

LIETUVOJE UŽAUGINTO ALIEJINIO BURNOČIO SĖKLŲ (*AMARANTHUS*) ALIEJAUS CHEMINĖ SUDĖTIS IR SAVYBĖS

Dainora Gruzdiene

Kauno technologijos universitetas, Radvilėnų pl. 19, Kaunas; tel. 30 01 86, faks. 45 66 47, mob. 8 616 15 270

Santrauka. Burnočių sėklų ir aliejaus sudėtis bei savybės palygintos su sėmenų aliejumi. Tyrimai atlikti įvairiais instrumentiniais ir cheminiais metodais (DC, DC-MS, ESC, Oxipress ir kt.), nustatytos burnočių aliejaus kai kurios savybės, riebalų rūgščių kompozicija, bendras, laisvųjų ir esterifikuotų sterolių, tokoferolių, tokotrienolių bei skvaleno kiekis.

Nustatyta, kad burnočių aliejaus sudėtyje, palyginti su tradiciniu rapsų aliejumi (30 proc.), yra pakankamai daug polinesočiųjų (50,15 proc.) ir net keturis kartus daugiau sočiųjų riebalų rūgščių, atitinkamai 6 proc. ir 22,58 proc. Rasta tradiciniuose aliejuose rečiau sutinkamos lignocerino riebalų rūgštis (7,06 proc.). Burnočių aliejuje vyrauja linolo (49,61 proc.), oleino (19,52 proc.) ir sočioji palmitino riebalų rūgštis (17,91 proc.). Tai yra linolinis aliejus, tuo tarpu sėmenų aliejus yra linoleninis (alfa linoleno riebalų rūgštis – 61,17 proc.). Galime teigti, kad jie galėtų vienas kitą papildyti subalansavus tinkamą polinesočiųjų riebalų rūgščių tarpusavio santykį mitybos racione (optimalus: $\omega 6 : \omega 3 = 2$). Nustatyta triacilglicerolių kompozicija: SN₂ (16:0–18:2–18:2) ir N₃ (18:2–18:2–18:2; 18:1–18:2–18:2; 18:1–18:1–18:2; 18:1–18:2–18:3). Gauti duomenys artimi literatūros šaltiniuose nurodytiems, tačiau galima teigti, kad Lietuvoje užaugintuose burnočio sėklose susikaupia maksimalus polinesočiųjų riebalų rūgščių ir tokoferolių kiekis.

Burnočių aliejuje nustatyta gana didelė skvaleno koncentracija – 9,98 g/100 g (norma 5–6 g/100 g), nebūdinga kitiems aliejams. Jo sudėtyje rasta daug vitamino E (1112 mg/kg), nustatytas bendras sterolių kiekis – 2789,2 mg/100 g, išskiriant šias pagrindines sterolių grupes – dismetilsterolius (1587,14 mg/100 g) ir 4-metilsterolius (1035,1 mg/100 g).

Tyrimų rezultatai palyginti su sėmenų aliejumi parodė gana didelį burnočių aliejaus stabilumą 110°C temperatūroje, atitinkamai 4,89 h ir 1,5 h.

Raktažodžiai: burmotis, riebalų rūgštys, steroliai, tokoferoliai ir tokotrienoliai, skvalenas, oksidacinis stabilumas.

CHEMICAL COMPOSITION AND PROPERTIES OF OIL FROM AMARANTHUS SEED GROWING IN LITHUANIA

Dainora Gruzdiene

Kaunas University of Technology, Radvilėnų pl. 19, Kaunas, Lithuania

tel.: +370 37 300186, fax: +370 37 456647, mob. +37061615270, E-mail: dainora.gruzdiene@ktu.lt

Summary. Non-conventional oil seeds are considered by researchers by their unique chemical properties and possibility of the oil to be used in the diet. The genus *Amaranthus* includes more than 60 species that grow in many areas of the world. *Amaranthus* is called the thirdmillennium crop plant.

The aim of the study was to determine the chemical composition and oxidative stability of amaranthus seed oil and to compare it with flaxseed oils using in Lithuania. The content of fatty acids, total, free and esterified sterols, tocopherols and tocotrienols, squalene were determined by GC, GC-MS, HPLC and Oxipress methods.

There were analysed two cultivars of amaranth oils: *Amaranthus spp.* and *Amaranthus retr.*

Data of the study showed that amaranthus oils contain considerable amounts of C18:2 (49,61% and 47,82%) and C18:1 (19,52 and 18,64%), about 20% palmitic acid and lower quantities of stearic acid (about 4%). These results are in concert with previous findings on fatty acid composition described in literature. Very important for amaranthus is high concentration of squalene (9.98 g/100g) which is different from other oil. *Amaranthus* is good source of vitamin E (1112 mg/kg). Summary of sterols content was 2789,2 mg/100g. The main sterols, such as desmethylsterols (1587,14 mg/100g) and 4-methylsterols (1035,1 mg/100g) and triglycerides composition: SN₂ (16:0-18:2-18:2; 16:0-18:1-18:2) and N₃ (18:2-18:2-18:2; 18:1-18:2-18:2; 18:1-18:1-18:2; 18:1-18:2-18:3) were determined. Data of the study showed, that stability of amaranthus oil is quit high – 4,89 h at 110°C temperature, whereas additive of amaranthus seed extract (0,15%) increased stability of flax oil 2,5 time compared to control sample (flaxseed oil without additives).

Key words: amaranthus, antioxidative stability, fatty acids, tocopherols and tocotrienols, sterols, squalene.

Įvadas. Burnotis priklauso *Amaranthaceae* augalų šeimai, *Amaranthus* rūšiai. Tai trečiojo tūkstantmečio augalas. Priskaičiuojama daugiau nei 60 burnočio rūšių. Dėl unikalių biologinių, cheminių ir maistinių savybių burnočio sėklos *A. caudatus* (*Amarantaceae*) naudojamos duonos, pastų, miltų bei gėrimų gamyboje, o miltai – duonos, pyragų, javainių batonėlių bei keksų gamyboje.

Šio augalo lapai ir stiebai naudojami ruošiant sriubas, salotas ir pan. Burnočių aliejus ekstrahuojamas iš sėklų grūdų (*Amaranthus A. cruentus* ir *Hypochondriacus*). Amaranto aliejaus spalva yra vidutiniškai intensyvi, aliejus yra skystas žemoje temperatūroje, pasižymi maloni aromatu ir skoniu.



