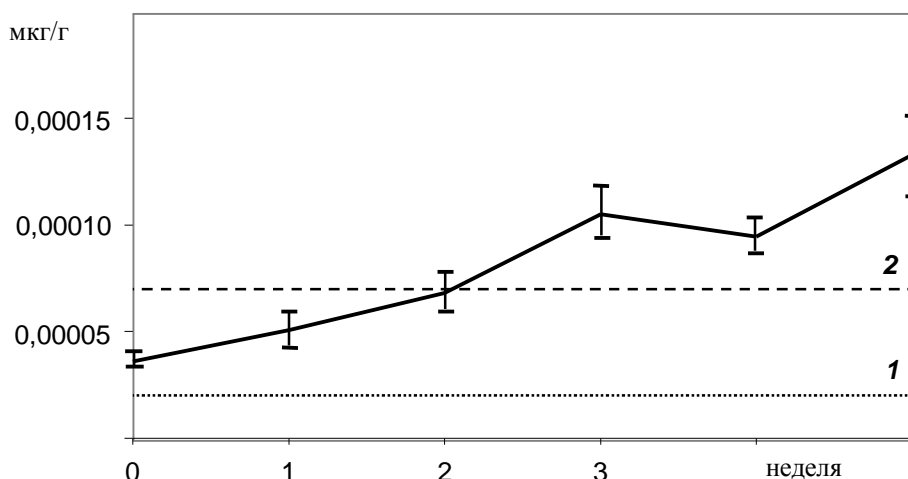


Рис.2. Накопление ксантофиллов в желтке куриных яиц при введении в корм добавок ОРО ГЛО:
 1 – среднее содержание в продукции птицефабрик;
 2 – максимальное содержание в продукции частных хозяйств

Для серийных исследований в данной работе использовался спектрофотометрический метод. По указанным выше причинам мы сочли бессмысленным дополнительное омыление экстрактов. Известно, что спектральные характеристики каротиноидов зависят от растворителя [13]. Действительно, при замене ацетона на 1-бутанол наблюдалось небольшое bathochromное смещение максимумов (на 2 – 3 нм) поглощения экстрактов. Но параллельное исследование одного и того же образца желтка при экстракции этими растворителями показало, что абсорбция (при 445 нм) в пересчете на одинаковые массы исходного материала различалась не более чем на 2 – 3 %. Это позволило использовать литературное значение коэффициента поглощения ($A_{1\text{см}}^{1\%} = 2550$, [12]) для пересчета содержания каротиноидов на лютеин.

Экстракция ацетоном оказалась эффективной. Полноту экстракции оценивали по полному визуальному обесцвечиванию твердого остатка на фильтре и повторной экстракции остатка. Степень извлечения каротиноидов при однократной экстракции превышала 97,5 %. Однако иногда при этом получался коллоидный раствор и для последующего спектрофотометрирования необходима реэкстракция каротиноидов в гексан, что неизбежно приводит к дополнительным погрешностям. Но было установлено, что в этих случаях замена ацетона на 1-бутанол позволяет получить истинные растворы с аналогичной степенью извлечения каротиноидов. Погрешность спектрофотометрического определения каротиноидов при экстракции ацетоном и 1-бутанолом составила 2,9 % ($n=7$, $P = 0,95$) при использовании в качестве результата среднего значения двух параллельных определений.

При анализе ксантофиллов использованного концентрата было установлено, что это соотношение лютеин : зеаксантин существенно больше, чем 4:1 (~ 9:1). Следовательно, этот препарат не может быть максимально эффективным – для накопления нужного количества зеаксантина неизбежен почти двукратный «перерасход» лютеина. Сопоставление соотношения ксантофиллов в концентрате (в виде лютеина и зеаксантина) и цветках бархатцев (в виде их диэфиров) не противоречит гипотезе об их общем происхождении. Запись в инструкции о том, что препарат получен из цветков календулы (состав пигментов которой принципиально иной [14]), неудивительна. В англоязычной литературе под одним названием «marigold» фигурируют то бархатцы [15], то календула [16]. Однако для лучшей эффективности подкормок необходимо создание препаратов, сбалансированных по соотношению лютеина и зеаксантина. Этим, вероятно, и объясняются работы по получению клонов бархатцев, обладающих повышенным относительным содержанием зеаксантина [17].

Заключение

Таким образом, показана эффективность использования комбинации спектрофотометрического и хроматографического методов при исследовании каротиноидного комплекса желтка куриных яиц, которая может быть использована при разработке и проверки эффективности отечественных концентратов на основе природных ксантофиллов.

Установлено, что среднее содержание каротиноидов в продукции птицефабрик и фермерских хозяйств (около 20 мкг на 1 г желтка) заметно ниже, чем в продукции частных хозяйств. В качестве основных каротиноидов во всех исследованных образцах были найдены ксантофиллы (лютеин и зеаксантин). Показана возможность существенного повышения содержания ксантофиллов в желтке яиц при введении в диету концентратов на основе природных ксантофиллов.

