

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**ІМЕНІ О.О БОГОМОЛЬЦЯ**  
**ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
Кафедра хімії ліків та лікарської токсикології

**ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

на тему «Встановлення маркерів якості для надкритичних CO<sub>2</sub>  
екстрактів проса»

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи В-1а  
(заочна форма навчання , друга вища освіта)  
напряму підготовки (спеціальності)  
226 « Фармація, промислова фармація »  
для другого (магістерського) рівня вищої освіти  
Хромова Н.А.  
Керівник: к.х.н. Сиротчук О.А  
Рецензент: доктор фармацевтичних наук , професор  
Карпюк У.В.

Київ – 2023 рік  
ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b>	<b>- 3 -</b>
<b>РОЗДІЛ 1. Аналіз літературних джерел щодо обробки проса та відходів, фармакологічні властивості екстракту проса, особливостей складу та методів визначення відомих речовин в екстрактах проса .</b>	<b>- 6 -</b>
<b>1.1 Вплив бробки зерен проса на якість і склад продукту. Переваги . Недоліки.</b>	<b>- 6 -</b>
<b>1.1.2 Подрібнення.</b>	<b>- 7 -</b>
<b>1.1.3. Солодування .</b>	<b>- 8 -</b>
<b>1.1.4. Ферментація (бродіння).</b>	<b>- 9 -</b>
<b>1.1.5. Бланширування</b>	<b>- 10 -</b>
<b>1.1.6. Кислотний гідроліз.</b>	<b>- 11 -</b>
<b>1.2 Надкритична CO<sub>2</sub>-екстракція проса та вплив параметрів екстракції на хімічний склад продукту.</b>	<b>- 12 -</b>
<b>1.3. Огляд літературних джерел щодо визначення хімічного складу CO<sub>2</sub>-екстрактів проса.</b>	<b>- 15 -</b>
<b>РОЗДІЛ 2. Експериментальна частина</b>	<b>- 18 -</b>
<b>2.1 Об'єкти аналізу:</b>	<b>- 18 -</b>
<b>2.2 Реактиви і стандартні речовини:</b>	<b>- 18 -</b>
<b>2.3 Обладнання:</b>	<b>- 18 -</b>
<b>2.4 Мірний посуд:</b>	<b>- 19 -</b>
<b>2.5 Методика проведення ідентифікації речовин в екстракті проса.-</b>	<b>19</b>
-	
<b>2.5.1 Умови хроматографування для визначення:</b>	<b>- 19 -</b>
<b>2.5.2 Підготовка зразків для проведення ідентифікації речовин в екстракті проса :</b>	<b>- 19 -</b>
<b>2.6 Методика визначення складу жирних кислот проса.</b>	<b>- 20 -</b>
<b>2.6.1 Умови хроматографування для визначення:</b>	<b>- 20 -</b>
<b>2.6.2 Підготовка зразків для проведення ідентифікації складу жирних кислот :</b>	<b>- 20 -</b>
<b>2.7 Методика кількісного визначення сквалену.</b>	<b>- 21 -</b>
<b>2.7.1 Умови хроматографування:</b>	<b>- 21 -</b>
<b>2.7.2 Підготовка зразків для кількісного визначення сквалену:</b>	<b>- 21 -</b>

<b>РОЗДІЛ 3</b>	<b>- 23 -</b>
<b>Результати і обговорення</b>	<b>- 23 -</b>
<b>3.1 Ідентифікація речовин в екстракті проса</b>	<b>- 23 -</b>
<b>3.2. Визначення складу жирних кислот проса.</b>	<b>- 26 -</b>
<b>3.3 Кількісне визначення сквалену</b>	<b>- 33 -</b>
<b>3.3.1. Придатність хроматографічної системи.</b>	<b>- 33 -</b>
<b>3.3.2 Визначення сквалену в зразках .</b>	<b>- 36 -</b>
<b>ВИСНОВКИ</b>	<b>- 41 -</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	<b>- 44 -</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>- 50 -</b>

## ВСТУП

Просо (*Panicum miliaceum* L.) є важливою злаковою рослиною та цінним компонентом раціону людини. “Просо є другою за значимістю круп’яною культурою. Воно належить до дуже стародавніх культур. На думку багатьох дослідників, його культура відома понад 4 тисячі років” [1]. Завдяки невибагливим умовам вирощування у майбутньому прогнозують, що ця культура буде відігравати важливу роль у глобальній продовольчій безпеці в умовах змін клімату, оскільки дефіцит води є значущою загрозою для сільського господарства [2]. В 2050 році населення планети зросте до 9,3 мільярда, це призведе до серйозних проблем з продовольчою безпекою [3]. Організація Об’єднаних Націй продовольства та сільського господарства (FAO) визначила просо як одну з майбутніх «розумних культур» двадцятого століття [4].