Hypochondriacus

Burnotis greitai auga, nelepus, iššaugina smulkias sėklas-grūdus (Budin et al., 1996). Jis gali užaugti iki 15–100 cm, kartais net iki 300 cm aukščio. Lapai – ilgi, žiedai – įvairių spalvų, priklausomai nuo rūšies. Burnotis su-

brandina iki 100 000 sėklyčių. Derlius siekia nuo 1 t/ha iki 3 t/ha (1998 m. Austrijoje). Šiuo metu augalas kultivuojamas Belgijoje, Suomijoje, Italijoje, Olandijoje, Švedijoje ir Anglijoje, kai kuriuose Indijos, Afrikos ir Kinijos regionuose, o Čekija yra didžiausia importuotoja Europoje (Becher, 1989). *Amaranthus* sėklų sudėtyje yra natūralaus antioksidanto skvaleno ir taip trūkstamos mitybai aminorūgštis – lizino. Šiuo metu *Amaranthus* plantacijų tinklas plečiasi visame pasaulyje. Jį pradėjo auginti ir atskiri ūkininkai Lietuvoje. Burnočių sėklų sudėtyje yra daug mineralinių medžiagų – kalcio, magnio (Budin et al., 1996). Sėklų riebalingumas yra 4 – 7 proc. Kaip sėklų komponentai identifikuoti šie fitosteroliai: kampesteroliai, stigmasteroliai, beta sitosterolis, Δ^5 -avenasterolis, Δ^7 -avenasterolis ir kt. (Ologunde et al., 1992). Burnočių aliejuje vyrauja nesočiosios riebalų rūgštys, išskiriant linolo (54 proc.) (Budin et al., 1996). Vartojant aliejų organizme sumažėja blogojo cholesterolio.

Aliejaus sudėtyje rasta gana daug tokoferolių (apie 1500 mg/kg): beta tokoferolio – 350 mg/kg, o gama tokoferolio – 686 mg/kg (Gruzdienė, Bagdonaitė, 2003). Svarbiausiu komponentu laikomas angliavandenilių klasei priklausantis skvalenas. Jo koncentracija aliejuje siekia 6–8 proc. (Manuel et al., 2001; Budin et al., 1996). Didelis skvaleno kiekis burnočių aliejuj suteikia išskirtinių savybių; tai biologiškai aktyvus komponentas. Skvalenas medicininiam tikslams ekstrahuojamas iš ryklio kepenų. Tai beveik vienintelis aliejus, turintis tokį didelį šio junginio kiekį. Skvalenas priklauso izoprenoidų grupei, kurie yra steroidų pirmtakai (stresų hormonai iš antinksčių liaukos). Be to, jis dalyvauja svarbaus antioksidanto – kofermento Q10 sintezėje. Skvalenas yra ląstelių membranų sudedamoji dalis, apsaugo jas nuo terminio ir cheminio poveikio. Tiek skvalenas, tiek Q10 yra stiprūs antioksidantai. Skvalenas yra vienas svarbiausių žmogaus odos lipidų sudedamųjų dalių, darantis teigiamą poveikį odos metabolizmui ir saugantis organizmą nuo neigiamo poveikio. Jis sujungia laisvuosius radikalus ir taip apsaugo žmogaus organizmą. Veikiami cheminių junginių ir spinduliuotės, aktyvūs deguonies radikalai susiformuoja atmosferoje, vandenyje ir maiste. Tokios aktyvios deguonies formos veikia vidinius žmogaus organus ir sukelia kai kurias ligas. Skvalenas yra efektyvus laisvųjų radikalų slopintojas; didina organizmo atsparumą, saugo nuo vėžinių susi-

rgimų. Skvalenas buvo rastas žmogaus riebaliniame sluoksnyje. Čia jis sudarė 10 proc. visų išskirtų medžiagų (laisvosios riebalų rūgštys sudarė 5 proc., gliceroliai – 50 proc., vašakai – 20 proc.) (Manule et al., 2003; Budin et al., 1996).

Unikalį šio augalo sėklų sudėtis sudomino ne tik duonos pramonės ir kosmetikos specialistus, bet ir augalinio aliejaus gamintojus.

Darbo tikslas – ištirti Lietuvoje užauginto burnočio sėklų ir aliejaus sudėtį bei savybes ir palyginti su sėmenų aliejumi.

Tyrimo objektai ir metodai. Burnočių sėklos (*Amaranthus spp.*) gautos iš Lietuvos ūkininko Alfonso Peckaus (Alytaus rajonas, 2004 m.), o *Amaranthus retroflexus* (100 g) gautos iš Botanikos sodo 2004 m. Aliejus išgautas laboratorinėmis sąlygomis ekstrahuojant sėklas heksanu Soksleto aparate.

Standartizuota linų veislė *Barbara* (UAB Aletovis, Lietuva, 2002, 2004 m.) ir šaltai spaustas sėmenų aliejus (UAB Aletovis, Lietuva, 2002 m.).

Riebalų rūgščių sudėties nustatymas. Riebalų rūgščių sudėtis nustatyta metilo esteriuose, gautuose veikiant aliejų metanoliniu NaOH rūgščioje aplinkoje (BF₃). Riebalų rūgščių metilo esteriai kaip nepoliniai junginiai analizuoti dujiniu chromatografu naudojant polinę kolonėlę (Morena et al., 2001).

Aliejaus trigliceridų identifikavimas (Leo, 1996; 2000). Efektyviajai skysčių chromatografinėi (ESC) analizei pritaikyti dviejų rūšių detektoriai – refrakcijos indekso (RI) ir cheminės jonizacijos masės spektrometras (CJMS). Naudota atvirkščių fazių 250x4 mm v. d. „Hibar LiChrospher 100 CR-18“ (5 μ m) kolonėlė, eliuentas, sudarytas iš acetono ir acetonitrilo mišinio (santykiu 7:3). Aliejaus mėginiai paruošti 25 ml matavimo kolbutėje ištirpinus 1 ml bandinio eliuente. Trigliceridų kompozicijos identifikuotos su CJMS. Metodo paklaida – ne daugiau 0,8 proc.

Sterolių nustatymas. Bendras sterolių kiekis nustatytas Tom Verleyem DGF metodu (Abidi et al., 2001; Verleyen et al., 2002), kurio esmė yra sterolių frakcijos išskyrimas iš aliejaus organiniais tirpikliais po triacilglicerolių apmuilnimo. Steroliai išskirstyti dujiniame chromatografe, o jų kiekiai apskaičiuoti pagal vidinį standartą.

