

Analýza sterolov v sójových odtučnených múkach a proteínových prípravkoch plynovou chromatografiou

TOMÁŠ KUČHTA - PAVEL FARKAŠ - CSILLA LÉKAOVÁ - RÓBERT KUBINEC

SÚHRN. Vypracovala sa metóda izolácie a plynovochromatografickej analýzy charakteristických rastlinných sterolov vo vybraných sójových odtučnených múkach, proteínových koncentrátoch, funkčných proteínových koncentrátoch a proteínových izolátoch. V analyzovaných sójových prípravkoch bol identifikovaný a stanovený sitosterol ($5,0\text{--}53,7 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), stigmasterol ($1,9\text{--}10,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a kampesterol ($2,5\text{--}10,2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Sója a rôzne druhy potravín z nej vyrobené sa stávajú neoddeliteľnou súčasťou výživy moderného človeka.

V posledných rokoch sa zvyšuje výroba a spotreba nových výrobkov zo sóje, proteínových koncentrátov, funkčných proteínových koncentrátov a proteínových izolátov. Tieto predstavujú relatívne lacný a pritom veľmi hodnotný zdroj aminokyselín. Zloženie a vlastnosti týchto proteínových prípravkov sú technologicky upravené tak, aby ich bolo možné používať ako náhradu časti mäsa v mäsových výrobkoch, ako sú párky, salámy a pod. [1].

Napriek tomu, že všetky uvedené sójové prípravky sa vyrábajú z odtučnenej suroviny, obsahujú zvyšky sterolov, ktoré prešli v malých množstvách technologickým procesom a ich zloženie je charakteristické pre danú rastlinnú surovinu. V predkladanej práci sme sa zamerali na vypracovanie analytickej metódy, ktorá by umožňovala identifikáciu a stanovenie sterolov v odtučnenej sójovej múke a v rôznych druhoch proteínových prípravkov.

RNDr. Tomáš Kuchta, CSc., RNDr. Pavel Farkaš, CSc., Mgr. Csilla Lékaová, Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, 820 06 Bratislava.

RNDr. Róbert Kubinec, Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Mlynská dolina CH-2, 842 15 Bratislava.

Materiál a metódy

Analyzované vzorky sójových odtučnených múk a proteínových prípravkov prehľadne uvádza Tabuľka 1.

TABUĽKA 1. Prehľad analyzovaných sójových odtučnených múk a proteínových prípravkov.
TABLE 1. A list of the analyzed soy defatted flours and protein products.

Sójový prípravok ¹	Druh prípravku ²	Výrobca ³
Solčanka	odtučnená múka ⁴	Solčanka, Solčany, SR
Nutrisoy	odtučnená múka	ADM, Decatur, Illinois, USA
Danpro HV	proteínový koncentrát ⁵	Central Soya, Aarhus, Dánsko
Arcon S	proteínový koncentrát	ADM, Decatur, Illinois, USA
Danpro DS	funkčný proteínový koncentrát ⁶	Central Soya, Aarhus, Dánsko
Profam	proteínový izolát ⁷	ADM, Decatur, Illinois, USA

1 - soy product, 2 - product type, 3 - producer, 4 - defatted flour, 5 - protein concentrate, 6 - functional protein concentrate, 7 - protein isolate.

Na izoláciu sterolov zo sójových prípravkov sa použil modifikovaný pôvodný postup [2]. Lipidy sa z 1-5 g vzorky extrahovali chloroformom (p.a. Lachema, Brno, ČR) v pomere 10 ml na 1 g vzorky počas 30 min pri laboratórnej teplote. Prefiltrovaný extrakt sa odparil v rotačnej vákuovej odparke a odparok zmydelnil prídavkom 20 ml 15%-ného metanolického roztoku KOH a inkubáciou pri 73 °C počas 30 min. Nezmydeliteľný lipidický podiel sa extrahoval hexánom (p.a., Lachema, Brno, ČR) a rozpúšťadlo sa odparilo v rotačnej vákuovej odparke. Odparok sa rozpustil v 1 ml dichlórmetánu (LabScan, Dublin, Írsko) a naniesol na kolónku silikagélu (Silica-Cart, Tessek, Praha, ČR) [3]. Kolónka sa premyla 7 ml cyklohexánu (p.a., Mikrochem, Bratislava) a steroly sa eluovali 7 ml dichlórmetánu. Rozpúšťadlo sa odparilo v rotačnej vákuovej odparke a odparok sa rozpustil v 0,5 ml chloroformu.

Izolované steroly sa identifikovali s využitím individuálnych referenčných materiálov (sitosterol, Merck; stigmasterol, Sigma) a hmotnostnej spektrometrie. Hmotnostné spektrá sterolov sa namerali po ich separácii plynovou chromatografiou. Použil sa prístroj Hewlett Packard 5890 Series II s priamo pripojeným hmotnostne selektívnym detektorom HP 5971A (Hewlett Packard). Teplota iónového zdroja detektora bola 170 °C a energia ionizujúcich elektrónov 70 eV.

