

О. А. Гайдукевич, мл. науч. сотрудник;
Е. Д. Скаковский, зав. ЛФХМИ ИФОХ НАН Беларуси, доцент;
Л. Ю. Тычинская, вед. науч. сотрудник; С. А. Ламоткин, доцент

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ЯМР РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ГЛИЦЕРИДАХ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ

The study of distribution of fatty acids in glycerides of vegetable oils was carried out by the method of ^{13}C NMR. It is shown, that it differs from stoichiometric correlation and hardly depends on the structure and quantity of fatty acids. The maintenance of fat acids in oils made on the domestic enterprises and import is considered. It is shown, that the method of a nuclear magnetic resonance is perspective at the analysis of oils.

Введение. В настоящее время большое внимание уделяется разработке методов контроля качества продуктов питания. Состав жирных кислот является важным показателем жиров и растительных масел, а также может служить для их идентификации. Физиологическое действие и питательная ценность масла, а также его устойчивость в процессах переработки и хранения зависят не только от вида и количества составляющих жирных кислот, но и от положения кислот в молекулах глицеридов [1, 2].

Одним из наиболее распространенных методов анализа растительных масел является капиллярная газовая хроматография, которая позволяет разделить значительное количество жирных кислот и их изомеров. Однако при проведении анализа требуется пробоподготовка, которая основана на щелочном гидролизе глицеридов до свободных жирных кислот с последующим получением реакцией этерификации метиловых эфиров жирных кислот. Указанные процедуры лишают возможности провести анализ распределения жирных кислот в глицеридах и установить полноту замещения гидроксильных групп глицерина кислотными остатками.

Для записи хроматограммы в стандартных условиях требуется 60 мин. Кроме того, для идентификации и количественного определения компонентов необходимы стандартные образцы, которые не всегда доступны.

Спектроскопия ЯМР лишена этих недостатков. Она не требует дополнительной пробоподготовки и для анализа достаточно растворить растительное масло в одном из стандартных дейтерированных растворителей и произвести запись спектров в количественном режиме. Зная химические сдвиги кислотной части глицеридов (иногда достаточно только олефиновых групп), просто идентифицировать и количественно определить ненасыщенные кислоты, входящие в состав этих глицеридов, и тем самым установить вид масла. Анализ области поглощения глицериновой части молекул позволяет определить наличие моно- и диглицеридов. При использовании ^{13}C ЯМР-спектроскопии исследование спектров в карбоксильной области и области поглощения олефиновых

атомов углерода позволяет установить состав и количество ненасыщенных кислот, присоединившихся к крайним (1, 3) и центральному (2) положению глицерина [3].

Наличие современных спектрометров со сверхпроводящими магнитами позволяет провести анализ в течение 10 мин и в большинстве случаев без стандартных соединений.

Цель данной работы – исследование методом ^{13}C ЯМР-распределения жирных кислот в глицеридах растительных масел. Ранее мы изучили состав кислотной части десяти коммерческих масел методом ^1H и ^{13}C ЯМР [4]. Было установлено, что все они являются практически триглицеридами (~98%). Для сравнения мы проанализировали масло, полученное экстракцией семян рябины обыкновенной, содержащее большое количество диглицеридов.

Основная часть. В качестве объектов исследования были выбраны: оливковое масло «Maestro de Oliva», 100%, первый холодный отжим, изготовленное в Испании, Olive Line, Madrid (I); льняное, 100%, холодного прессования, нерафинированное, произведенное ООО «Лен», Россия, г. Чкаловск (II); персиковых косточек, 100%, косметическое, изготовленное ООО ТПК «Ароматы жизни», Россия, г. Москва (III); арахисовое, 100%, косметическое, изготовленное ООО ТПК «Ароматы жизни», Россия, г. Москва (IV); рапсовое «Ланна», 100%, рафинированное, дезодорированное, марки «П», производитель НП ООО «Продукты питания», Республика Беларусь, г. Минск (V); соевое «Delikate», 100%, рафинированное, дезодорированное, произведенное в Германии «Бернхард Шелл ГМБХ» (VI); кукурузное «Королина», 100%, рафинированное, дезодорированное, произведенное ООО «ПроРостМа», Россия, г. Санкт-Петербург (VII); подсолнечное «Королина», 100%, нерафинированное, I сорт, производитель А. И. Пашенко, Россия, г. Светлогорск (VIII); подсолнечное «Золотая семечка», 100%, рафинированное, вымороженное, марки «П», первый отжим, произведенное ООО «Золотая семечка», Россия, г. Ростов-на-Дону (IX) и масло из виноградных косточек, 100%, косметическое, изготовленное ООО ТПК «Ароматы жизни», Россия, г. Москва (X).

