

УДК 664.314

АНАЛІЗ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ РОСЛИННОЇ ОЛІЇ

Болгова Н.В., .к.с.-г.н.,

Маренкова Т.І., ст.. викладач

Сумський національний аграрний університет

Тел.:(0542)627837

Анотація – досліджено склад насичених і ненасичених жирних кислот у рослинних оліях за допомогою хромато-мас-спектрометрії. Проведено аналіз складу стероїдів, що дозволяє визначати джерело жиру, відрізняючи рослинні і тваринні жири за вмістом холестерину.

Ключові слова – мас-спектрометрія, насичені жирні кислоти, ненасичені жирні кислоти, стероїди, холестерин.

Постановка проблеми. Вивчаючи відмінності між маслами різного походження видається цікавим вміст у них жирних кислот, що входять до тригліцеридів рослинних олій. Аналіз масел проводять за допомогою газової хроматографії (ГХ) та рідинної. Розподіл ліпідів у ВЭЖХ можна проводити і без попередньої підготовки проб і омилення ліпідів використовуючи варіант з оберненими фазами і неполярним розчинником. Труднощами цього методу є те, що для ідентифікації піків доводиться використовувати неселективні детектори, зокрема, випарний детектор світлорозсіювач [6,10].

Аналіз останніх досліджень. Широке використання мас-спектрометричних детекторів представлено авторами, які вивчали склад ліпідів рисового масла комплексною рідинною хроматографією, що включає різні механізми розподілу [11]. Як детектор використовувався мас-спектрометр з хімічною іонізацією при атмосферному тиску. Дослідження ліпідів за допомогою рідинної хроматографії є найбільш широко застосовуваним [8,5,12].

Деякі труднощі дослідження складу жирних кислот методом ГХ викликані тим, що останні погано розділяються на капілярних колонках з неполярною нерухою фазою (НФ). Для їх розподілу розроблені спеціальні полярні капілярні колонки, проте і тут виникають кількісні відмінності різних кислот у зразках, що призводять до маскування піків. Найбільш точні дані за розподілом ненасичених жирних кислот можна отримати при використанні вуглеграфітових колонок [9]. Для аналізу жирнокислотного складу

ліпідів жирів і масел за ДЕСТом використовують метод газової хроматографії [1,4]. Метод інтерпретації хроматограм при аналізі жирних кислот методом ГХ описаний у роботі Рудакова О. Б.[7].

Матеріали та методика досліджень. Як зразки для досліджень використані проби товарних рослинних масел, вироблених з сої, кукурудзи і соняшнику. Для порівняння також були узяті зразки тваринного масла (коров'яче вершкове) і маргарину бутербродного "М'яке масло". Були обрані наступні зразки : 1 - штучний жир під назвою "м'яке масло"; 2 - масло коров'яче "Селянське"; 3 - соєва олія; 4 - кукурудзяне масло; 5 - соняшникова олія. Усі зразки рослинних олій позначені виробниками як рафіновані і дезодоровані.

Зразки готували для аналізу відповідно до вказівок ГОСТ Р 51486-99 та ДСТУ ISO 5509–2002[3,4,10]. У колбу ємністю 100 см³ поміщаємо навіску досліджуваного зразка масла масою 1 г і додаємо 10 мл 1% розчину метилату натрію у метанолі. Приєднуємо до колби зворотний холодильник і нагріваємо до кипіння на водяній бані протягом 15 хв. Потім у колбу додаємо 13 мл 1 М розчину сірчаної кислоти у метанолі і нагріваємо ще 15 хв. Після охолодження колби під струменем води в неї додаємо 25 мл дистильованої води. Вміст колби переносимо в ділильну воронку ємністю 100 мл і екстрагуємо гексаном 2 рази по 10 мл. Об'єднані екстракти промивають дистильованою водою порціями по 7 мл до повного видалення кислоти за індикатором. Екстракт сушать фільтруванням через шар безводного сульфату натрію і використовують для випробування.

