

**Григорій ДЕЙНИЧЕНКО,  
Дмитро КРАМАРЕНКО,  
Ірина ГАЛЯПА**

## **ВПЛИВ МАСЛЯНОГО ЕКСТРАКТУ БІОМАСИ *H. PLUVIALIS* НА ОКИСНЕННЯ РОСЛИННИХ ОЛІЙ**

*Наведено результати дослідження антиоксидантних властивостей масляного екстракту біомаси зрілих апланоспор *H. pluvialis*, що є джерелом каротиноїду астаксантину. Визначено період індукції при окисненні соняшникової олії та значення константи обриву ланцюгів, які свідчать про ефективність використання екстракту біомаси *H. pluvialis* як інгібітора окиснювальних процесів.*

*Ключові слова:* окиснення ліпідів, інгібітори окиснення, біомаса зрілих апланоспор *H. pluvialis*, астаксантин.

*Дейниченко Г., Крамаренко Д., Галяпа И. Влияние масляного экстракта биомассы *H. pluvialis* на окисление растительных масел. Представлены результаты исследования антиоксидантных свойств масляного экстракта биомассы зрелых апланоспор *H. pluvialis*, который является источником каротиноида астаксантина. Определены период индукции при окислении подсолнечного масла и значение константы обрыва цепей, свидетельствующие об эффективности использования экстракта биомассы *H. pluvialis* в качестве ингибитора окислительных процессов.*

*Ключевые слова:* окисление липидов, ингибиторы окисления, биомасса зрелых апланоспор *H. pluvialis*, астаксантин.

**Постановка проблеми.** Окиснення харчових жирів – шкідливий процес, що призводить до їх непридатності для харчового застосування. Сучасна технологія переробки рослинних олій передбачає проведення повного циклу рафінації, під час якої з них вилучається частка природних речовин, зокрема антиоксидантів, що сприяє інтенсивному окисненню цих олій [1].

---

© Григорій Дейниченко, Дмитро Крамаренко, Ірина Галяпа, 2013

Серед пріоритетних напрямків наукових досліджень у галузі харчової промисловості та виробництва продуктів ресторанного господарства одним із найважливіших є вирішення проблеми зменшення ступеня окиснення олій та жирів і забезпечення екологічної чистоти продукту. Одним із простих і ефективних прийомів гальмування окиснювального псування жирів (особливо при зберіганні) є додавання антиоксидантів, серед яких універсальних, тобто однаково ефективних для будь-яких жирів, немає. Ось чому вибір їх доцільно проводити експериментальним шляхом, визначаючи ефективність за величиною періоду індукції окиснювальних перетворень системи *жир – антиоксидант*.

Над проблемою гальмування процесів окиснення рослинних олій із застосуванням антиоксидантів працювало багато науковців. Так, І. Демидовим проведено експериментальні дослідження антиоксидантної активності олійних екстрактів різних рослин, а також вплив токоферолу на їхню ефективність [2]. В. О. Афанасьєва запропонувала використання антиоксидантних фітодобавок із натуральних прянощів у рецептурах майонезу [3]. М. В. Камсулина розробила технологію рослинної олії, збагаченої каротиноїдами моркви, як джерела антиоксидантів [4].

Хоча дослідники й приділяють увагу проблемі захисту жирів від окиснювального псування, це питання далеке від свого повного вирішення.

Дія інгібіторів окиснення (антиоксидантів) проявляється у збільшенні індукційного періоду та зниженні швидкості окиснення. Залежно від походження розрізняють інгібітори природні та синтетичні [5–7]. Рослинні антиоксиданти, згідно з вимогами МОЗ України, мають бути нетоксичними, доступними й рекомендуватися для стабілізації харчових олій. Деякі рослинні антиоксиданти, порівняно із синтетичними, не тільки безпечні для вживання, а й підвищують біологічну та фізіологічну цінність стабілізованих продуктів. Не зважаючи на переваги, сьогодні на практиці дуже рідко застосовуються рослинні антиоксиданти, особливо жиророзчинні. Саме тому актуальним є дослідження впливу рослинних антиоксидантів, зокрема каротиноїдів, на процес окиснення жирів з метою розробки науково-обґрунтованих технологічних заходів щодо їхнього використання.