Для выделения масла из семян рябины обыкновенной были собраны ягоды в сентябре 2007 г. с дерева, растущего в г. Минске. Из выделенных семян масло было экстрагировано кипящим гексаном в течение 10 ч в аппарате Сокслета. После удаления растворителя масло (XI) анализировалось без предварительной очистки.

Спектры записывались на ЯМР-спектрометре AVANCE-500 (126 МГц для ядер ^{13}C) в количественном режиме. Для этого 0,2 мл масла растворяли в 0,3 мл CDCl_3 и помещали в 5-миллиметровую ампулу.

Основными ненасыщенными кислотами, входящими в состав коммерческих масел, являются: олеиновая (О), линолевая (Л), линоленовая (Лн). На рис. 1 представлены формулы этих кислот.

На рис. 2 показан ^{13}C ЯМР-спектр раствора соевого масла. Из спектра видно, что атомы углерода карбоксильных групп поглощают в области 173–176 м. д., олефиновые – в интервале 125–135 м. д., растворитель – 77,7 м. д., глицериновый остаток – 69 м. д. (CH) и 63 м. д. (CH_2), метиленовые углеродные атомы жирных кислот проявляются в интервале 20–35 м. д., а метильные – ~14 м. д.

Как указывалось во введении, наибольший интерес для анализа представляет область поглощения олефиновых атомов углерода (рис. 3). Спектры заметно отличаются. Если в первом случае (рис. 3, а) присутствуют группы сигналов

для трех кислот: линолевой – 4 линии, олеиновой – 2, линоленовой – 6, то для масла из виноградных косточек наблюдаются только сигналы линолевой и олеиновой кислот. На рис. 3 сделано отнесение сигналов указанных кислот. Индексами обозначены номера углеродных атомов соответствующих кислот.

Анализ спектра показывает, что часть сигналов является синглетными линиями, а часть – дублетными с различной интегральной интенсивностью компонентов. Наличие дублетов обусловлено различным присоединением кислотных остатков к глицериновой основе. Используя данные работы [5], мы сделали отнесение углеродных сигналов кислотных остатков, присоединенных ко второму положению глицерина (2) и к его крайним положениям (1, 3). Различие интенсивностей компонентов дублетов указывает на то, что кислотные остатки присоединяются не статистически, а имеет место некоторое предпочтительное присоединение.

На рис. 4 показана глицериновая область для масла из семян рябины обыкновенной. В отличие от образцов масел I–X (рис. 2) здесь наблюдаются три дополнительных линии: $\delta_{\text{CH}} = 69,4$ м. д., $\delta_{\text{CH}_2\text{OC(O)R}} = 63,0$ м. д., $\delta_{\text{CH}_2\text{OH}} = 62,7$ м. д., принадлежащих 1,2-диглицериду. Его содержание составляет 42% от общего количества масла.