Отримання проби для визначення стероїдів. Кип'ятять при нагріванні 1 г проби з 10 мл 0,5 н спиртового розчину гідроксиду калію із зворотним холодильником до повного омилення протягом години. Потім додають 10 мл води і нагрівають до утворення прозорого розчину. Після охолодження усе переносять у ділильну воронку і витягають неомилену частину петролійним ефіром двічі по 5 мл. Витяжку об'єднують і промивають 50% -вим спиртом, до якого додано декілька крапель розчину гідроксиду калію, а потім, щоб видалити сліди, що перейшло в петролійний ефір мила, 50 % спиртом до тих пір, поки спирт не перестане забарвлювати фенолфталеїн у червоний колір.

Умови аналізу. Розподіл і ідентифікацію компонентів проводили за допомогою хромато-мас-спектрометрії. Початкова температура термостата колонки - 40°C; витримка при початковій температурі - 1 хв; програмування температури - від 40 до 210°C із швидкістю 15°C/хв, від 210 до 280°C із швидкістю 5°C/хв. Витримка при кінцевій температурі - 20 хв. Газ-носій-гелій, 1 см³/хв. (постійна витрата). Проба 0,2 мкл без ділення потоку, випарник - 280°C. Температура випарника та інтерфейсу детектора - 280°C. Ідентифікація з'єднань

здійснювалася вручну порівнянням отриманих мас-спектрів з бібліотечними мас-спектрами. Ступінь збігу мас-спектрів вказані на рис. 2 (МС, %).

Основна частина. Досягти задовільного розподілу метилових ефірів ненасичених кислот С18 з 1-3 кратними зв'язками неможливо на звичайній капілярній колонці з неполярною прищепленою фазою.

Метилові ефіри ненасичених кислот С18 виходять за проміжок часу 15,85-16,20 хв., і їх коливання на хроматограмі в повному іонному русі (ПІР) незадовільне. Зовсім інша картина спостерігається на переробленій хроматограмі, побудованій за іонами відповідних молекулярних піків. На ній кількість кожного ізомеру може бути легко визначена інтеграцією. Реєстрація за іоном з $m/z=294$ дає три максимуми, відповідних, ймовірно, цис-трансізомерам лінолевої (С18:2) кислоти.

Кількісні дані за вмістом компонентів отримані виходячи з площ піків на хроматограмі за молекулярними іонами. Мас-спектри ефірів карбонових кислот мають досить інтенсивні пікі молекулярних іонів (15-20%), достатні як для виявлення відповідних з'єднань в режимі селективного моніторингу (SIM), так і для кількісного визначення окремих з'єднань в умовах недостатнього дозволу на хроматограмі по ПІТ. Так, мас-спектри метилових ефірів стеариноюю (С18:0), олеїноюю (С18:1), лінолевою (С18:2) і ліноленовою (С18:3) кислот мають молекулярні іони із співвідношенням $m/z=298, 296, 294$ і 292 відповідно. Площі піків, побудовані за молекулярними іонами, коригуються відповідно до їх відносної інтенсивності в мас-спектрах, отриманих на приладі при тому ж калібруванні мас-аналізатора. Як стандартне з'єднання використовується ефір стеариноюю кислоти.

Результати складу жирних кислот ліпідів рослинних олій, а також масла, виготовленого на основі коров'ячого, і штучного "м'якого масла" приведені на рис. 1. Таким чином, склад жирних кислот включає з'єднання від деканової до тетракозанової кислоти.

Можна помітити, що масла рослинного походження (зразки 3-5) практично не містять у залишках тригліцеридів жирних кислот з числом атомів вуглецю менше 16. В основному кислоти представлені ненасиченою олеїноюю (С18:1) і лінолевою (С18:2). А ось ліноленову кислоту (С18:3) вдалося виявити в незначних кількостях лише в соєвій олії (зразок 3). Доля дієнових кислот С18:2 приблизно в 1,5 рази перевищує долю олеїноюю кислоти С18:1. У зразках твердих жирів (зразки 1-2) це співвідношення міняється на протилежне. Крім того, сума ненасичених кислот С18 у твердих жирах приблизно удвічі менша, але одночасно зростає кількість насичених кислот С12, С14 і С16.