Список литературы

1. Владимиров В.Л., Шапошников А.А., Дейнека Д.В., Вострикова С.И., Дейнека В.И. Исследование каротиноидного состава желтка куриных яиц // Доклады РАСХН. – 2005. – № 6. – С. 46-48.
2. Schalch W. Possible contribution of lutein and zeaxanthin, carotenoids of the macula lutea, to reducing the risk for age-related macular degeneration: a review // *HKJOphtalmol.* – 2000. – V.4, №.1. – P.31-42.
3. Couch J.R, Farr F.M. The effect of adding canthaxanthin and beta-apo-8'-carotenal to laying diets containing yellow corn and alfalfa on egg yolk pigmentation // *Br. Poultry Sci.* – 1971. – V.12. – P. 1249-55.
4. Ishikawa S., Murakami H., Yamazaki M., Takemasa M. Effect of Carrot Leaf Supplementation on Egg Yolk β -Carotene Content and Egg Quality // *J. Poult. Sci.* – 1999. – V.38. – P.275-283.
5. Ehtesham A., Chowdhury S.D. Responses of Laying Chickens to Diets Formulated by Following Different Feeding Standards // *Pakistan J. Nutr.* – 2002. – № 1. – P. 127-131.
6. Saffarzadeh A., Csapó J. The effect of substituting corn with different levels of *Pistacia atlantica* seeds on laying hens performance in first phase of egg production. // *Acta Agr. Kaposvariensis.* – 1999. – V. 3. – P.361-368.
7. Karunajeeva H., Hughes R.S., McDonald M.W., Shenstone F.S. A review of factors influencing pigmentation of egg yolks. // *W. Poult. Sci. J.* – 1984. – V. 40. – P. 52 -65.
8. Rivas J.D.L. Reversed-phase HPLC separation of lutein and lutein fatty acid esters from marigold flower petal powder // *J. Chromatogr.* – 1989. – V. 464. – P.442-447.
9. Burdick D., Fletcher D. Utilization of Xanthophyll in Fresh-Cut and Field-Wilted, Dehydrated Alfalfa and Coastal Bermudagrass for Pigmenting Egg Yolks. // *Poultry Sci.* – 1984. – V.63, №1. – P. 946-951.

10. Jiang Y.H., McGeachin R.B., Bailey C.A. Alpha-tocopherol, beta-carotene, and retinol enrichment of chicken eggs // *Poult. Sci.* – 1994. – V. 73. – P. 1137-1143.
11. Khachik F., de Moura F.F., Zhao D.Y., Aebischer C.P., Bernstein P.S. Transformations of selected carotenoids in plasma, liver, and ocular tissues of humans and in nonprimate animal models // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2002. – V. 43. – P. 3383-3392.
12. Tyczkowski J.K., Schaeffer J.L., Parkhurst C., Hamilton P.B. 3'-Oxolutein, a metabolite of lutein in chickens. *Poult. Sci.* – 1986. – V. 65. – P. 2135-2141
13. Rodrigues-Amaya D.B. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods.* ILSI Press, Washington, D.C. – 63 p.
14. Pintea A., Bele C., Andrei S., Socaciu C. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. // *Acta Biol Szeged.* – 2003. – V. 47. – P. 37-40.
15. Perez-Vendrell A.M. Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. // *Poult Sci.* – 2001. – V. 80. – P. 320-326.
16. Zitterl-Eglseer K., Reznicek G., Jurenitsch J., Novak J., Zitterl W., Franz C. Morphogenetic variability of faradiol monoesters in marigold *Calendula officinalis* L. // *Phytochem Anal.* – 2001. – V. 12. – P. 199-201.
17. USPTO 800323000, Intl Class A01H005/00. *Tagetes erecta* marigolds with altered carotenoid compositions and ratios.

INVESTIGATION OF EGG'S YOLK CAROTENOIDS BY SPECTROPHOTOMETRICAL AND CHROMATOGRAPHIC METHODS

L.A. Deineka, A.A. Shaposhnikov, S.M. Vostrikova, V.I. Deineka

Belgorod State University, Pobedy St., 85, Belgorod, 308015, Russia
E-mail: deineka@bsu.edu.ru

The accumulation of carotenoids in egg's yolk of laying hens has been investigated by means of spectrophotometrical and chromatographic methods. A mean concentration of carotenoids in eggs of industrial manufacturers (20 mcg per 1 g of yolk) was found to be markedly lower than that of individual farms. Non-esterified xanthophylls (lutein and zeaxanthin) were found to be the major constituents of the carotenoid complex. A possibility of substantial improvement of yolk carotenoid content by carotenoid-enriched dietary supplements has been proved experimentally.

Key words: carotenoids assay, eggs yolk, food design, xanthophylls accumulation, dietary supplements.

УДК 551.114(0758) + 553 + 666.32/.36

ГРАНУЛОМЕТРИЧЕСКИЙ СОСТАВ ГЛИН КИЕВСКОЙ СВИТЫ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Е.В. Кормош (Баранникова)¹, А.И. Везенцев¹, Е.А. Дороганов²

¹Белгородский государственный университет, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85
E-mail: kormoch@mail.ru, vesentsev@bsu.edu.ru

²Белгородский государственный технологический университет им. В.Г. Шухова
308012, г. Белгород, ул. Костюкова, 46

Определение гранулометрического состава дисперсных систем посредством их седиментации – один из самых практичных и широко применяемых методов дисперсионного анализа. Минеральные суспензии являются полидисперсными и состоят из различных по размеру частиц, радиусы которых имеют любое значение в определенном интервале. Для характеристики полидисперсных систем были применены интегральные и дифференциальные функции распределения. Описывающие эти функции интегральные и дифференциальные