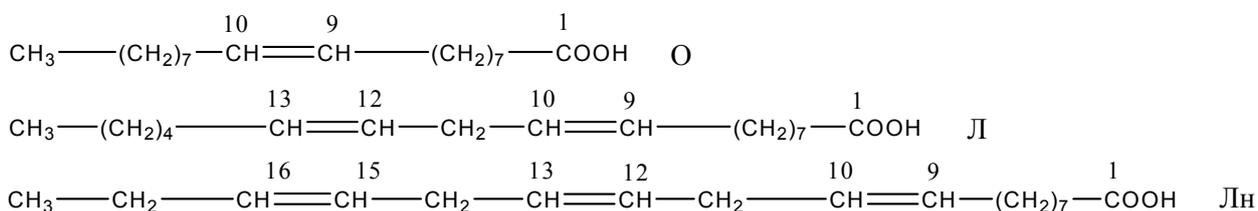


Рис. 1. Формулы основных ненасыщенных жирных кислот

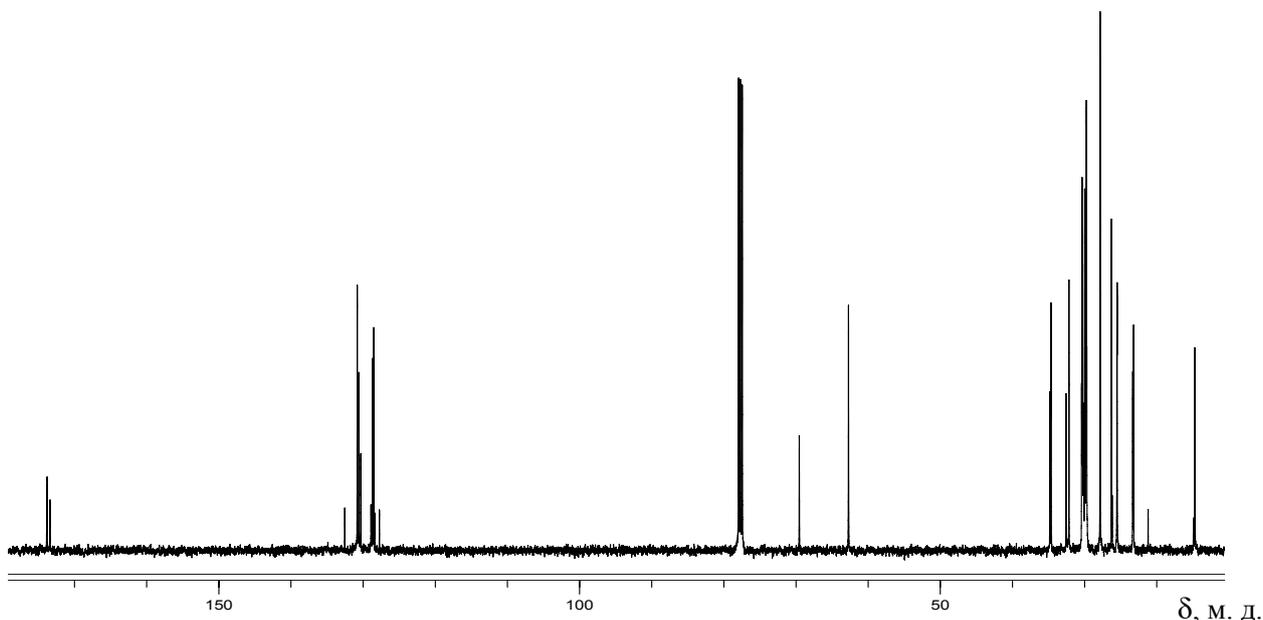


Рис. 2. Спектр ^{13}C ЯМР раствора соевого масла в CDCl_3