*Мета статті* – дослідження антиоксидантних властивостей кетокаротиноїду атаксантину в складі масляного екстракту з біомаси *Haematococcus pluvialis*.

**Матеріали та методи.** Проведено дослідження антиоксидантних властивостей масляного екстракту біомаси зрілих апланоспор *H. pluvialis*, що є джерелом каротиноїду атаксантину. Екстракт надано Інститутом біології південних морів ім. О. О. Ковалевського НАН України [8; 9].

Атаксантин (3,3'-дигідрокси-4, 4'-дикето- $\beta$ -каротин) – окиснене похідне  $\beta$ -каротину, що містить у кожному з іононових циклів гідрокси- та кетогрупу в орто-положенні один до одного, що визначає його підвищену антиоксидантну активність. Результати останніх клінічних випробувань,

проведених у багатьох країнах, підтверджують, що астаксантин на сьогодні є одним з найактивніших природних антиоксидантів [10; 11].

Досліджено властивості масляного екстракту зрілих апланоспор *H. phuvialis* як антиоксиданту другої групи. Останні є одними з важливих і ефективних для запобігання псуванню харчових продуктів через інгібування процесу окиснення жирів у присутності кисню повітря. Аналіз вмісту антиоксидантів масляного екстракту зрілих апланоспор *H. phuvialis* (при потребі в перерахунку на токоферол) проведено за методикою, яка полягає у розрахунку залежності кількості поглиненого кисню від часу в процесі ініційованого окиснення жиру (олії) при підвищеній температурі [12]. Користуючись цією методикою, певну кількість інгібітора додавали до кумулу й проводили окиснення на волюметричній установці при різних концентраціях ініціатора (азоізо-бутіронітрил – АІБН).

**Результати дослідження.** Концентрацію антиоксидантів (моль/дм<sup>3</sup>) розраховано за формулою:

$$[InH] = \frac{1 \cdot [AIBH] \cdot (1 - e^{-K_i \cdot \tau})}{f} = 0.48 \cdot [AIBH] \cdot (1 - 0.9999^\tau), \quad (1)$$

де  $[AIBH]$  – початкова концентрація ініціатора, моль/дм<sup>3</sup>;

$K_i$  – константа швидкості розпаду ініціатора, що вираховується за формулою:  $K_i = \lg A - E / \Theta$ ,

де  $A$  – константа = 15.00;  $E$  – енергія активації реакції = 30.45 ккал/моль;

$\Theta$  – приведена температура =  $4.575 \cdot T / 1000$ ;

$T$  – температура, К;

$1/f = 0.48 - (1 - \text{вихід радикалів при розпаді однієї молекули ініціатора})$ ;

$f$  – коефіцієнт інгібування, який дорівнює числу ланцюгів, що обриваються однією молекулою антиоксиданту);

$\tau$  – експериментально визначений період індукції, с.

При розрахунку концентрації антиоксидантів у формулу (1) підставлено використану в експерименті й розраховану молярну концентрацію ініціатора та експериментально визначений період індукції. Повторюваність дослідів – п'ятикратна.

За залежністю швидкості окиснення жиру (олії) від швидкості ініціювання окиснення можна визначити характер окиснення речовини. У присутності інгібіторів ця залежність описується рівнянням:

$$V_{O_2} = \frac{k_2 \cdot [RH]}{k_7 \cdot f \cdot n \cdot [InH]} V_i, \quad (2)$$

де  $V_{O_2}$  – швидкість окиснення,  $10^{-7}$  моль/(дм<sup>3</sup> · с);

$V_i$  – швидкість ініціювання окиснення,  $10^{-7}$  моль/( дм<sup>3</sup> · с);

$k_7$  та  $k_2$  – константи швидкості обриву та зародження ланцюгів, дм<sup>3</sup>/(моль·с);

$f$  – коефіцієнт інгібування, який дорівнює числу ланцюгів, що обриваються однією молекулою антиоксиданту;

$[InH]$  – концентрація антиоксидантів, моль/дм<sup>3</sup>.

