

А. Н. Волкович, ассистент; С. А. Ламоткин, доцент; И. И. Глоба, доцент;  
Е. Д. Скаковский, зав. лабораторией ИФОХ НАН Беларуси;  
Л. Ю. Тычинская, ст. науч. сотрудник ИФОХ НАН Беларуси;  
О. А. Гайдукевич, мл. науч. сотрудник ИФОХ НАН Беларуси

### ИЗУЧЕНИЕ ЛИПИДОВ СЕМЯН ЯБЛОК И ЯГОД ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Phytogenesis fats – one of the basic sources of polyunsaturated fatty acids which concern irreplaceable components of a food and define biological efficiency of fat. As any of natural fats has ideal fatty acid no structure search of new sources of reception of specific fatty acids is actively conducted. In this work results of research fatty acid structure of oil of seeds of some grades of apples and berries are presented. The high maintenance linoleic acid in seeds of apples (about 60%) and linolenic acid in seeds of berries (14,6–27,9%), defined by methods of a gas chromatography and a nuclear magnetic resonance-spectroscopy is shown.

**Введение.** Роль жиров в организме человека трудно переоценить – это важнейший строительный материал для клеточных мембран. Жиры растительного происхождения – один из основных источников полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), которые относятся к незаменимым компонентам питания и определяют биологическую эффективность жира. Особое место в питании занимают так называемые эссенциальные жирные кислоты, представленные в пищевых продуктах двумя основными классами  $\omega$ -3 (линоленовая кислота) и  $\omega$ -6 (линолевая кислота). Жирные кислоты  $\omega$ -3, необходимые для жизнедеятельности человека, не вырабатываются организмом. Поэтому для поддержания здоровья, а также при лечении диабета, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний назначаются диеты, богатые жирными кислотами  $\omega$ -3 [1].

Сырьем, традиционно используемым для производства растительных масел, богатых ПНЖК  $\omega$ -3, являются семена льна, рапса, сои, а ПНЖК  $\omega$ -6 – семена подсолнечника, кукурузы, сои, оливки. Однако ни один из природных жиров по своему жирнокислотному составу и свойствам не является идеальным и из вырабатываемых пищевой промышленностью растительных масел ни одно индивидуальное масло не удовлетворяет предъявляемым требованиям к оптимальному жирнокислотному составу. В рационе здорового человека соотношение линолевой и линоленовой кислот должно составлять 10 : 1, что соответствует уровню потребления линолевой кислоты – 10 г/сут, линоленовой – 1–3 г/сут. Поэтому специалисты разрабатывают функциональные жировые продукты с заданным оптимальным сочетанием жирных кислот. Для получения жировых продуктов с требуемым жирнокислотным составом применяется метод купажирования растительных масел, который позволяет получить пищевой продукт, сбалансированный по составу ПНЖК и имеющий приемлемые вкусовые характеристики. Используя комбинированные жировые системы на основе различных растительных масел, можно решить

проблему обеспечения функционального и сбалансированного питания населения [2].

Понятен поэтому повышенный интерес к новым источникам получения специфических жирных кислот, оказывающим благоприятное воздействие на здоровье человека. В ряде работ, например [3, 4], было изучено содержание жирных кислот в таких объектах, как черная смородина, дикорастущие плоды и ягоды. Показан разнообразный жирнокислотный состав масел, выделяемых из дикорастущих ягод, а в масле черной смородины обнаружено высокое содержание  $\gamma$ -линоленовой кислоты.

Эти результаты демонстрируют перспективность использования при производстве растительных масел нетрадиционного, в том числе местного, сырья, а также необходимость тщательного изучения жирнокислотного состава масел, получаемых из него.

Среди современных способов определения жирнокислотного состава наибольшее распространение получили хроматографические методы [5]. Наряду с этим все большую популярность приобретает ЯМР-спектроскопия, обладающая рядом достоинств, важных для анализа жирнокислотного состава продукции. В частности, анализ этим методом не требует дополнительной пробоподготовки и для анализа достаточно растворить жиросодержащий продукт в одном из стандартных дейтерированных растворителей и произвести запись спектров в количественном режиме. Зная химические сдвиги кислотной части глицеридов (иногда достаточно только олефиновой части), довольно просто идентифицировать и количественно определить состав ненасыщенной части этих глицеридов и тем самым установить вид масла или жира.