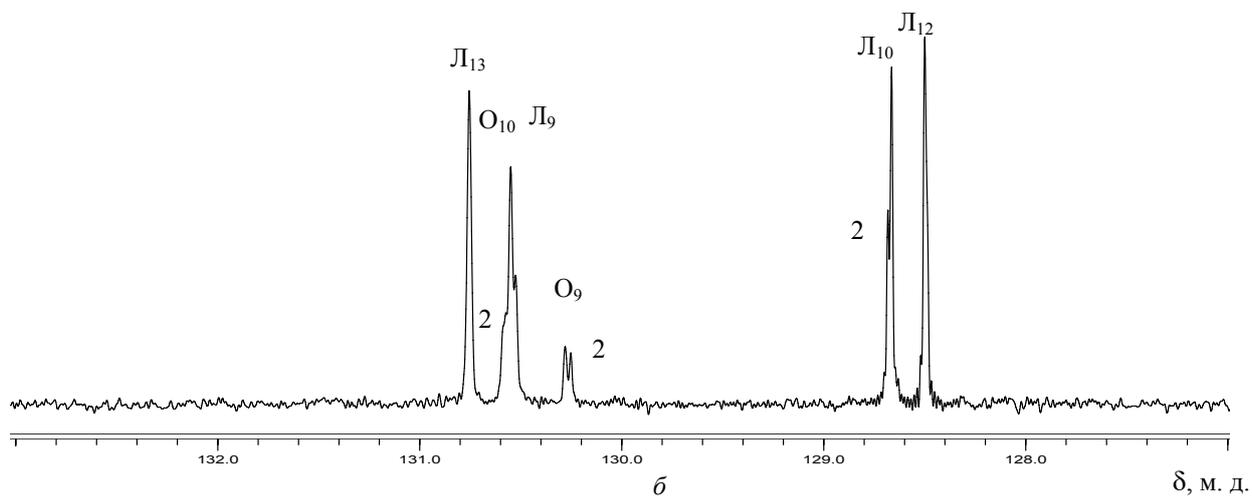
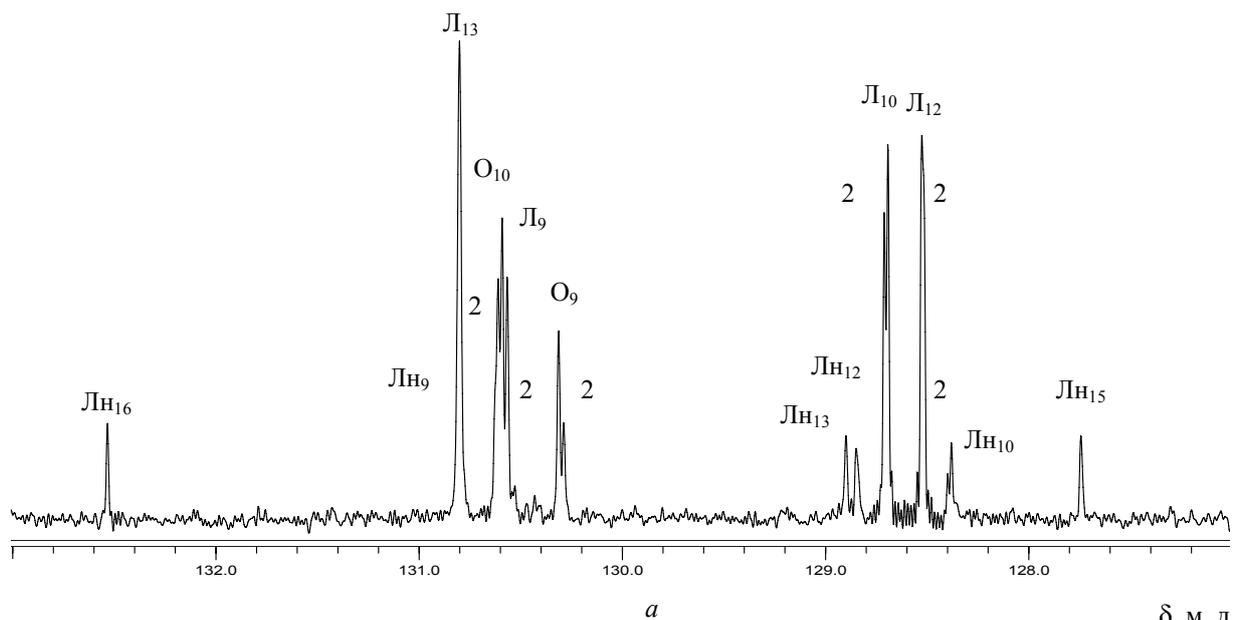


Рис. 3. Спектры ^{13}C ЯМР (область двойных связей) растворов в CDCl_3 :
a – соевое масло; *б* – масло из виноградных косточек