В першому розділі коротко розглянуто способи обробки зерна, відокремлення від основної маси продуктів лушення та утворення відходів: лушпиння, муки, дроблянки.

Вихід пшона та відходів: крупа – 69,5%, кормове подрібнення (пшоняна мучка) – 3,1%, борошно – 6,7%, лушпиння – 16,7%, усушка – 0,5%, інші відходи – 3,5% [5]. Завдяки багатому вмісту цінних речовин проса вважається культурою без відходів.

Маленький розмір зерен ускладнює відділення жиромісткого зародка від ендосперму, що викликає проблеми під час зберігання пшона, особливо у формі борошна. Жири, що містяться в перикарпі та зародку після подрібнення контактують з киснем повітря. Це призводить до ліполізу та подальшого окиснення утворених диестерифікованих ненасичених жирних кислот. Ці хімічні зміни зазвичай проявляються у вигляді неприємних смаків під час зберігання, особливо при високій вологості та доступу кисню повітря [6].

CO<sub>2</sub> газова екстракція дає можливість отримати максимально якісні і кількісні характеристики цінних компонентів із відходів обробки проса.

Так як зерно і , відповідно, продукти його переробки містять велику кількість мінералів (P, Ca , Zn Fe), дієтичних волокон, поліфенолів, вітамінів (ніацин, вітаміни групи B та фолієва кислота), амінокислот (метіонін, цистеїн, лейцин та ізолейцин, лецитин) , ліпідів , жирних кислот, за якими слідують , сквален , міліацин , каротиноїди , токофероли, фітостероли, екстракти проса щироко використовуються в фармацевтичній промисловості, парфумерії та косметології . Також дуже популярне їх застосування у виробництві БАДів. Тому в цій роботі приділена увага розробці критеріїв оцінки якості CO<sub>2</sub> – надкритичних газових екстрактів проса, отриманих у різних виробників.

**Мета:** встановити склад екстрактів проса отриманих з різної сировини, розробити екобезпечну, селективну методику визначення сквалену в екстракті проса.

**Завдання:**

1. Провести ідентифікацію речовин, що містяться в екстрактах проса і запропонувати речовини або їх комбінацію вміст яких може вказувати на якість екстракту.
2. Провести визначення вмісту рослинних олій і їх жирно-кислотний склад, розглянути можливість застосування результатів для оцінки якості екстрактів.
3. Провести кількісне визначення сквалену, як потенційного маркеру якості екстрактів.
4. Ідентифікувати міліацин в екстрактах для встановлення якості екстрактів.

1. За допомогою бібліотеки спектрів було ідентифіковано наступні речовини: пальмітинову, стеаринову, олеїнову, лінолеву і ліноленову жирні кислоти, а також сквален та германікол/міліацин.
2. Було встановлено, що надкритичні CO<sub>2</sub>-екстракти містять різну кількість олії: екстракт борошна близько 8%, екстракт крупи проса близько 100%, екстракт мучки близько 44%, екстракт Милосвіт близько 76%, а екстракт Magical Ariya близько 73%. Склад жирних кислот натомість є більш стабільним для більшості екстрактів. Так вміст олеїнової кислоти знаходиться в діапазоні 22,5-24,7%, а вміст ліноленової кислоти 66,5-68,9% для всіх екстрактів окрім Magical ariya. При цьому співвідношення лінолевої і олеїнової кислоти знаходиться в діапазоні 2,69-2,96.
3. Визначення сквалену проведено методом рідинної хроматографії і отримано наступні результати: CO<sub>2</sub>-надкритичний екстракт борошна – 1,05%; CO<sub>2</sub>-надкритичний екстракт мучки – 1,01%; CO<sub>2</sub>-надкритичний екстракт крупи – 0,45%; CO<sub>2</sub>-надкритичний екстракт Милосвіт – 0,25%; CO<sub>2</sub>-надкритичний екстракт Magical Ariya – виявлено слідові кількості сквалену.
4. За результатами дослідження виявлено, що міліацин/германікол міститься в усіх екстрактах, окрім Magical Ariya, що остаточно підтверджує низьку якість екстракту Magical Ariya.

Таким чином встановлено, що маркерами для визначення якості екстрактів проса можуть бути жирнокислотний склад екстракту, наявність і вміст сквалену, а також присутність головного маркеру проса – міліацину/германіколу.