Существование современных спектрометров со сверхпроводящими магнитами дает возможность провести анализ на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  в течение 10 мин, а наличие соответствующих навыков у оператора и табличных данных химических сдвигов соответствующих глицеридов позволяет обойтись без стандартных соединений [6].

Цель данной работы – исследование жирнокислотного состава масла, выделенного из семян яблок различных сортов и ягод методами газовой хроматографии и ЯМР-спектроскопии.

**Основная часть.** В качестве объектов исследования были выбраны:

1) масла из семян яблок следующих сортов: антоновка, белый налив, малиновка, лесная, бетин шафранный, серуел, слава победителю, штрифель, телессааре;

2) масла, выделенные из семян костяники, ёшты, ежевики.

Масло из семян яблок и ягод было выделено экстракцией гексаном при комнатной температуре.

Для газохроматографического определения содержания жирнокислотного состава образцов проводили дериватизацию отобранных проб масла для получения летучих метиловых эфиров жирных кислот [7]. Для анализа отбирали 0,1 мкл полученной смеси. Анализ проводили на хроматографе HP 4890D, снабженном пламенно-ионизационным детектором. Условия анализа: капиллярная колонка длиной 30 м; неподвижная жидкая фаза Innowax; газ-носитель – гелий, расход 30 мл/мин; программирование температуры: начальная температура колонки 180°C (600 с), скорость нагрева 2°C/мин; конечная температура колонки 220°C (1200 с), температура испарителя 250°C, температура печи детектора 250°C.

Идентификацию индивидуальных жирных кислот, входящих в состав исследованных образцов растительных жиров, проводили по равенству характеристик удерживания отдельных компонентов с компонентами стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот.

Для записи ЯМР-спектров 0,2 мл растительного масла растворяли в 0,3 мл  $CDCl_3$  и помещали в 5-миллиметровую ампулу.

Запись спектров проводилась в количественном режиме на спектрометре AVANCE-500 с рабочей частотой 500 МГц для ядер  $^1H$  и 125 МГц для ядер  $^{13}C$ .

Для идентификации сигналов компонентов масел из семян яблок и ягод были записаны спектры ЯМР  $^1H$  и  $^{13}C$  следующих жирных кислот: линолевой, олеиновой, линоленовой, пальмитиновой и стеариновой.

На рис. 1 в качестве примера приведены спектры ЯМР масла из семян яблок белый налив.

Как видно из рис. 1, а, спектр ПМР состоит из ряда линий. В области 5,2–5,4 м. д. наблюдаются сигналы олефиновых протонов и метиленового протона глицеринового остатка; 4,1–4,3 м. д. – область поглощения метиленовых протонов глицерина; 2,6–2,8 м. д. – область поглощения метиленовых протонов  $CH=CHCH_2CH=CH$ -остатков линолевой и линоленовой кислот; около 2,3 м. д. – область поглощения всех метиленовых протонов, расположенных рядом с карбоксильной

группой; 1,9–2,1 м. д. – область поглощения всех метиленовых протонов, расположенных рядом с двойными связями; около 1,6 м. д. – область поглощения метиленовых протонов, расположенных рядом с предыдущими; 1,2–1,4 м. д. – область поглощения всех оставшихся метиленовых протонов; около 0,95 м. д. – область поглощения метильных протонов линоленовой кислоты; 0,8–0,9 м. д. – область поглощения метильных протонов насыщенных моно- и диненасыщенных триглицеридов кислот.

Химические сдвиги сигналов протонов соединений определялись по сигналу хлороформа ( $CHCl_3$ ,  $\delta = 7,27$  м. д.), который присутствует в качестве примеси в дейтерированном растворителе. Как видно, ряд сигналов перекрывается, что ограничивает использование данных спектров для количественного анализа.