Якщо природа інгібітора невідома (як у нашому випадку), то його концентрацію визначають у перерахунку на певний відомий (наприклад, токоферол). У цьому випадку, якщо проводити окиснення речовини з різними швидкостями ініціювання, а потім будувати графік в координатах  $V_{O_2} - V_i$ , і при цьому експериментальні точки утворюватимуть пряму лінію, то це свідчатиме про наявність інгібіторів у системі.

Попередньо проведено модельні досліді на кумолі, у подальшому – із окисненням соняшникової олії.

На кумолі проведено чотири досліді (таблиця) залежно від концентрації ініціатора та швидкості окиснення при температурі 69 °С. Перед додаванням до реактора екстракт розчинено в ксилолі при співвідношенні 1 : 3, вміст чистого масляного екстракту в об'ємі реагуючої суміші дорівнював 1.34 %.

#### Характеристика умов проведення дослідів на кумолі

| Номер досліді | Концентрація, см <sup>3</sup> |                       |        |         | Швидкість окиснення ( $V$ ), моль/(дм <sup>3</sup> · с) |
|---------------|-------------------------------|-----------------------|--------|---------|---|
|               | <i>АІВН</i>                   | екстракту розчиненого | кумолу | ксилолу |   |
| 1             | 0.1                           | 0.2                   | 3.0    | 1.7     | $1.83 \cdot 10^{-7}$                                    |
| 2             | 0.2                           | 0.2                   | 3.0    | 1.6     | $5.79 \cdot 10^{-7}$                                    |
| 3             | 0.3                           | 0.2                   | 3.0    | 1.5     | $7.326 \cdot 10^{-7}$                                   |
| 4             | 0.4                           | 0.2                   | 3.0    | 1.4     | $11.01 \cdot 10^{-7}$                                   |

Для побудови графіка в координатах  $O_2 \cdot 2.97 \cdot 10^{-7}$  моль –  $t \cdot 60$  с прийнято середнє арифметичне значення за результатами трьох експериментів. Графіки залежності поглинання кисню від часу наведено на рис. 1.

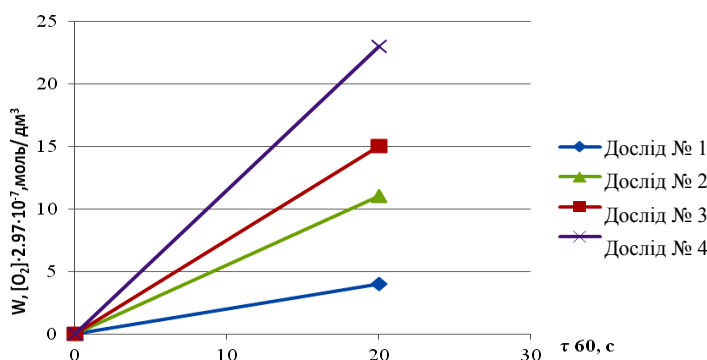
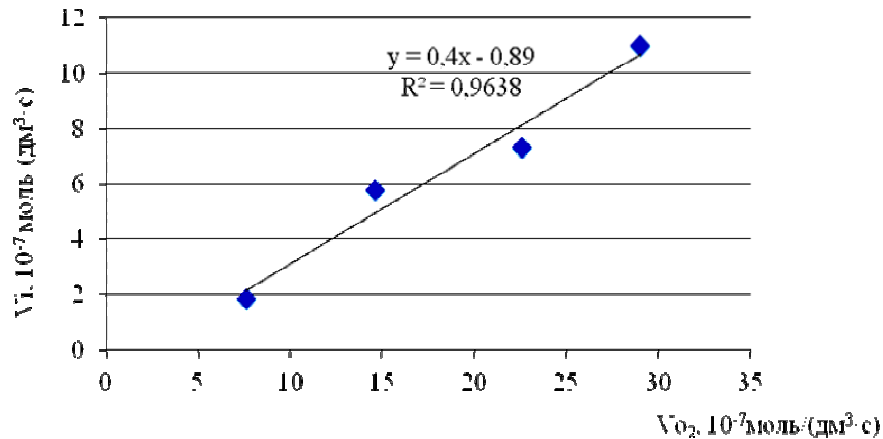