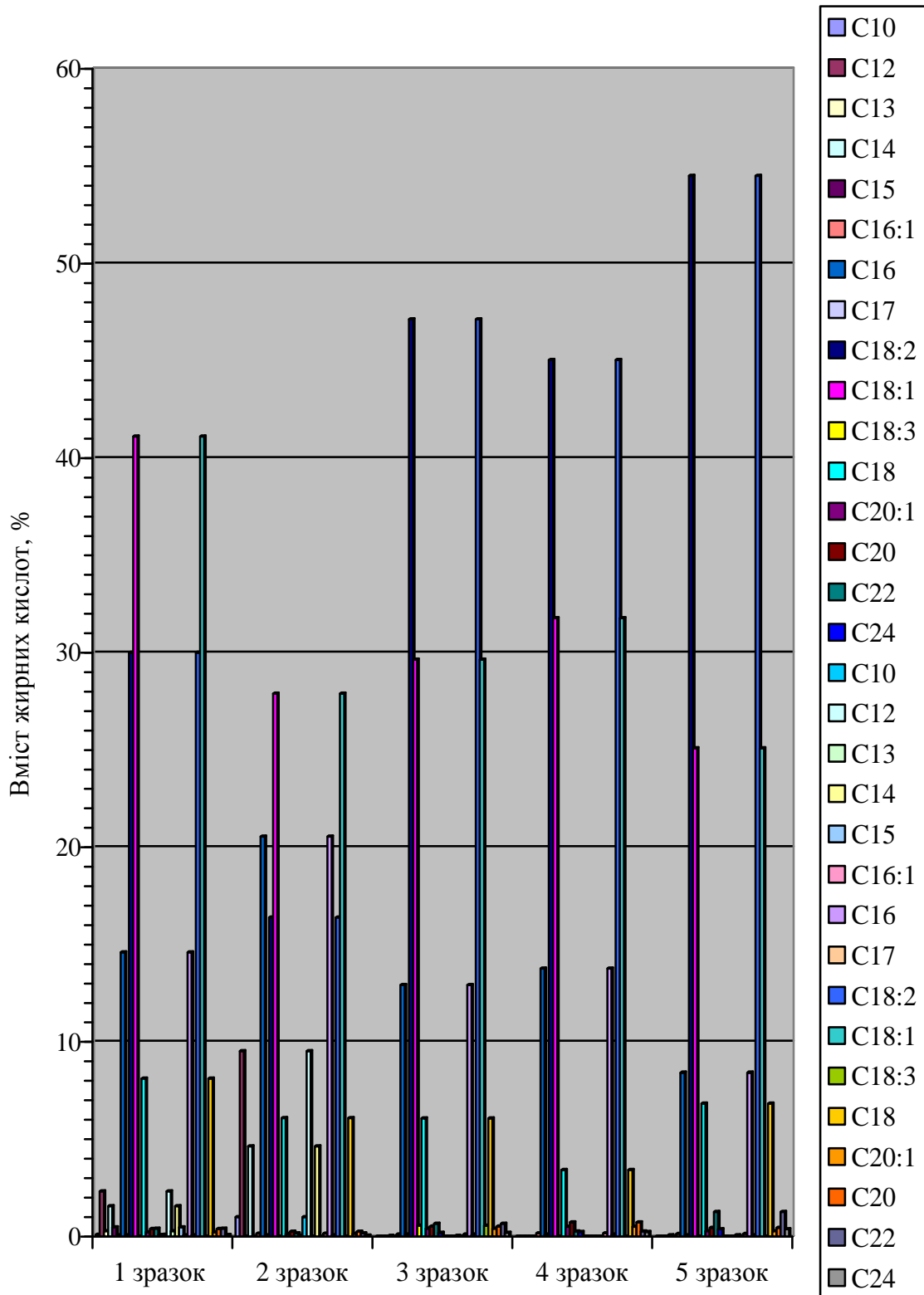


Рис. 1. Склад жирних кислот досліджуваних масел.