С этой точки зрения более информативным является спектр ЯМР  $^{13}C$ , представленный на рис. 1, б. Здесь легко идентифицируются сигналы непредельных кислот.

На рис. 2 представлены фрагменты спектров масла из семян костяники, ёшты и ежевики. Качественно спектры подобны. В них наблюдаются сигналы олеиновой, линолевой, линоленовой кислот. Однако интенсивности линий данных кислот существенно различаются, что свидетельствует о различном содержании данных кислот в объектах исследования. На спектре видно, что содержание линоленовой кислоты в масле из семян ёшты в 2–3 раза больше, чем в маслах из семян ежевики и костяники. Это количественно подтверждено данными, полученными хроматографическим методом, которые представлены в таблице (см. на с. 214). Анализ полученных результатов показывает, что масла из семян яблок и ягод богаты линолевой кислотой, содержание которой составляет от 33,9% в семенах ёшты до 69,3% в семенах ежевики.

При этом в семенах ёшты также наблюдается высокое содержание  $\alpha$ -линоленовой (27,97%) и присутствие  $\gamma$ -линоленовой кислоты (3,87%), существенное количество которой (3,19%) обнаружено и в семенах костяники.

По суммарному содержанию насыщенных и ненасыщенных жирных кислот можно отметить большое количество ненасыщенных кислот в сортах антоновка, белый налив, малиновка, лесная, бетин шафранный, серуел, слава победителю (88,58–90,18%) и чуть более высокое содержание в семенах ежевики и костяники – 92,37 и 92,10% соответственно.

**Заключение.** В работе показано, что спектроскопия ЯМР может использоваться для проведения качественного и количественного анализа липидов семян растений, при этом наблюдается хорошая корреляция с результатами ГЖХ.