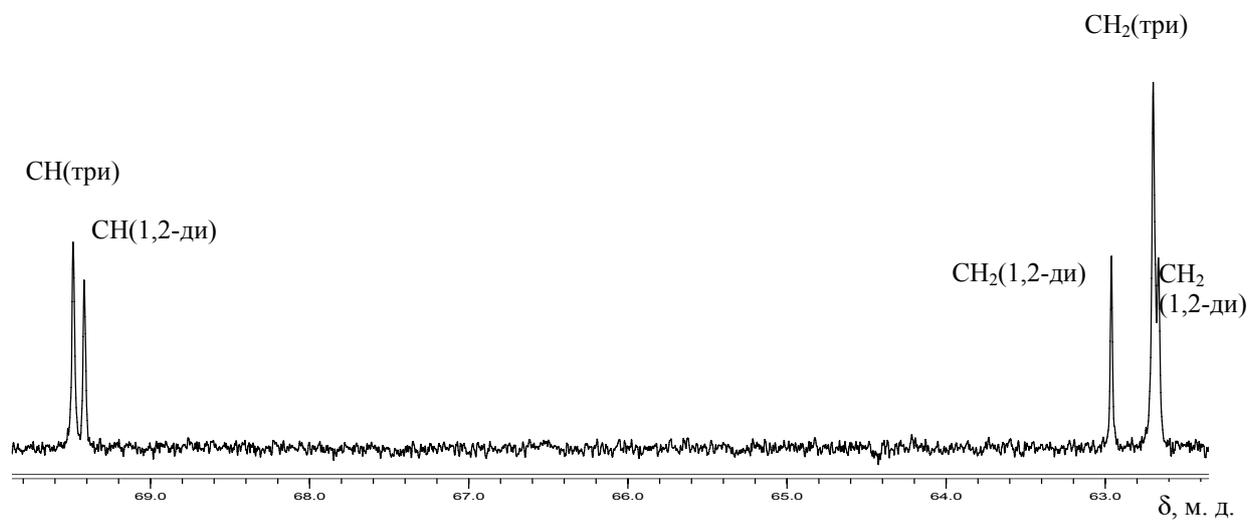


Рис. 4. Спектр ^{13}C ЯМР (область диглицерида) раствора масла
из семян рябины обыкновенной в CDCl_3

Содержание (%) и отношение содержания кислот в глицеридах растительных масел

Кислотный остаток	Масло										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Линолевая	7 (1,00)	17 (1,21)	30 (1,06)	32 (0,91)	41 (1,34)	53 (1,26)	55 (1,66)	61 (1,52)	61 (1,52)	67 (1,98)	59 (1,10)
Олеиновая	73 (1,44)	17 (1,67)	60 (2,19)	32 (2,38)	39 (2,14)	23 (2,06)	27 (1,82)	23 (2,00)	23 (2,00)	16 (1,35)	26 (1,53)
Линоленовая	2 (-)	55 (2,02)	- (-)	- (-)	8 (1,06)	10 (2,12)	1 (-)	- (-)	- (-)	- (-)	1 (-)
Насыщенные	12	10	8	33	7	14	15	16	16	15	14

Результаты спектральных измерений показаны в таблице, образцы масел в которой расположены по мере увеличения содержания кислотного остатка линолевой кислоты в глицеридах. Поскольку анализ индивидуальных насыщенных кислот методом ЯМР затруднен, в таблице представлено суммарное содержание, причем в их состав входят, главным образом, пальмитиновая и стеариновая кислоты.

В скобках приведено отношение содержания каждой из ненасыщенных жирных кислот в разных положениях глицеридов $(1 + 3) / 2$.

В числителе – суммарное содержание кислотных остатков определенной кислоты, присоединенной к крайним положениям глицерина (1, 3), а в знаменателе – к второму положению (2). Анализ таблицы показывает, что для всех масел не выполняется стехиометрическое отношение в присоединении жирных кислот. Наблюдающееся отношение как больше 2, так и меньше, что указывает, вероятно, на зависимость присоединения кислоты в то или иное положение глицерина как от самой кислоты, так и от ее соседей. Хотя нет четких корреляций, связанных с содержанием той или иной кислоты, однако можно утверждать, что небольшие количества линолевой кислоты предпочитают присоединяться к второму положению глицерина. В меньшей степени сказанное применимо для oleиновой и линоленовой кислот. Для получения более однозначных ответов необходимы дополнительные исследования со значительно большим количеством объектов.

Закключение. Проведенные исследования показали, что распределение остатков жирных кислот в глицеридах растительных масел отличается от стехиометрического соотношения и сильно зависит от содержания и состава жирных кислот.

Литература

1. Юнусова, С. Г. Стереоспецифический анализ триацилглицеролов хлопкового масла / С. Г. Юнусова, С. Д. Гусакова, А. У. Умаров // Химия природных соединений. – 1982. – № 4. – С. 430–433.
2. ^{13}C NMR analysis of the triacylglycerol composition of Greek virgin olive oils / T. Mavromoustakos [et al.] // Magn. Res. Chem. – 1997. – Vol. 35. – P. 3–7.
3. Sacchi, R. ^1H and ^{13}C NMR of virgin olive oil. An overview / R. Sacchi, F. Addeo, L. Paolillo // Magn. Res. Chem. – 1997. – Vol. 35. – P. 133–145.
4. Применение спектроскопии ЯМР для анализа растительных масел / Е. Д. Скаковский [и др.] // Структура и динамика молекулярных систем: материалы XIII Всерос. конф., Яльчик, 4–8 июля 2006 г. – Яльчик, 2006. – Ч. 2. – С. 228–231.
5. Vlahov, G. Quantitative ^{13}C NMR method using the DEPT pulse sequence for the detection of olive oil adulteration with soybean oil / G. Vlahov // Magn. Res. Chem. – 1997. – Vol. 35. – P. 8–12.