

Скрининг методов экстракции фитоэстрогенов из сухих молочных смесей

¹Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск, Беларусь

В последние десятилетия в производстве продуктов питания большое значение приобретает соя. Фитоэстрогены содержатся во всех продуктах переработки сои: соевых концентратах; изолятах; соевой муке, а также в соевых продуктах - тофу, соевое молоко, соевые мясные суррогаты и т.д. Воздействие сои за счёт содержащихся в ней фитоэстрогенов особенно опасно в те периоды, когда у плода формируется половая система, и потом, когда она активно развивается в раннем детстве и изменяется у подростков. Вышеперечисленное обуславливает актуальность разработки чувствительного метода определения фитоэстрогенов в сухих молочных смесях, предназначенных для детского питания. Особенно в продуктах, которые предназначены для детей с аллергией на белки молока, поскольку в них используют сою.

Цель исследования заключалась в проведении скрининга различных методов экстракции фитоэстрогенов из сухих молочных смесей, предназначенных для детского питания.

Материалы и методы. В работе были использованы следующие реактивы: генистеин, дайдзеин и ацетонитрил («Sigma», США). Остальные реактивы и препараты (квалификации ХЧ) отечественного производства.

К 100 мг образца детского питания добавляли 1,5 мл 70%, 80% и 90% ацетонитрила в 0,05; 0,1 и 0,15 М соляной кислоте, перемешивали и подвергали первую серию проб сонификации на ультразвуковой бане

в течение 30 мин при температуре 50°C, затем инкубировали на термошейкере 30 мин при 50°C (700 об/мин); вторую серию проб – сонификации в течение 1 часа при температуре 50°C; третью серию проб инкубировали на термошейкере 1 час при 50°C (700 об/мин). Затем все пробы центрифугировали 10 мин при 3000 г. Отбирали супернатант для измерения оптической плотности на спектрофлуориметре Solar CM2203 («Solar», Беларусь) в области 230-420 нм.

Данные, полученные в ходе эксперимента свидетельствуют о том, что при использовании 80% ацетонитрила и 0,1 М соляной кислоты экстракция проходила значительно лучше, в сравнении с другими составами растворителя.

Сравнительный анализ трех типов экстракции 80% ацетонитрилом дал следующие результаты: в образцах, которые подвергали сонификации на ультразвуковой бане в течение 30 минут при 50°C и последующей 30-ти минутной инкубации на термошейкере при 50°C, установлен достоверно более высокий выход фитоэстрогенов. Из образцов, которые инкубировали 1 час на термошейкере при 50°C, экстракция была минимальной.

При одновременном внесении в сухой образец растворителя, образуется нерастворимый сгусток, который может снижать выход фитоэстрогенов в раствор. Поэтому дополнительно было проведено сравнение степени экстракции определяемых флаваноидов с и без предварительного растворения молочных смесей в воде.

Результаты и обсуждение. Установлено, что экстракция фитоэстрогенов смесью, состоящей из 80% ацетонитрила и 0,1 М соляной кислоты, которую подвергали сонификации на ультразвуковой бане в течение 30 мин при 50°C и последующей 30-ти минутной инкубации на термошейкере при 50°C, дает их максимальный выход в экстрактивную фазу.

При предварительном растворении сухой молочной смеси в воде экстракция дайдзеина прошла в 9,1 раз лучше, чем в образцах без предварительного растворения. Аналогичный эффект получен для образцов с генистеином: его экстракция проходила в 6,5 раз эффективнее.

Заключение. Определён эффективный и воспроизводимый способ экстракции фитоэстрогенов из сухих молочных смесей, предназначенных для детского питания. Полученные данные легли в основу метода количественного определения дайдзеина и генистеина в продуктах для питания детей с использованием ВЭЖХ-МС.