Рис. 1. Залежність кількості поглиненого кисню розчином кумолу від часу реакції окиснення

За отриманими експериментальними даними розраховано швидкість окиснення розчину кумолу при різних швидкостях ініціювання. Графік залежності цих величин наведено на *рис. 2*. Пряма вказує на пропорційний характер залежності, що притаманно системі з лінійним обривом ланцюгів, тобто практично усі вільні радикали "гинуть" на молекулах інгібітора, а значить, масляний екстракт біомаси *H. pluvialis* проявляє себе як інгібітор окиснювальних процесів.



*Рис. 2.* Залежність  $V_{O_2} - V_i$  для розчину масляного екстракту біомаси *H. pluvialis* в кумолі

За даними (див. *рис. 2*) вираховано величину  $k_2 \cdot [RH] / k_7 \cdot f \cdot n \cdot [InH]$ , що дорівнює 0.400. Далі, знаючи  $k_2$  для кумолу (довідкові дані), яка при 69 °С дорівнює 2.35  $\text{дм}^3 \cdot \text{с} / \text{моль}$ , а  $[RH] = 5.3 \text{ моль} / \text{дм}^3$ , розраховано величину  $k_7 \cdot f \cdot n \cdot [InH]$ , яка дорівнює  $\sim 31.14 \text{ с}$ .

На наступному етапі роботи перевірено вплив екстракту біомаси *H. pluvialis* на окиснення соняшникової олії, яке проведено на волюметричній установці. Для окиснення в реактор поміщено олію соняшникову, ініціатор (АІВН), інгібітор і розчинник.

Спочатку проведено окиснення соняшникової олії в режимі ініційованого окиснення без добавок інгібіторів. Потім визначено період індукції розчину масляного екстракту біомаси *H. pluvialis* у соняшниковій олії. Графік залежності поглинання кисню зразком соняшникової олії від часу наведено на *рис. 3*.

Період індукції при окисненні соняшникової олії без додавання інгібітора становив 2040 с, сумісно з інгібітором – 74 хв (4440 с). Різниця періодів індукції становить 2400 с. Припускаючи, що інгібітори діють адитивно (що далеко не завжди так, але для оціночних значень таке допущення припустимо), період індукції за рахунок інгібітора *H. pluvialis* становить 2400 с.

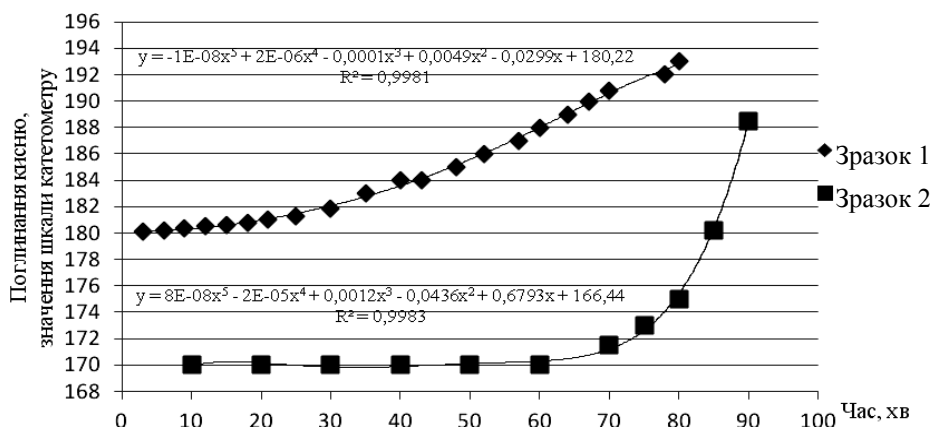


Рис. 3. Графік залежності поглинання кисню зразком соняшникової олії від часу: зразок 1 – контроль (олія без інгібітора); зразок 2 – олія з додаванням розчину масляного екстракту біомаси *H. pluvialis*