Laisvųjų ir esterifikuotų sterolių atskyrimas paremtas jų skirtingu poliškumu. Jiems atskirti naudoti skirtingi eliuantai. Laisviesiems steroliams – n-heksano:etilacetato mišinys (9:1), o esterifikuotiems – n-heksano:dietileterio:etanolio mišinys (2,5:2,5:5,0).

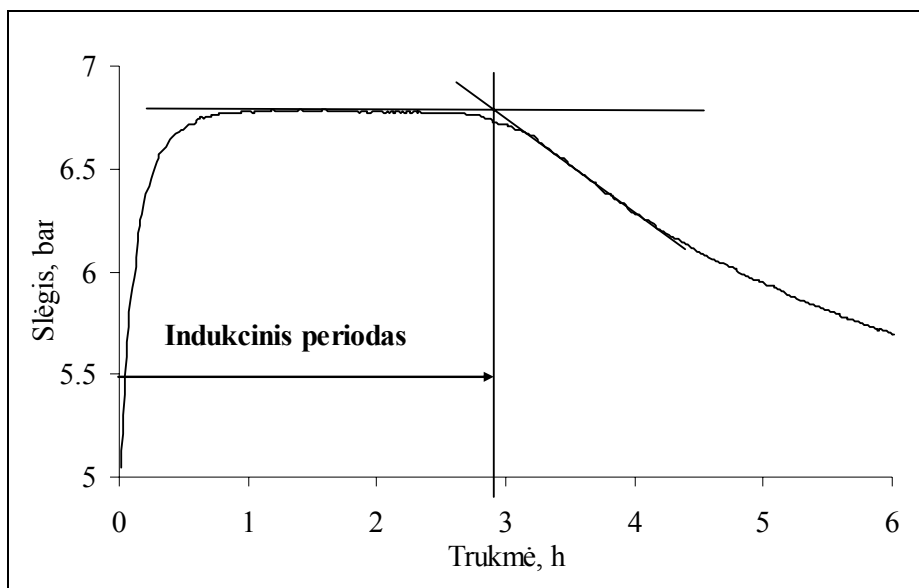
Skvaleno kiekio nustatymas (Nenadis, Isimidou, 2002). Grynas skvalenas ir vidinis standartas betulinas į GC-MS (dujinis chromatografas-masių spektrofotometras). Perskaičiuojamas pataisos koeficientas (2,3). Gautose sterolių chromatogramose kartu išeina ir skvaleno pikai. Pagal nustatytą gryno skvaleno išėjimo laiką chromatogramose surasti atitikmenys ir apskaičiuota skvaleno koncentracija.

Tokoferolių nustatymas (Pocklington, 1988). Tokoferoliams nustatyti aliejuje naudota efektyvioji skysčių chromatografija (ESC) su fluorescenciniu detektoriumi. Tokoferolių ir tokotrienolių elucijai taikoma izokratinė

arba gradientinė sistema. Be to, fluorescencijai nustatyti naudojamas ir UV detektorius esant 294 nm bangos ilgiui.

Oksipreso metodas (Trojakova, 1999). Aliejaus stabilumas oksidacijai, priklausomai nuo priedų, tirtas instrumentiniu Oksipreso metodu (prietaisais „ML Oxipres“, „Mikrolab Aarhus A/S“, Danija), nustatant indukcinį

periodą (IP, h) (Pav.), rodantį riebalų patvarumą oksidacijai, valandomis. Riebalų oksidacija tirta 120°C temperatūroje, mėginio masė 5 g, deguonies slėgis 5 bar (0,5 MPa). Prietaisais automatiškai nubrėžia deguonies slėgio kitimo kreivę ir apskaičiuoja IP.



Pav. Oksipresu užrašyta oksidacijos kinetikos kreivė ir indukcinio periodo nustatymo liestinės

Burnočių ekstraktų gavimas. Etanoliniams ir acetoniiniams ekstraktams paruošti burnočių sėklos sumaltos „TC-363“ serijos malimo mašinėle (Home electric), heksanu riebalai pašalinti Soksleto aparate (5–6 h), sėklos išdžiovintos.

Etanoliniai ekstraktai. Pašalintais riebalais rupiniai (~5 g) ekstrahuoti 100 ml etanolio 2 h purtykle (Bios. PSU20). Nuosėdos atskirtos Biuchnerio piltuvu, o gauti etanoliniai ekstraktai sujungti ir koncentruoti garinant etanolį vakuuminiame rotaciniame garintuve (Buchi, Flavil, Šveicarija).

Acetoniniai ekstraktai gauti naudojant „Kret control-visc“ automatinį ekstraktorių (Staufen, Vokietija).

Skvaleno frakcijos išskyrimas ir identifikavimas. Skvaleno frakcijos išskyrimas iš burnočių aliejaus atliktas – 28°C temperatūroje iššaldžius triacilglicerolius ir juos atskyrus, o skvaleno kiekis nustatytas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. Skvaleno frakcijai išskirti taikytas modifikuotas Nenadžio metodas (Nenadis, Isimidou, 2002): 0,5 g burnočių aliejaus pasverta mažoje konusinėje kolbutėje, įpilta 20 ml metanolio/acetono (7:3 v/v) tirpalo ir intensyviai purtyta 1,5 min. Bandinys laikytas 24 h šaldiklyje – 28°C temperatūroje. Tada iššaldyta frakcija greitai filtruota Biuchnerio piltuvu. Tirpiklis nugarintas vakuuminiu rotaciniu garintuvu (Buchi, Flavil, Šveicarija), o likutis ištirpintas 5 ml acetono ir naudotas ESC.

Skvaleno kiekis nustatytas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu. Naudotas „Agilent 1100“ serijos SC (Agilent, Waldbronn, Vokietija) su „Hitachi Lachrom L-7400“ UV detektoriumi (Hitachi Ltd., Tokijas, Japonija), „Agilent 1100“ keturių kanalų siurbliu ir „Agi-

lent 1100“ vakuuminiu degazatoriumi (Agilent, Waldbronn, Vokietija). Pasirinkta „Sinergy Max-RP-80A“ kolonėlė (250x4,6 mm) (Phenomenex, Torrance, USA). Tetrahidrofurano ir acetonitrilo (40:60) mišinys naudotas kaip judri fazė, kurios tekėjimo greitis 1 ml/min. Detektorius nustatytas esant 208 nm bangos ilgiui. Duomenys apdoroti „Baseline 810“ programine įranga.