Склад штучної суміші жирів (зразок 1), що продається під назвою "м'яке масло", не повторює жоден з розглянутих раніше

зразків. Оскільки в його складі не було виявлено холестерину, який вважається невід'ємним компонентом тваринного жиру, "м'яке масло", ймовірно, не містить навіть домішок тваринних жирів. Склад його жирних кислот нагадує рослинні жири. Штучне масло, ймовірно, є суміш маргарину і рослинної олії. Залишається незрозумілим джерело кислот С10-С15 у "м'якому маслі". Кислоти з непарним числом атомів вуглецю С13 і С15 у жирах природного походження не виявляються у таких концентраціях.

Склад стероїдів у досліджуваних зразках приведений на рис. 2.

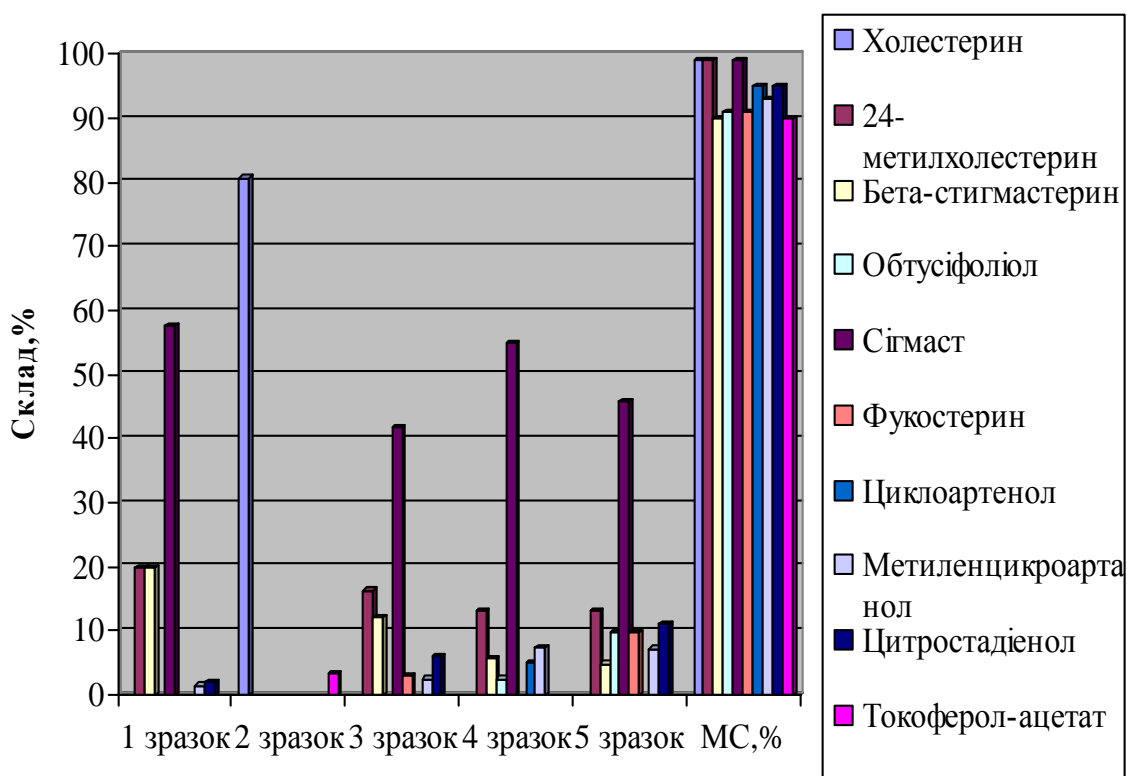


Рис. 2. Склад стероїдів досліджуваних масел.