Розрахунок концентрації інгібітора проведено за формулою:

$$\tau = f \cdot n \cdot [InH] / V_i \quad (3)$$

У досліді  $V_i$  дорівнює  $1.45 \cdot 10^{-7}$ ;  $\tau = 2400$  с.

Тоді  $f \cdot n \cdot [InH] = 1.45 \cdot 10^{-7} \cdot 2400 = 0.000348$  моль /дм<sup>3</sup>.

Підставимо це значення у вираз:  $k_7 \cdot f \cdot n \cdot [InH] = 31.14$ , який знайдено в попередніх дослідях.

При умові, що  $f \cdot n \cdot [InH] = 0.000348$  мол/дм<sup>3</sup>,  $k_7 = 31.14 / f \cdot n \cdot [InH] = 31.14 / 0.000348 = 8.9 \cdot 10^4$ .

Це значення константи обриву ланцюгів свідчить про те, що ми маємо справу з досить ефективним інгібітором. Для порівняння наводимо значення  $k_7$  (дм<sup>3</sup>/(моль · с)) для деяких природних антиоксидантів, які використовуються в харчовій промисловості:  $\alpha$ -токоферол –  $2.0 \cdot 10^5$ ; іюнол –  $1.2 \cdot 10^4$ ; пірокатехін –  $3.5 \cdot 10^4$ ; гідрохінон –  $5.1 \cdot 10^4$ ; кофейна кислота –  $2.3 \cdot 10^4$ ; хлоргенова кислота –  $2.6 \cdot 10^5$ ; кверцетин –  $3.3 \cdot 10^6$ .

