

УДК 66.061.34

СПОСОБЫ РАЗДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ СВЯЗАННЫХ И СВОБОДНЫХ ФОРМ ФИТОСТЕРИНОВ

Челомбиткин М.А.

Национальный исследовательский университет ИТМО

Научный руководитель – к.т.н., доцент Баракова Н.В.1

Национальный исследовательский университет ИТМО

Аннотация. В работе рассмотрены современные методы очистки фитостеринов в контексте создания функциональных продуктов. При разработке функциональных продуктов предпочтительней использовать гликозидные и эфирные стериды. В силу того, что они обладают более высокой растворимостью в водных и жирных средах, чем их свободные формы, вопросы их выделения и очистки из экстрактов представляет собой сложную задачу, для решения которой необходимо проводить колоночную хроматографию в тандеме с тонкослойной хроматографией.

Введение. Фитостериды - компоненты клеточных стенок растений, выполняют те же функции, что и холестерин в организме человека. Растительные стериды обладают схожей структурой с холестерином. Благодаря своему сходству, фитостериды биологически активны, а именно, конкурируя с холестерином при мицеллообразовании в кишечнике, снижают концентрацию общего холестерина в плазме. Это благоприятно влияет на здоровье сердечно-сосудистой системы. Благодаря этим свойствам фитостериды привлекли большое внимание. Продукты, обогащенные фитостеридами, содержали свободные фитостериды, и для значительного снижения уровня холестерина в сыворотке требовались относительно большие дозировки. Решением проблемы биодоступности стало применение связанных форм фитостеридов.

Растительные стериды содержатся в растениях в различных формах: гликозилированных, этерифицированных и свободных. Недостаток свободных форм для медицинского применения заключается в сильной гидрофобности соединения. Кроме того, фитостериды в несвязанной форме плохо растворимы в жирах, это делает получение функциональных продуктов на основе фитостеридов трудной задачей. Стоит отметить, что большей водо- и жирорастворимостью обладают связанные формы. Этерифицированные формы, экстрагируемые из растений, как правило, содержат остатки жирных кислот, что обеспечивает большую жирорастворимость. Большой интерес представляют гликозилированные формы фитостеридов, остаток сахаров, проявляя гидрофильные свойства, способен повысить растворимость связанных фитостеридов в водных средах.

В исследовании описываются количественные методы анализа свободных и конъюгированных стеридов в растениях. Как правило, этерифицированные формы можно гидролизовать до свободных фитостеридов в щелочных условиях или непосредственно определять с помощью метода хроматографического анализа. Из-за структурной сложности гликозидная связь между гидроксильной группой стерола и

сахаром не может быть гидролизована в щелочных условиях. Кроме того, полярные конъюгированные стеринны нерастворимы в неполярной липидной фазе и не могут быть включены в прямые липидные экстракты.

Методы выделения фитостеринов зависят от формы фитостеринов (свободные, этерифицированные и гликозилированные). Для получения определенной формы необходимо использовать различные методы разделения, основываясь на их физико-химических свойствах. В исследовании опробовали различные методы экстракции фитостеринов, такие как экстракция Сокслета, ультразвуковая, сверхкритический диоксид углерода и сверхкритический диоксид углерода с соразтворителями. Авторы сообщили, что наибольшее содержание фитостерола получено при использовании сверхкритического диоксида углерода с соразтворителем.

Наиболее эффективным методом разделения форм фитостеринов представляется ВЭЖХ. Исследователями предложены параметры для выделения свободных форм параметры указывали для колонки C-18. Проводили градиентную элюцию смесью растворителей ацетонитрила и дихлорметана, соотношение изменяли от 9:1 до 7.5: 2.5 соответственно. Для элюирования связанных форм предпочтительно добавление более полярных соединений, так элюция проводилась системой растворителей метанол: хлороформ 6:4 С с добавлением ацетата аммония.

ВЭЖХ представляется наиболее быстрым способом разделения, однако не единственным. Колоночная хроматография в тандеме с тонкослойной хроматографией может быть использована для эффективного разделения стериннов. При использовании тонкослойной хроматографии сложность составляет определение положения образца. С этой целью необходимо использовать эталон. В качестве эталона свободных фитостеринов можно использовать самый распространенный в большинстве растений растительный стерин - ситостерин. Кроме того удовлетворительные результаты будет давать холестерин, так как их структура и молекулярный вес в значительной степени совпадают. Колоночная хроматография или ТСХ использовались для выделения трех классов фитостеролов. Например, колонки с нейтральным оксидом алюминия были использованы для хроматографии 1 г неомыляемых фракций путем последовательного элюирования 80:20 (об. / Об.), 70:30, 60:40 смеси гексан : диэтиловый эфир. Три класса фитостеринов также можно разделить на три разные зоны на силикагелевой ТСХ, в смеси гексан : диэтиловый эфир : уксусная кислота (70: 30: 1, об. / Об.) или путем одного проявления с 1 : 1 (об. / Об.). Смесь гексан: диэтиловый эфир.

Выводы. Разделение фитостеринов хоть и сложная в исполнении, но решаемая задача. Однако, важно заметить, что при подобных способах экстракции предполагается предварительное омыление щелочью. Данная операция способна разрушать эфиры до свободных стериннов, не подходящих для медицинского использования или создания функционального продукта в связи с низкой биодоступностью, в тоже время гликозиды, потенциально наиболее пригодные, для создания фитостеринов не могут быть экстрагированы из водной фазы неполярным растворителем. Разделение и очистка свободных форм на хроматографии не представляет сложности, для получения связанных форм можно проводить хроматографию без предварительного омыления, но в таком случае концентрация стериннов будет значительно ниже, что в свою очередь потребует колонок большего

диаметра и как следствие - удорожание процесса. Возможно получить этерифицированные формы путем этерификации свободных стеринов, после очистки. Это позволит получать эфиры определенной кислоты.