Dinaminis riebalų stabilumo įvertinimas modifikuotu Oven testu (Kazernavičiūtė ir kt., 2002; Trojakova et al., 1999; Pokorny, 1981, Pokorny et al., 1997). Tyrimams naudotas šaltai spaustas sėmenų aliejus (AB „Aletovis“). Jo stabilumas oksidacijai ir burnočių ekstraktų priedų antioksidacinis poveikis 40°C temperatūros aliejuje nustatytas Oven testu, tam tikrais laiko tarpais įvertinant aliejaus bandinių masės prieaugį.

Tyrimams paruošti 80 g aliejaus mėginiai su burnočių ekstraktu (0,1 proc., 0,15 proc.), su skvaleno frakcijos priedais (0,05 proc., 0,1 proc.) ir be jų. Dėl sėmenų aliejaus oksidacijos antioksidantų priedai tirpinti maišant stikline lazdele. Taip paruošti bandiniai išpilstyti po 25±0,1 g į 150 ml talpos chemines stiklines (po tris stiklinėles kiekvienam bandiniui) ir laikyti termostate 40°C temperatūroje, periodiškai nustatant aliejaus bandinių masės prieaugį (deguonies absorbciją) sėmenų aliejaus laikymo metu (vieną kartą per dieną). Palyginimui naudotas tuščias bandinys (sėmenų aliejus be priedo).

Atlikus bandymą, nubrėžtos masės prieaugio priklausomybės laiko atžvilgiu kreivės (neparodytos). Iš gautų oksidacijos kinetikos kreivių nustatytas sėmenų aliejaus indukcinis periodas IP (staigus oksidacijos produktų susidarymas) ir, lyginant jį su kontrolinio bandinio IP, ap-

skaičiuotas aliejaus stabilumo koeficientas (SK) priklausomai nuo priedo.

Sėmenų aliejaus su priedais, palyginti su tuščiuoju bandiniu, patvarumas oksidacijai vertintas taip: SK=1,0–1,5 (ekstrakto antioksidacinis poveikis labai mažas), SK=1,5–2,0 (mažas); SK=2,0–2,5 (vidutinis); SK= 2,5–3 (didelis); SK >3 (labai didelis).

Atliekant eksperimentus apskaičiuotas kiekvienos fiksuotos reikšmės vidurkis ir standartinis nuokrypis, kuris neviršijo 0,05.

Visi naudoti reagentai – analitinio grynumo klasės.

Tyrimų rezultatai.

Burnočių sėklų ir aliejaus savybės:

sėklų riebalingumas – 7 proc. (ribos: 4,8–8,1 proc.), kai linų sėmenų ~ 37,35 proc.;

lydimosi temperatūra: –27°C;

aliejaus AOM oksidacinis stabilumas 110°C – IP = 4,89 h.

Matome (Gruzdienė, Bagdonaitė, 2003), kad palyginti su rapsų ir sėmenų aliejumi burnočių aliejus turi gana

didelį antioksidacinį stabilumą 110°C temperatūroje (IP = 4,48 h), atitinkamai sėmenų – 1,5 h su N₂ ir 45 min be N₂ bei rapsų – 3,92 h. Burnočių aliejaus stabilumas net šešis kartus viršija sėmenų.

Burnočių sėklų riebalingumas palyginti mažas – tik 7 proc., todėl aliejų iš labai smulkių sėklų išspausti ne tik sunku, bet ir neekonomiška. Šiuo atveju tikslingiau aliejų ekstrahuoti aliejumi ir gauti aliejaus mišinį su savitomis savybėmis arba naudoti hidraulinius presus.

Burnočių aliejaus sudėtis. Riebalų rūgščių sudėtis ir triacilglicerolių kompozicija. Palyginamoji triacilglicerolių kompozicija ir riebalų rūgščių kiekis nustatytas ESC ir DC metodais. Tyrimų rezultatai pateikti 1 lentelėje. Nustatyta, kad burnočių aliejaus sudėtyje, palyginti su tradiciniu rapsų aliejumi (30 proc.), yra pakankamai daug polinesočiųjų (50,15 proc.) ir net keturis kartus daugiau sočiųjų riebalų rūgščių, atitinkamai 6 proc. ir 22,58 proc. Rasta tradiciniuose aliejuose rečiau sutinkama lignocerino riebalų rūgštis (7,06 proc.).

1 lentelė. Lietuvoje auginamų burnočių ir linų sėklų aliejaus riebalų rūgščių sudėtis

Riebalų rūgštys	Riebalų rūgščių kiekis, %		
	Sėmenų aliejus, 2002 m.	Burnočių šaltai spaustas aliejus, 2002 m.	Burnočių ekstrakcinis aliejus, 2004m./ *
C14:0, miristo	0,26	0,14	-
C16:0, palmitino	4,51	14,54	17,91/19-20
C16:1, palmitoleino	0,04	0,10	0,28/-
C18:0, stearino	2,80	1,27	3,63/3
C18:1, oleino	15,84	20,00	19,52/22-26
C18:2, linolo	14,50	54,86	49,61/46-50
C18:3, alfa linoleno	61,17	4,47	0,94/-
C20:0, eikozano	-	0,65	0,7/-
C20:1, eikozeno	0,13	0,78	0,3/-
C20:2, eikozadienoeno	0,06	0,19	-
C20:3, eikozatrienoeno	0,08	0,09	-
C22:0, beheno	-	0,24	-
C24:0, lignocerino	0,22	0,47	7,06/-

/*– literatūriniai duomenys (6)

Burnočių aliejuje vyrauja linolo – 49,61 proc., oleino – 19,52 proc. ir sočioji palmitino riebalų rūgštis – 17,91 proc. Tai yra linolinis aliejus (linolo riebalų rūgštis iki 54,86 proc., 2002 metų derliaus), tuo tarpu sėmenų aliejus yra linoleninis (alfa linoleno riebalų rūgštis – 61,17 proc.). Apibendrinami galime teigti, kad šie aliejai galėtų vienas kitą papildyti subalansavus mitybos racione tinkamą polinesočiųjų riebalų rūgščių tarpusavio santykį (optimalus: ω 6: ω 3 = 2). Šaltai spaustame aliejuje rastas didesnis kiekis linolo (54,86 proc.) ir linoleno (4,47 proc.) riebalų rūgšties, o ekstrahuojant tirpikliu padidėjo palmitino ir lignocerino riebalų rūgšties kiekis. Manome, kad ženkliai didesnį linolo rūgšties kiekį veikė ir karšta 2002 metų vasara (šaltai spaustas, UAB „Aletovis“).