**Висновки.** Проведені дослідження свідчать, що водоростевий масляний екстракт біомаси зрілих апланоспор *Haematococcus pluvialis* містить речовини, які надають йому властивості інгібітора окиснювальних процесів. Період індукції за рахунок введення інгібітора збільшується у 2.2 раза. За показником константи швидкості обриву ланцюгів водоростева добавка характеризується як антиоксидант середньої сили й може використовуватись як комплексна антиоксидантна добавка. Перспективою подальших досліджень є аналіз масляного екстракту біомаси *H. pluvialis* як джерела антиоксидантів третього роду та дослідження антиоксидантних властивостей екстракту в складі жировмісних харчових продуктів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. *Технологии* пищевых производств / [Нечаев А. П., Шуб И. С., Антошина О. М. и др.] ; под ред. А. П. Нечаева. — М. : КолосС, 2005. — 768 с.
2. *Пивень Е. Н.* Антиоксиданты из растительного сырья для кондитерских жиров / Пивень Е. Н., Демидов И. Н., Новицкая Н. В. // *Вісн. Нац. техн. ун-ту "Харк. політехнічний ін-т"*. — Х. : НТУ "ХП", 2002. — Т. 2, № 9. — С. 69—72.
3. *Афанасьєва В. А.* Товарознавча оцінка антиоксидантних фітодобавок з натуральних прянощів та майонезів на їх основі : дис... канд. техн. наук : 05.18.15 : захищена 21.04.2002 : затв. 12.09.2002 / Афанасьєва Віта Анатоліївна. — Х., 2002. — 276 с.
4. *Вплив* каротиноїдної олії на якість майонезів у процесі збереження / [Камсуліна Н. В., Федак Н. В., Полевич В. В. та ін.] // *Прогресивні ресурсозберігаючі технології та їх економічна обґрунтованість у підприємствах харчування* : зб. наук. пр. — Х. : ХДАТОХ, 1998. — Ч. 1. — С. 205—208.
5. *Эмануэль Н. М.* Современные представления о механизме действия ингибиторов окисления / Н. М. Эмануэль, Е. Т. Денисов // *Нефтехимия*. — 1976. — Т. 16, № 3. — С. 238.
6. *Данилова Л. А.* Получение антиоксидантов окисления жиров из растительного сырья / Л. А. Данилова, Ф. Е. Іцков // *Химреактор 92* : тез. докл. Всесоюз. конф. — Х., 1992. — Ч. 3. — С. 68—69.
7. *Шахман А. В.* Антиоксидантное действие фосфолипидного комплекса, выделенного из морских организмов / Шахман А. В., Даценко З. М., Шумейко В. Н. // *Укр. биохим. журн.* — 1994. — № 4. — С. 87—95.
8. *Минюк Г. С.* Сравнительная характеристика морфологических и физиолого-биохимических признаков трех штаммов *Haematococcus pluvialis* Flotow, Chlorophyta, Chlamydomonadales / Минюк Г. С., Терентьева Н. В., Дробецкая И. В. // *Альгология*. — 2007. — 17, № 2. — С. 148—159.
9. Пат. 87245 Україна С2, UA, A01G 33/00, C12N 1/12, C12R 1/89. Спосіб культивування одноклітинної зеленої водорості *Haematococcus pluvialis* для одержання астаксантину / Мінюк Г. С., Терент'єва Н. В., Дробецька І. В., Чубчикова І. М. ; заявник і патентоволодар Ін-т біології південних морів ім. О. О. Ковалевського НАН України — № а 200806137 ; заявл. 12.05.08 ; опубл. 25.06.09, Бюл. № 12.
10. *Higuera-Ciapara I.* Astaxanthin: A review of its chemistry and applications / Higuera-Ciapara I., Félix-Valenzuela L., Coycoolea F. M. // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* — 2006. — Vol. 46. — P. 185—196.
11. *Naguib Y. M. A.* Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids / Y. M. A. Naguib // *J. Agric. Food. Chem.* — 2000. — Vol. 48. — P. 1150—1154.
12. *Ушкалова В. Н.* Стабильность липидов пищевых продуктов / В. Н. Ушкалова. — М. : ВО Агропромиздат, 1988. — 152 с.

Стаття надійшла до редакції 31.10.2012.

**Deynychenko G., Kramarenko D., Halyapa I. Effect of oil extract biomass *H. pluvialis* on oxidation of vegetable oils.**

**Background.** Oxidation of dietary fat is harmful process that leads to its unsuitability for human consumption. Herbal antioxidants are rarely used today, especially fat-soluble.

**Material and methods.** The antioxidant properties of the oil extract of mature biomass aplanospor *H. pluvialis* were studied, which is a source of carotenoids astaxanthin by the method of calculation of the number of absorbed oxygen per time during initiated oxidation of fat (oil) at elevated temperature.

**Results.** It has been determined that the induction period of oxidation of sunflower oil by an inhibitor of *H. pluvialis* equals to 2400 c. Induction period compared with the control increases 2.2 times by introducing inhibitor. The calculation of chain termination constants  $k_7$ , equals to  $8.9 \cdot 10^4$ , shows the efficiency of the use of biomass extract *H. pluvialis* as an inhibitor of oxidative processes.

**Conclusion.** Algal biomass oil extract of mature aplanospor *Haematococcus pluvialis* is characterized as middle power antioxidant and can be used as a comprehensive antioxidant supplement. Prospects for further research is the analysis of the oil extract biomass *H. pluvialis* as a source of antioxidants of the Third Kind and study of the antioxidant properties of the extract within the fat-containing foods.