Obsah sterolov vo vzorkách sa stanovil plynovou chromatografickou metódou vnútorného štandardu, ktorým bol cholesterol (puriss., Fluka).

Použil sa prístroj Hewlett Packard 5890 s plameňovým ionizačným detektorom a kolónou HP-5 (Hewlett Packard) 30 m x 0,32 mm x 0,25 μm s nosným plynom vodíkom. Teplota kolóny bola programovaná od 70 °C (2 min) s gradientom 30 °C.min⁻¹ do 290 °C (10 min). Vzorky o objeme 1 ml sa dávkovali na kolónu deličovou metódou pri deliacom pomere nosného plynu 1 : 20 a teplote 300 °C. Teplota detektora bola 300 °C. Identita analyzovaných sterolov sa potvrdila MS spektroskopiou. Namerané hodnoty retenčných pomerov analyzovaných sterolov vzhľadom k cholesterolu sú uvedené v tabuľke 2.

TABULKA 2. Retenčné pomery sterolov na kolóne HP-5.
TABLE 2. Retention ratios of sterols on a HP-5 column.

Sterol	r _{1,2}
Cholesterol	1,00
Kampesterol	1,07
Stigmasterol	1,10
Sitosterol	1,14

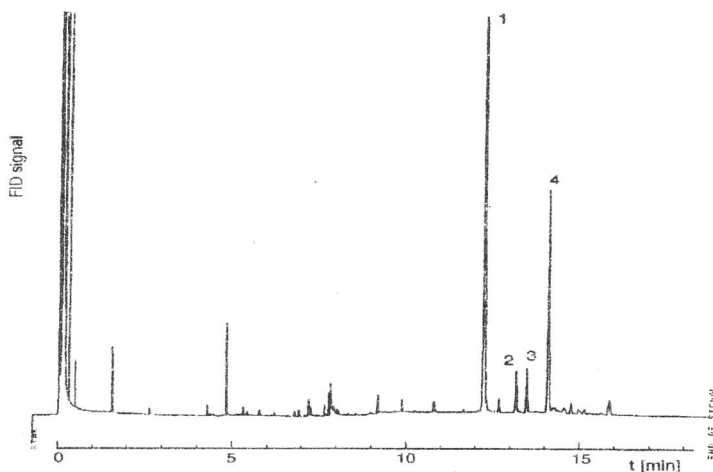
Výsledky a diskusia

Analyzovali sa sójové odtučnené múky a proteínové prípravky so zámerom identifikovať a stanoviť v nich charakteristické steroly. Do práce sa zaradili prípravky s rôznym stupňom technologického spracovania, u ktorých sa dal očakávať rôzny obsah sterolov ako dôsledok rôznej miery odtučnenia. Na základe našich doterajších skúseností [2,4] sa steroly analyzovali plynovou chromatografiou priamo, t.j. bez derivatizácie. Ako interný štandard sa použil cholesterol, ktorý sa v sóji nevyskytuje. Chromatogram plynovochromatografickej separácie sterolov v odtučnenej múke Solčanka je na obr. 1.

V analyzovaných sójových prípravkoch sa identifikovali a stanovili sitosterol, stigmasterol a kampesterol (obr. 2.), pričom dominantným sterolom vo všetkých vzorkách bol sitosterol. Tieto výsledky sú v súlade s publikovanými údajmi [5]. Najvyšší obsah sterolov sa zistil v odtučnenej múke Solčanka (tab. 3.).

Ako vyplýva zo získaných výsledkov, sójové odtučnené múky a proteínové prípravky obsahujú charakteristické rastlinné steroly v obsahoch 1,9 až 53,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Vypracovaná analytická metóda sa využije pri hodnotení prídavku sójových proteínových prípravkov do mäsových výrobkov.