Triacilglicerolių kompozicijos nustatymas. Literatūros šaltiniuose (Leo, 1996; 2000) teigiama, kad skirtingų

rūšių aliejaus triacilgliceroliai kolonėlėje sulaikomi pagal didėjantį anglies atomų skaičių ir mažėjantį dvigubų jungčių kiekį. Sulaikymo kolonėlėje laikui įtakos turi anglies atomų grandinės ilgis. Pavyzdžiui, tripalmitato sulaikymo kolonėlėje laikas trumpesnis už tristearato. Jei turime C 18:1, C 18:2 ir C 18:3 riebalų rūgštis triglicerido molekulėje, kolonėlėje ilgiau sulaikomas tas trigliceridas, kurio sudėtyje daugiau didesnio sotumo laipsnio riebalų rūgščių. Taigi triacilglicerolis 18:1–18:3–18:1 iš kolonėlės išeina greičiau nei 16:0–18:3–18:1. Šiuo atveju didesnę įtaką daro ne anglies atomų skaičius, bet sotumo laipsnis (palmitino rūgšties grandinė trumpesnė už C18 rūgščių grandines, tačiau joje nėra dvigubų jungčių).

Tyrėjai nurodė (Leo, 1996; 2000), kaip galima numatyti triacilglicerolių pasiskirstymą kolonėlėje. Vienas iš paprasčiausių būdų – pasiskirstymo skaičiaus (PS), ro-

dančio triacilglicerolio molekulės cheminę struktūrą, apskaičiavimas pagal formulę:

$$PS = CS - 2DJ,$$

čia: *PS* – pasiskirstymo skaičius; *CS* – visų anglies

atomų skaičius molekulėje; *DJ* – visų dvigubų jungčių kiekis triglicerido molekulėje.

Tyrimo rezultatai atspindi anksčiau nustatytas tendencijas: didėjant pasiskirstymo skaičius (*PS*) vertei ilgėja triacilglicerolių sulaikymo kolonėlėje laikas (2 lentelė).

2 lentelė. **Triacilglicerolio sulaikymo kolonėlėje laikas**

Triacilglicerolio sulaikymo kolonėlėje laikas, min	Triacilglicerolio sudėtis	Pasiskirstymo skaičius (PS)
5,5	18:3–18:3–18:3	33
6,2	18:3–18:3–18:2	35
7,4	18:1–18:3–18:3	37
7,6	18:2–18:3–18:2	37
7,7	16:0–18:3–18:3	37
8,7	18:1–18:3–18:2	39
8,8	18:2–18:2–18:2	39
9,0	16:0–18:3–18:2	39
10,3	18:1–18:2–18:2	41
10,8	18:1–18:3–18:1	41
11,1	16:0–18:3–18:1	41
11,4	16:0–18:2–18:2	41
12,7	18:1–18:2–18:1	43
13,4	18:1–20:2–16:1	43
15,4	18:1–18:1–18:1	45

Kaip matyti iš pateiktų duomenų, trumpiausiai kolonėlėje išbūna trilinoleatas, kurio molekulė turi iš viso 54 anglies atomus (3 riebalų rūgščių radikalai turi po 18 anglies atomų ir glicerolio liekana, turinti 3 anglies atomus) ir 12 dvigubų jungčių. Triacilglicerolių, kurie turi vienodą pasiskirstymo skaičių, sulaikymo kolonėlėje laiką labiau apsprendžia dvigubų jungčių kiekis molekulėje. Jei molekulėje yra sočioji riebalų rūgštis, triacilglicerolis kolonėlėje sulaikomas ilgiau, jei yra rūgštys, kurių viena turi dvi dvigubas jungtis, o kita – tris, ilgiau kolonėlėje

užsilaikys triacilglicerolis, turintis mažiau dvigubų jungčių rūgštyse. Triacilglicerolių, turinčių vienodas *PS* reikšmes, sulaikymo kolonėlėje laikas skiriasi nežymiai. Bandymais nepavyko pasiekti kai kurių triacilglicerolių visiško selektyvaus pasiskirstymo kolonėlėje. Tokia kritinė pora buvo šie trigliceridai: 18:2–18:2–18:2 ir 18:1–18:2–18:3.

Nustačius optimalias triacilglicerolių identifikavimo metodo charakteristikas, nustatytos sėmenų ir burnočių triacilglicerolių kompozicijos (3 lentelė).

3 lentelė. **Kokybinis triacilglicerolių sudėties identifikavimas**

Aliejus	Identifikuotos trigliceridų kompozicijos, %			
	S ₃	S ₂ N	SN ₂	N ₃
Linų sėmenų	-	-	16:0–18:3–18:3; 16:0–18:2–18:3; 16:0–18:1–18:3	18:3–18:3–18:3; 18:2–18:3–18:3; 18:1–18:3–18:3; 18:1–18:1–18:3
Burnočių	-	-	16:0–18:2–18:2, 16:0–18:1–18:2	18:2–18:2–18:3; 18:2–18:2–18:2; 18:1–18:2–18:3; 18:1–18:2–18:2

Matyti, kad tirtame aliejuje labai skiriasi nustatytų trigliceridų kompozicijos. Antai rapsų aliejus (Gruzdienė, Bagdonaitė, 2003) išsiskiria trinesočiųjų (N₃) trigliceridų įvairove (identifikuotos net septynios kompozicijos), ir tai dar kartą patvirtina šio aliejaus unikalumą mitybos požiūriu. Jame pakankamai yra visų pagrindinių RR, todėl galima tokia triacilglicerolių įvairovė, ypač nesočiųjų. Burnočių aliejus, kaip ir sėmenų, turtingas dinesočiųjų triacilglicerolių. Jame vyrauja linolo riebalų rūgštis (C18:2), įeinanti tiek į dinesočiųjų, tiek į trinesočiųjų trigliceridų sudėtį.