**Key words:** oxidation of lipids, oxidation inhibitors, biomass of mature aplanospor *H. pluvialis*; astaxanthin.

## REFERENCES

1. *Tehnologii pishhevyyh proizvodstv* / [Nechaev A. P., Shub I. S., Antoshina O. M. i dr.] ; pod red. A. P. Nechaeva. — M. : KolosS, 2005. — 768 s.
2. Piven' E. N. Antioksidanty iz rastitel'nogo syr'ja dlja konditerskih zhirov / Piven' E. N., Demidov I. N., Novickaja N. V. // *Visn. Nac. tehn. un-tu "Hark. politehnicnij in-t"*. — H. : NTU "HPI", 2002. — T. 2, № 9. — S. 69—72.
3. Afanas'jeva V. A. Tovaroznavcha ocinka antyoksydantnyh fitodobavok z natural'nyh prjanoshhiv ta majoneziv na i'h osnovi : dys. ... kand. tehn. nauk : 05.18.15 : zahyshhena 21.04.2002 : zatv. 12.09.2002 / Afanas'jeva Vita Anatolii'vna. — H., 2002. — 276 s.
4. *Vplyv karotynoi'dnoi' olii' na jakist' majoneziv u procesi zberezhenja* / [Kamsulina N. V., Fedak N. V., Poljevych V. V. ta in.] // *Progresyvni resursozberigajuchi tehnologii' ta i'h ekonomichna obg'runtovanist' u pidpryjemstvach harchuvannja* : zb. nauk. pr. — H. : HDATOH, 1998. — Ch. 1. — S. 205—208.
5. *Jemanuel' N. M. Sovremennye predstavlenija o mehanizme dejstvija ingibitorov okislenija* / N. M. Jemanuel', E. T. Denisov // *Neftehimija*. — 1976. — T. 16, № 3. — S. 238.
6. *Danilova L. A. Poluchenie antioksidantov okislenija zhirov iz rastitel'nogo syr'ja* / L. A. Danilova, F. E. Ickov // *Himreaktor 92 : tez. dokl. Vsesojuzn. konf.* — H., 1992. — Ch. 3. — S. 68—69.
7. *Shahman A. V. Antioksidantnoe dejstvie fosfolipidnogo kompleksa, vydelenogo iz morskih organizmov* / Shahman A. V., Dacenko Z. M., Shumejko V. N. // *Ukr. biohim. zhurnal*. — 1994. — № 4. — S. 87—95.
8. *Minjuk G. S. Sravnitel'naja karakteristika morfologicheskikh i fiziologo-biohimicheskikh priznakov treh shtammov Haematococcus pluvialis Flotow, Chlorophyta, Chlamydomonadales* / Minjuk G. S., Terent'eva N. V., Drobeckaja I. V. // *Al'gologija*. — 2007. — 17, № 2. — S. 148—159.
9. Pat. 87245 Ukrai'na C2, UA, A01G 33/00, C12N 1/12, C12R 1/89. Sposib kul'tyvuvannja odnoklitynnoi' zelenoi' vodorosti *Haematococcus pluvialis* dlja



- oderzhannja astaksantynu / Minjuk G. S., Terent'jeva N. V., Drobec'ka I. V., Chubchykova I. M. ; zajavnyk i patentovolodar In-t biologii' pivdennyh moriv im. O. O. Kovalevs'kogo NAN Ukrai'ny — № a 200806137 ; zajavl. 12.05.08 ; opubl. 25.06.09, Bjul. № 12.
10. *Higuera-Ciagara I.* Astaxanthin: A review of its chemistry and applications / Higuera-Ciagara I., Félix-Valenzuela L., Coycoolea F. M. // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 2006. — Vol. 46. — P. 185—196.
  11. *Naguib Y. M. A.* Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids / Y. M. A. Naguib // J. Agric. Food. Chem. — 2000. — Vol. 48. — P. 1150—1154.
  12. *Ushkalova V. N.* Stabil'nost' lipidov pishhevyyh produktov / V. N. Ushkalova. — M. : VO Agropromizdat, 1988. — 152 s.