## SUMMARY

**Khromova Nataliia**

### ESTABLISHMENT OF QUALITY MARKERS FOR SUPERCRITICAL CO<sub>2</sub> MILET EXTRACTS

**Department of Medicinal Chemistry and Toxicology**

**Scientific supervisor:** Syrotchuk Oleksandr

**Keywords:** Millet co<sub>2</sub>-extraction, squalene, miliacin, fatty acids

**Introduction.** Millet extracts find wide applications in the pharmaceutical industry, perfumery, and cosmetics. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction offers the ability to extract fatty compounds, improving the flour properties for long-term storage. It also enables the extraction of valuable substances from millet processing waste practically at room temperature, preserving all valuable components such as lipids, triglycerides of fatty acids, squalene, miliacin. This work is focuses on developing criteria for assessing the quality of CO<sub>2</sub> supercritical fluid extracts from millet obtained from different raw materials.

**Materials and methods.** 1) millet flour CO<sub>2</sub> extract , 2) millet groats CO<sub>2</sub> extract 3) millet bran CO<sub>2</sub> extract. The commercially available extracts are: 4) CO<sub>2</sub> extract from Milosvit millet 5) CO<sub>2</sub> extract Magical Ariya. GC-MS (Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra) equipped with a DB-WAX column (30m × 0.32mm × 0.25µm). GC-FID (GC-2010AF Plus) employing an HP-INNOWAX column (30m × 0.53mm × 1µm). HPLC-UV (Shimadzu LC-30) equipped with a Symmetry C18 column (150×4.6 3.5 µm).

**Results.** The following substances were identified using a spectral library: palmitic, stearic, oleic, linoleic, and linolenic fatty acids, as well as squalene and germanicol/miliacin. The methodology of the European Pharmacopoeia 2.4.22 "Composition of fatty acids by gas chromatography" was used to determine the fatty acid composition. It was found that supercritical CO<sub>2</sub> extracts contain varying amounts of oil: flour extract about 8%, groats extract about 100%, bran extract about 44%, Milosvit extract about 76%, and Magical Ariya extract about 73%. This implies that the absolute oil content in millet extracts may vary depending on the raw material used for its extraction and cannot be a quality marker for this product. On the other hand, **the fatty acid composition** is more stable for most extracts. The oleic acid content ranges from 22.5% to 24.7%, and the linolenic acid

content ranges from 66.5% to 68.9% for all extracts except Magical Ariya. The ratio of linoleic to oleic acid is in the range of 2.69-2.96. Magical Ariya extract had twice as much oleic acid as linolenic acid, with a ratio of 0.54. Therefore, the content of oleic and linolenic acid, as well as their ratio, can be quality markers for supercritical CO<sub>2</sub> extracts. From these considerations, the Magical Ariya extract is suspected of adulteration, but this parameter alone cannot establish this, as oleic and linoleic acid are not unique substances and are present in other natural oils.

**Squalene** determination was conducted using liquid chromatography, and the following results were obtained: CO<sub>2</sub>-supercritical flour extract – 1.05%, CO<sub>2</sub>-supercritical bran extract – 1.01%, CO<sub>2</sub>-supercritical groats extract – 0.45%, CO<sub>2</sub>-supercritical Milosvit extract – 0.25%, CO<sub>2</sub>-supercritical Magical Ariya extract – traces of squalene. Thus, squalene should be present in millet extracts, confirming the previous suspicion of adulteration of the Magical Ariya extract.

**Miliacin** is considered a marker for the presence of millet in human culture, and its residues are used to determine whether millet was part of the diet in ancient times. The research results revealed that miliacin/germanicol is present in all extracts except Magical Ariya, definitively confirming the low quality of the Magical Ariya extract.

**Conclusions** The results indicate that millet extracts obtained through supercritical CO<sub>2</sub> extraction may contain varying amounts of active substances. It has been demonstrated that the content of triglycerides of fatty acids can vary from 8% to almost 100%. However, the fatty acid composition of these oils remains constant among extracts, serving as one of the indicators to distinguish millet extracts from other lipid-containing extracts. The squalene content in millet extracts also indicates the quality of the extract, ranging from 0.25% to 1.05%. Its absence in the composition of the extract raises suspicions regarding the authenticity of the product. A characteristic substance for millet extracts is miliacin/germanicol, which definitively indicates whether the extract is adulterated or diluted. Thus, it is established that markers for determining the quality of millet extracts include the fatty acid composition of the extract, the presence and content of squalene, as well as the presence of the main millet marker – miliacin/germanicol.