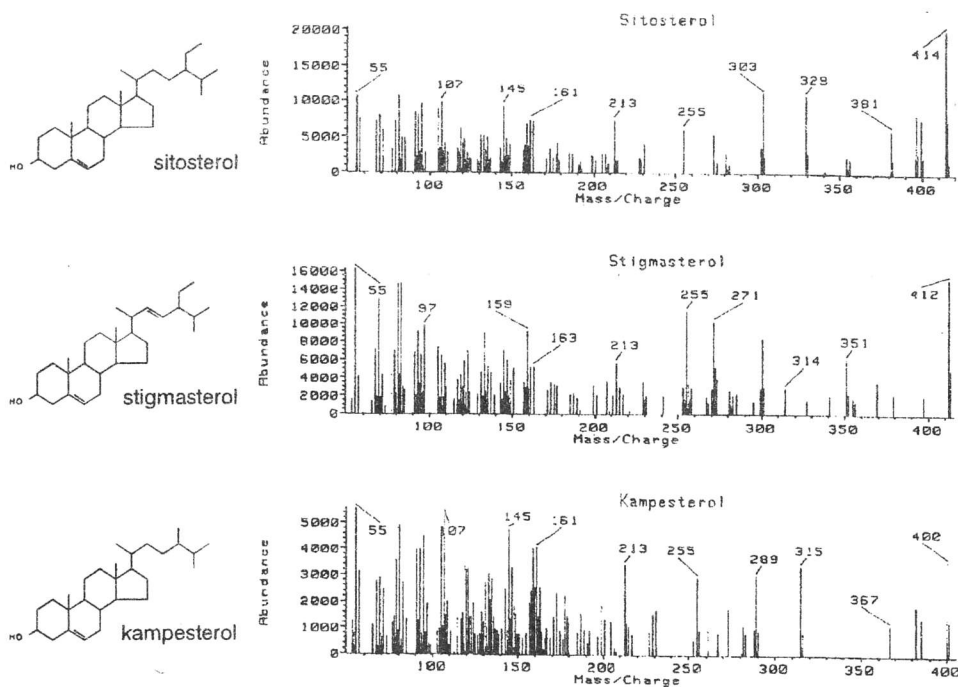


OBR. 1. Charakteristický chromatogram separácie sterolov z odtučnenej múky Solčanka.

1 - cholesterol, interný štandard, 2 - campesterol, 3 - stigmasterol, 4 - sitosterol.

FIG. 1. A characteristic chromatographic analysis of sterols in Solčanka defatted flour.

1 - cholesterol, internal standard, 2 - campesterol, 3 - stigmasterol, 4 - sitosterol.



OBR. 2. Štruktúrne vzorce a hmotnostné spektrá sterolov sóje.

FIG. 2. Structures and mass spectra of soy sterols.

Tabuľka 3. Obsah sterolov v sójových odtučnených múkach a proteínových prípravkoch.
TABLE 3. Contents of sterols in soy defatted flours and protein products.

Sójový prípravok ¹	Obsah \pm SEM ² , n = 3 [$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$]		
	sitosterol	stigmasterol	kampesterol
Solčanka	53,7 \pm 2,8	10,5 \pm 0,6	10,2 \pm 0,5
Nutrisoy	24,8 \pm 0,4	4,1 \pm 0,1	5,0 \pm 0,1
Danpro HV	19,0 \pm 0,5	2,4 \pm 0,2	7,0 \pm 0,4
Danpro DS	25,4 \pm 0,3	5,1 \pm 0,1	10,2 \pm 0,2
Arcon S	5,0 \pm 0,1	1,9 \pm 0,1	2,8 \pm 0,6
Profam	5,6 \pm 0,2	2,2 \pm 0,1	2,5 \pm 0,1

SEM - štandardná odchýlka aritmetického priemeru.

1 - soy product, 2 - contents \pm SEM (standard error of the mean).

Literatúra

1. CENTRAL SOYA PROTEIN GROUP, Fort Wayne: The protein book - A guide to soya proteins. 1993. 16 s.
2. KUČHTA, T. - BARTKOVÁ, K. - KUBINEC, R.: Ergosterol depletion and 4-methyl sterols accumulation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* treated with an antifungal, 6-amino-2-n-pentylthiobenzothiazole. Biochem. biophys. res. Commun., 189, 1992, č. 1, s. 85-91.
3. BELLO, A. C.: Rapid isolation of the sterol fraction in edible oils using a silica cartridge. J. AOAC Int., 75, 1992, č. 6, s. 1120-1123.
4. KUČHTA, T. - LÉKAOVÁ, C. - FARKAŠ, P. - BUJDÁKOVÁ, H. - BELAJOVÁ, E. - RUSSELL, N. J.: Inhibition of sterol 4-demethylation in *Candida albicans* by 6-amino-2-n-pentylthiobenzothiazole, a novel mechanism of action for an antifungal agent. Antimicrob. Agents Chemother., 39, 1995, č. 7, s. 1538-1541.
5. FREGA, N. - BOCCI, F. - GIOVANNONI, G. - LERCKER, G.: High resolution GC of unsaponifiable matter and sterol fraction in vegetable oils. Chromatographia, 36, 1993, s. 215-217.

Do redakcie došlo 12.9.1996.

Analysis of sterols in soy defatted flours and protein products by gas chromatography

TOMÁŠ KUČHTA - PAVEL FARKAŠ - CSILLA LÉKAOVÁ - RÓBERT KUBINEC

A method for isolation and gas-chromatographic analysis of characteristic plant sterols in selected soy defatted flours, protein concentrates, functional protein concentrates and protein isolates was elaborated. In the soy products analyzed, sitosterol (5,0 - 53,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), stigmasterol (1,9 - 10,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) and campesterol (2,5 - 10,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) were identified and determined.