Tokoferolių ir tokotrienolių izomerų kiekis. Identifikuoti tokoferolių ir tokotrienolių izomerai, nustatyta jų koncentracija aliejuje ir apskaičiuotas bendras jų kiekis. Tokoferolių (alfa, beta, gama, delta) ir tokotrienolių (alfa T3, gama T3, delta T3) izomerų sudėtis parodyta 4 lentelėje. Matome, kad kaip ir rapsų (Gruzdienė, Bagdonaitė, 2003) bei sėmenų aliejuje, pastarajame vyrauja tokoferoliai, o tokotrienolių randama tik nedideli kiekiai. Burnočių aliejus išsiskiria tuo, kad jame, skirtingai nei rapsų ar sėmenų aliejuje, kuriuose daugiausia randama gama TOC, vyrauja beta TOC, alfa TOC ir delta TOC, todėl jo maitininė vertė vitamino E atžvilgiu yra didesnė.

4 lentelė. Tokoferolių (TOC) ir tokotrienolių (T3) izomerų kiekis burnočių ir sėmenų aliejuje

Aliejus	Tokoferolių ir tokotrienolių izomerų kiekis, mg/kg							
	α -TOC	β -TOC	γ -TOC	δ -TOC	α -T3	γ -T3	δ -T3	Bedras kiekis
Burnočių ekstraktinis (<i>Amaranthus</i> spp.), 2004	147	436	77	314	13	21	12	1020
Burnočių ekstraktinis (<i>Amaranthus retr.</i>), 2004	231	539	92	226	24	-	-	1112
Burnočių šaltai spaustas (<i>Amaranthus</i> spp.), (2002)	179	351	69	282	27	-	-	908
Sėmenų šaltai spaustas (2002)	12	-	685	17	-	257		971

Tyrimų rezultatai rodo, kad pagal bendrąjį tokoferolių kiekį visus laurus nuskina 2004 metų burnočių aliejus. Veikiausiai, dėl karštos 2002 metų vasaros jame šiek tiek sumažėjo bendras tokoferolių, o kartu ir beta TOC koncentracija. Linams karšta vasara šiuo požiūriu nepakenkė – tokoferolių, o ypač tokotrienolių kiekis sėmenų aliejuje palyginti su vidutine verte ženkliai padidėjo.

Amaranthus retroflexus L. veislės burnočių sėklų aliejuje, palyginti su *Amaranthus* spp. ir sėmenų aliejumi, nustatytas gana didelis suminis tokoferolių ir tokotrienolių izomerų kiekis (1112 mg/kg), iš kurių didžiausia dalis tenka beta tokoferoliui (539 mg/kg) – ypač stipriam antioksidantui, o biologiškai aktyvaus alfa tokoferolio (vit. E) rasta 231 mg/kg. Aliejaus sudėtyje rastas ir nedidelis kiekis alfa T3 (24 mg/kg), kuris daug stipresnis antioksidantas nei tokoferoliai.

Sterolių idendifikavimas ir kiekybinis įvertinimas. Pirmiausia apskaičiuotas pataisos koeficientas pagal formulę: $R_f(\text{sterolių}) = [S_o(IS) * G_o(\text{sterolių})] / [S_o(\text{sterolių}) * G_o(IS)]$, čia: R_f – sterolių pataisos koeficientas; $S_o(IS)$ – standarto sritis (435,53375); S_o – sterolių sritis (451,56284); $G_o(IS)$ – betulinolo masė (100,2 mg); G_o – sterolių masė (101)mg;

$$R_f(\text{sterolių}) = (435,53375 * 101) / (451,56284 * 100,2) = 0,97 \%$$

Tyrimų rezultatai pateikti 5 lentelėje. Tyrimais nustatytas bendras, laisvųjų ir esterifikuotų sterolių kiekis. Matome, kad Lietuvoje užaugintų burnočių sėklų aliejuje vyrauja 4-dimetilsteroliai – spinasterolis ir beta sitosterolis (pėdsakai). Burnočių aliejuje beta sitosterolio palyginti su literatūroje pateiktais duomenimis rasta du kartus daugiau (22 proc.) (Leo, 1996; 2000).

Pagrindinė sterolių grupė burnočių aliejuje – 4-dimetilsteroliai. Šiai grupei priklauso spinasterolis ir beta sitosterolis. Identifikuoti ir kiti svarbūs steroliai: kampesterolis, stigmasterolis ir $\Delta 7$ -avenasterolis. Sterolių kiekis žaliajame aliejuje priklauso nuo sėklų veislės, auginimo sąlygų, išgavimo būdo. Be to, burnočių aliejuje rasta daug 4-metilsterolių. Identifikuojant buvo sunku juos išskirti, nes gramisterolis ir $\Delta 7$ -sitosterolis buvo vienoje smailėje. Aliejuje steroliai randami laisvi ir esterifikuotos formos. Burnočių aliejuje rasta daugiau esterifikuotų sterolių (74 proc.) nei laisvųjų (30 proc.), o sėmenų aliejuje esterifikuoti ir laisvieji steroliai pasiskirsto beveik proporcingai. Tyrimų rezultatai patvirtina anksčiau gautus (Leo, 1996; 2000).

5 lentelė. Esterifikuotų ir laisvųjų sterolių kiekis burnočių ir sėmenų aliejuje

Steroliai	Burnočių aliejus		Sėmenų aliejus	
	Esterifikuoti/ laisvieji steroliai	Σ , mg/100 mg	Esterifikuoti/ laisvieji steroliai	Σ , mg/100 mg
Dimetilsteroliai		1587,1		425,7
Kampesterolis	163,9 / 32,3	196,2	39,7 / 54,9	88,1
Stigmasterolis	49,7 / 10,1	59,8	- / 30,9	30,9
Stigmastanolis (pėdsakas)	39,5 / 8,2	47,7		-
24-metilen- $\Delta 7,24$ -cholestenolis	237,6 / 66,7	303,3		-
β -sitosterolis+ spinasterolis	486,8 / 240,5	727,3	129,5 / 112,5	248,0 + obtusifoliolu
$\Delta 5$ -avenasterolis	145,2 / 62,6	207,8	58,7 / -	58,7
4α-metilsteroliai		1035,1		9,1
Gramisterolis su $\Delta 7$ sitosteroliu	453,1 / 206,7	659,8	-	-
Citrostadienolis	311,3 / 64	375,3	9,1 -	9,1
4,4-dimetilsteroliai		254,1		468,7
β -amyrinas	154,7 / 60,7	215,4	-	-
Neatpažintas komponentas	31,2 / 7,5	38,7	-	-
Cikloartenolis			187,8 / 180,51	368,3
24-metilencikloartanolis			100,4 / -	100,4
Iš viso:	2073 / 716,2	2789,2	516,2 / 387,3	903,5

Suminis sterolių kiekis burnočių aliejuje beveik keturis kartus didesnis nei sėmenų, atitinkamai 2789,2 ir 903,5 mg/100 g. Pagrindinė sterolių grupė burnočių aliejuje yra dimetilsteroliai, o sėmenų - 4,4-dimetilsteroliai ir dime-tilsteroliai. Tiek burnočių, tiek sėmenų aliejuje rasta daugiau esterifikuotų sterolių nei laisvųjų, tačiau burnočių aliejuje nustatytas didesnis skirtumas tarp šių sterolių formų. Laisvieji steroliai yra stiprūs antioksidantai ir yra svarbūs cholesterolio kiekiui žmogaus organizme reguliuoti.