Холестерин, таким чином, можна виявити тільки в жирах тваринного походження (зразок 2). У продуктах на основі коров'ячого масла вміст холестерину має незначні концентрації. Окрім холестерину в зразку присутній ацетат токоферолу. Рослинні жири не містять навіть слідів холестерину, проте там є цілий ряд споріднених стероїдів. Звертає на себе увагу близький склад стероїдів рослинних олій і зразка "м'якого масла".

Висновок. Проведені дослідження показали, що використовуючи дану методику визначення жирнокислотного складу рослинних жирів, нами не лише вивчені якісні показники, а й кількісні.

Література:

1. ГОСТ Р 51483-99. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме. Введ. 01.01. 2001. М., 2000. 8 с.
2. ГОСТ Р 51486-99. Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот. Введ. 01.01. 2001. М., 2000. 6 с.
3. ДСТУ ISO 5509–2002. Жири та олії тваринні і рослинні. Приготування метилових ефірів жирних кислот (ISO 5509:2000, IDT).
4. Межгосударственный стандарт ГОСТ 30418-96. Масла растительные. Метод определения жирнокислотного состава. Введ. 01.01.98. Минск: Изд-во стандартов, 1996. 7 с.
5. Олії та жири: склад, методи одержання, якість / [Осейко М., Українець А., Усатюк С. та ін.] // Харчова і переробна промисловість. – 2004. - №5 (297). – С. 17-19.
6. Состав жирных кислот и стероидов растительных масел / [Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Дычко К.А., Куряева Т.Т.] // Химия растительного сырья. – 2006. – №3. – С. 27–31.
7. Рудаков О.Б. Развитие метода интерпретации хроматограмм при идентификации растительных масел // Химия растительного сырья. 2001. №4. С. 79
8. Buchgraber M. Capillary GLC : a robust method to characterize the triglyceride profile of cocoa butter - results of intercomparison study / Buchgraber M., Ulberth F., Anklam E. // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2004. – V. 52. – P. 3855-3860.
9. Gaudin K. Retention behavior of unsaturated fatty acid methyl esters on porous graphitic carbon / Gaudin K., Chaminade P., Baillet. A. // Journal of Separation Science. – 2004. – V. 27. – P. 41-46.
10. Heron S. Post - column addition as a method of controlling triacylglycerol response coefficient of an evaporative light scattering detector in liquid chromatography - evaporative light - scattering detection / Heron S., Dreux M., Tchaplal A. // Journal of Chromatography. A. – 2004. – №7. 1035(2). – P. 221-225.
11. Silver - ion reversed - phase comprehensive twodimensional liquid chromatography combined with mass spectrometric detection in lipidic food analysis / [Mondello L., Tranchida P.Q., Stanek V., Jandera P.] // Journal of Chromatography. A. – 2005. – №9. – 1086(1-2). – P. 91-98.
12. Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques / [Buchgraber M., Ulberth F., Emons H., Anklam E.] // European Journal of Lipid Science and Technology. – 2004. – V. 106. – P. 621-648.

АНАЛИЗ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА РАСТИТЕЛЬНЫХ ЖИРОВ

Болгова Н.В., Маренкова Т.И.

Аннотация – были проведены исследования состава насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в растительных жирах с помощью хромато-мас-спектрометрии. Проведен анализ состава стероидов, что позволяет определить источник жира, различая растительные и животные жиры по содержанию холестерина.

ANALYSIS OF ZHIRNOKISLOTNOGO COMPOSITION OF JABOTY

N.V. Bolhova, T.I. Marenkova

Summary

Researches of composition of the saturated and unsaturated fat acids were conducted in jaboties by a khromato-mas-spectrometry. The analysis of composition of steroidov is conducted, that allows to define the source of fat, distinguishing vegetable and animal fats after maintenance of cholesterol.