Skvaleno nustatymas. Labai svarbus komponentas burnočių sėklose ir aliejuje yra skvalenas, kurio kiekis ženkliai skiriasi nuo kitų rūšių aliejaus. Žinoma (Nenadis, Isimidou, 2002), kad natūralaus antioksidanto skvaleno koncentracija aliejuje yra nuo 50 iki 60 g/kg. Nustatyta, kad burnočių aliejuje skvaleno koncentracija siekia net 9,98 g/100 g ir yra beveik dukart didesnė, nei nurodyta literatūros šaltiniuose.

Skvaleno frakcija iš aliejaus išskirta iššaldžius triacilglicerolius ir juos atskyrus. Skvaleno frakcijos kiekis nustatytas efektyviosios skysčių chromatografijos metodu; kaip natūralus antioksidantas grynas skvalenas panaudotas oksidacijos kinetikos tyrimams, stabilizuojant sėmenų aliejų. 2002 metų derliaus burnočio sėklų aliejuje rasta net 15 g/100g skvaleno; matyt, lėmė karšta vasara.

Burnočių ekstraktų priedų antioksidacinio efektyvumo įvertinimas *Oven* testu 40°C temperatūros sėmenų aliejuje. Tiriant šalta spausto sėmenų aliejaus patvarumą oksidacijai *Oven* testu naudoti etanoliniai ir acetoniniai burnočių ekstraktai, išskirta grynojo skvaleno frakcija.

Tyrimams paruošti tokie bandiniai:

1. Kontrolė (tuščias bandinys) – sėmenų aliejus be priedų;
2. BE 0,1 proc. – sėmenų aliejus + burnočių sėklų etanolinis ekstraktas 0,1 proc.;
3. BE 0,15 proc. – sėmenų aliejus + burnočių sėklų etanolinis ekstraktas 0,15 proc.;
4. BA 0,1 proc. – sėmenų aliejus + burnočių sėklų acetoninis ekstraktas 0,1 proc.;
5. BA 0,15 proc. – sėmenų aliejus + burnočių sėklų acetoninis ekstraktas 0,15 proc.;
6. Sk 0,05 proc. – sėmenų aliejus + skvaleno frakcija 0,05 proc.;
7. Sk 0,1 proc. – sėmenų aliejus + skvaleno frakcija 0,1 proc.;

Tyrimams naudotas geros kokybės šalta spaustas sėmenų aliejus (PS = 0,44 mekv/kg). Masės priaugio duomenų standartinis nuokrypis visais atvejais neviršijo 0,02 proc.

Bandiniai laikyti 40°C temperatūroje 31 parą, sverti kiekvieną dieną. Tyrimų rezultatai pateikti 6 lentelėje.

Oksidacijos kinetikos kreivės (neparodyta) parodė, kad šalta spausto sėmenų aliejaus (be priedų) oksidacijos greitis suintensyvėjo praėjus 21 parai. Lėtą oksidaciją lėmė aliejuje esantis azotas ir biologiškai aktyvios medžiagos.

Pagal bandinių oksidacijos kinetikos kreives nustatytas sėmenų aliejaus bandinių indukcinis periodas (IP) su ekstraktų priedais ir be jų. Esant bandinių masės priaug-

giui 0,06 proc., apskaičiuotas sėmenų aliejaus stabilumo koeficientas (SK) (6 lentelė).

6 lentelė. **Burnočių ekstraktų priedų antioksidacinio efektyvumo charakteristikos sėmenų aliejuje 40°C temperatūroje, kai masės priaugis 0,06 proc.**

Bandinys	IP, paromis	SK (IP _{Ekst} /IP _K)
Kontrolė	20	1
BE 0,1%	24	1,20
BE 0,15%	34	1,7
BA 0,1%	28	1,40
BA 0,15%	30	1,50
Sk 0,05%	26	1,30
Sk 0,1%	27	1,35

Tyrimų rezultatai rodo, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu stabilizuojant sėmenų aliejų pasižymėjo etanolinis (BE 0,15 proc.) burnočių ekstrakto priedas – sėmenų aliejaus stabilumą, laikant bandinius 40°C temperatūroje, padidino 1,7 karto. Šiek tiek mažesni antioksidacinį efektyvumą parodė BA 0,15 proc. priedas – 1,5 karto, o BE 0,1 proc., Sk 0,1 proc., BA 0,15 proc. ir Sk 0,05 proc. priedai palyginti, su kontrole, nors ir nežymiai, tačiau sulėtino agresyvaus linoleninio sėmenų aliejaus oksidaciją. Prooksidacinių reiškinių nepastebėta. Galima teigti, kad didesnės BE ir BA ekstraktų priedų koncentracijos efektyviau padidintų sėmenų aliejaus patvarumą (6 lentelė.).

Nors burnočių sėklos ir išsiskiria dideliu skvaleno kiekiu (Leo, 2000), tirtų ekstraktų antioksidacinis poveikis sėmenų aliejuje palyginti nedidelis. Matyt, tą lėmė ne tik per mažos koncentracijos, bet ir įvairių komponentų, natūraliai esančių burnočių aliejuje, sumažėjęs sinergizmas. Palyginus su anksčiau mūsų katedroje atliktais tyrimais (Gruzdienė, Bagdonaitė, 2003), burnočių sėklų aliejinių ekstraktų ir burnočių aliejaus (15 proc.) priedai, tiriant tiek rapsų aliejaus, tiek emulsijų stabilumą, parodė gana didelį antioksidacinį poveikį, prilygstantį gerai žinomų stumbrazolių acetoninių ekstraktų stabilumui. Sėmenų aliejus šiuo atžvilgiu yra išskirtinis, kaip alfa linoleno riebalų rūgšties pagrindinis šaltinis, tačiau jis yra greitai gendantis, nestabilus oksidacijos atžvilgiu aliejus, todėl gauti teigiami rezultatai teikia vilčių, plečiant burnočio sėklų ir aliejaus panaudojimą maisto reikmėms.

Išvados.

Burnočių aliejuje, kaip ir sėmenų, vyrauja nesočiosios riebalų rūgštys, atitinkamai 80,41 proc. ir 89,32 proc., tačiau skiriasi jų kompozicija. Sėmenų aliejus yra vienas iš pagrindinių alfa linoleno (~ 60 proc.) riebalų rūgšties šaltinių, o burnočių – linolo (~ 50 proc.).

Burnočių aliejuje daugiau nei sėmenų aliejuje yra sočiųjų RR, atitinkamai 21,54 proc. ir 10 proc.

Burnočių aliejuje tokoferolių ir tokotrienolių (1112 mg/kg) daugiau nei sėmenų aliejuje, tačiau priešingai nei sėmenų (iki 573,5 mg/kg gama tokoferolio), jame vyrauja biologiškai aktyvūs alfa ir beta tokoferolių izomerai, atitinkamai 178–231 mg/kg ir 651,23 mg/kg.

Burnočių aliejus, palyginti su kitais, išsiskyrė labai di-

deliu natūralaus antioksidanto skvaleno kiekiu (~ 9,98 g/100 g).

Suminis sterolių kiekis burnočių aliejuje beveik keturis kartus didesnis nei sėmenų, atitinkamai, 2789,2 ir 903,5 mg/100g; pagrindinė sterolių grupė – dimetilsteroliai, o sėmenų – 4,4-dimetilsteroliai ir dimetilsteroliai.

Nustatyta, kad didžiausiu antioksidaciniu efektyvumu, lėtinant sėmenų aliejaus oksidaciją, pasižymėjo burnočių sėklų etanolinis ir acetoninis ekstraktai (BE 0,15 proc. ir BA 0,15 proc.), o kiti ekstraktai bei skvaleno frakcija nežymiai stabilizavo oksidacijos atžvilgiu agresyvių sėmenų aliejų.

Lietuvoje užaugintų burnočių ir sėmenų aliejaus cheminė sudėtis priklauso nuo klimatinių sąlygų, ekstrakcijos metodo bei aliejinių grūdų ir sėmenų veislės ir, palyginti su vidutinėmis literatūroje pateiktomis normomis, išsiskiria didesniu biologiškai aktyvių medžiagų kiekiu (linolo RR, tokoferoliai, tokotrienoliai, steroliai, skvalenas); matyt, švelnus Lietuvos klimatas tinkamas šiems augalams kultivuoti.

Literatūra

1. Abidi S. L., Chromatographic Analysis of Plant Sterols in Food Andvegetable Oils. *J. Chromatogr. A.* 935. 2001. P. 173–201.
2. Becker R. Preparation, Composition, and Nutritional Implications of Amaranth seed oil. *Cereal Foods World.* 1989. Vol. 34. No.11. P. 950–953.
3. Budin John T., William M. Breene, and Daniel H Putman. Some Compositional Properties of Seeds and Oils of Eight Amaranthus Species. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1996. Vol 73. No 4. P. 475–481.
4. Gruzdienė D., Bagdonaitė K. Lietuvoje auginami tradiciniai ir netradiciniai aliejiniai augalai: sėklų ir aliejaus cheminė sudėtis ir savybės. Antroji Lietuvos–Vokietijos aliejinių augalų diena. Tarptautinė mokslinė-gamybinė konferencija, straipsnių rinkinys. Kaunas. 2003. P. 31–37.
5. Kazernavičiūtė R., Gruzdienė D., Venskutonis P. R. Augalinių riebalų bei jų mišinių stabilumas aukštoje temperatūroje. *Maiso chemija ir technologija*, ISSN 1392-0227, Kaunas, 2002. T 36. P. 33–43.
6. Kazernavičiūtė R., Gruzdienė D., Venskutonis P. R., Murkovic M. Augalų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo ir sinergizmo tyrimai rancimato metodu aliejuje. *Cheminė technologija*, ISSN 1392-1231, Kaunas, 2002. Nr. 2 (19). P. 84–88.
7. Leo M. L. Nollet. *Handbook of Food Analysis.* USA, 1996. T 1. P. 348.
8. Leo M. L. Nollet. *Food Analysis by HPLC*, second publication, JAV, 2000. 250 p.
9. Manuel Leon-Camacho, Diego L. Garcia-Gonzales, Ramon Aparicio. A Detailed and Comprehensive Study of Amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) Oil Fatty Profile. *Eur Food Technol.* 2001. 213. P. 34–355;
10. Moreda W., Perez-Camino M. C., Cert A. Gas and Liquid Chromatography of Hydrocarbons in Edible Vegetable Oils. *J. of Chromatography.* 2001. Vol. 936. 1-2. P. 159–171;
11. Nenadis N., Tsimidou M. Determination of Squalene in Olive Oil Using Fractional Crystallization for Sample Preparation. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2002. 79 (3). P. 257-259;
12. Ologunde M. O., Ayorinde F. O., Shepard R. L., Afolabi O. A. and Oke O. L. Sterols of Seed Oils of *Vernonia galamensis*,

Amaranthus cruentus, *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus hybridus* and *Amaranthus hypochondriacus* Grown in the Humid Tropics. *Journal Science food Agriculture.* 1992. 58. P. 221-225;

13. Pocklington W. D., Dieffenbacher A. Determination of Tocopherols and Tocotrienols in vegetable oils and fats by HPLC. *Pure and Appl. Chem.* 1988. 60 (6). P. 877–892.
14. Pokorny J. Stabilisation of Fats by Phenolic. *Food Technology Journal*, 1981. No. 4. P. 68.
15. Pokorny J., Nquyen H. T. T. and Korczak J. Antioxidant Activities of Rosemary and Sage Extracts in Sunflower Oil. *Nahrung*, 1997. No. 41. P. 176–177.
16. Trojakova L., Reblova Z., Pokorny J. Determination of the Oxidative Stability of Fats and Oils Using the Oxipres Apparatus. *Czech J. Food Sci.* 1999. Vol. 17. No. 2. P. 68–72.
17. Verleyen T., Forcades M., Verhe R., Dewettinck K., Huyghebaert A., De Greyt D. Analysis of Free and Esterified Sterols in Vegetable Oils. *JAOCs.* 2002. 79 (2). P. 117–122.

Gauta 2007 03 12