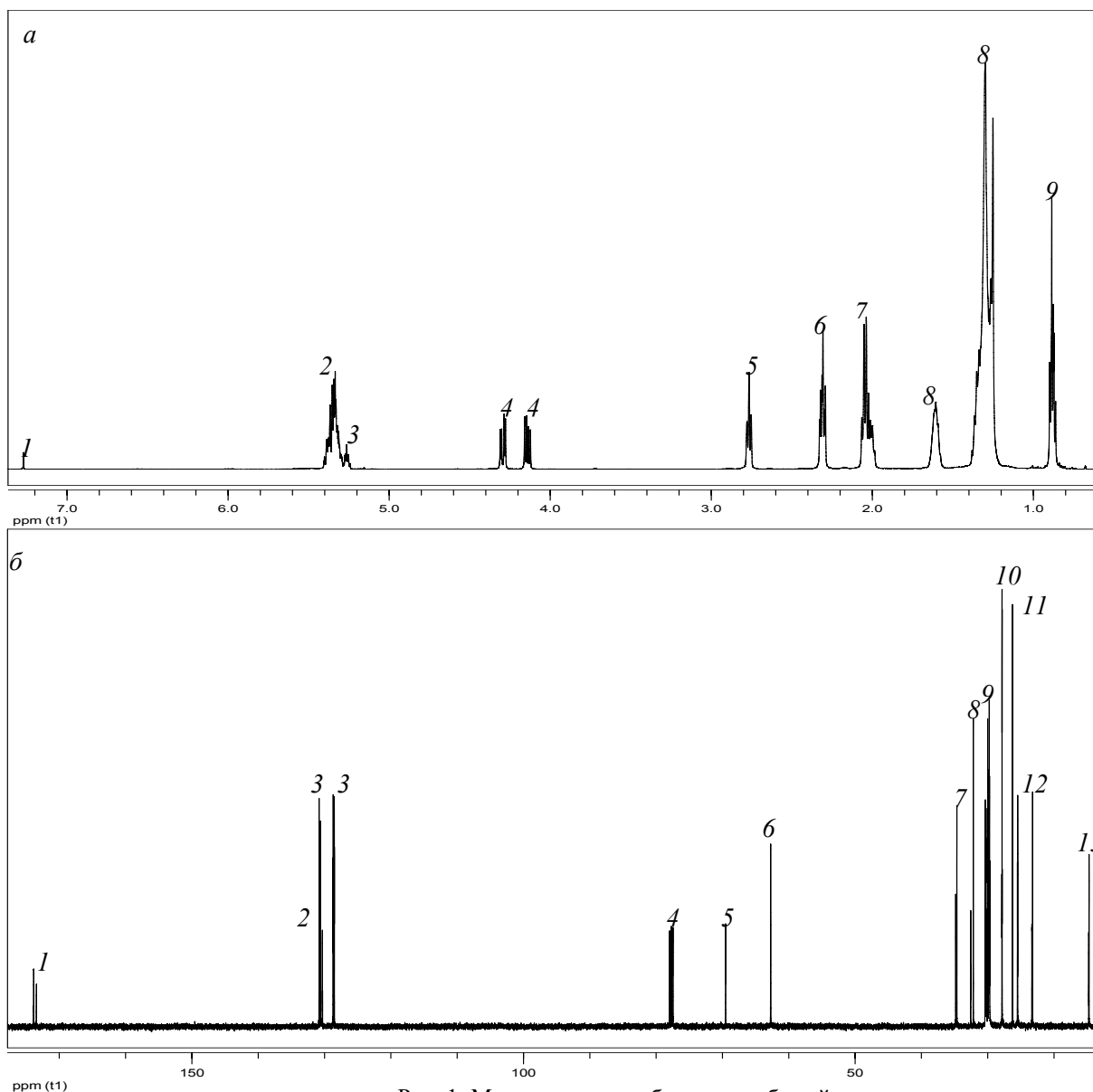


Рис. 1. Масло из семян яблок сорта белый налив:

*a* – спектр ЯМР  $^1\text{H}$ :

- 1 –  $\text{CHCl}_3$  в  $\text{CDCl}_3$  (используемый растворитель); 2 – атомы Н всех двойных связей;  
 3 –  $\text{CH}$ -группы глицерина; 4 –  $\text{CH}_2$ -группы глицерина;  
 5 –  $\text{CH}_2$ -группы, расположенные между двойными связями;  
 6 –  $\text{CH}_2$ -группы, соседние с группой  $\text{COOH}$ ; 7 –  $\text{CH}_2$ -группы, соседние с двойными связями;  
 8 – группы  $(\text{CH}_2)_n$ ; 9 –  $\text{CH}_3$ -группы кислот;

*b* – спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ :

- 1 – карбоксильные группы; 2 – линолевая кислота; 3 – олеиновая кислота;  
 4 – хлороформ (растворитель); 5 –  $\text{CH}$ -группа глицеринового остатка;  
 6 –  $\text{CH}_2$ -группа глицеринового остатка; 7 – атомы  $\text{C}_2$  всех кислот;  
 8 – атомы  $\text{C}_{16}$  стеариновой, линолевой, олеиновой кислот; 9 – группы  $(\text{CH}_2)_n$  всех кислот;  
 10 – атомы  $\text{C}_8, \text{C}_{11}$  олеиновой и  $\text{C}_8, \text{C}_{14}$  линолевой кислот; 11 – атомы  $\text{C}_3$  всех кислот;  
 12 – атомы  $\text{C}_{17}$  стеариновой, линолевой, олеиновой кислот; 13 – атомы  $\text{C}_{18}$  всех кислот

Изучен жирнокислотный состав масел из семян растений, произрастающих на территории Республики Беларусь.

В исследованных образцах наблюдается высокое содержание линолевой кислоты в маслах из семян яблок, костяники и ежевики (порядка 60%), линоленовой кислоты – в маслах из семян ёшты и ежевики (14,6–27,9%), что по-

зволяет рассматривать эти объекты как новые источники получения специфических жирных кислот, оказывающих благоприятное воздействие на здоровье. В этих случаях, естественно, речь может идти о развитии малотоннажных специализированных предприятий и специальных технологий, обеспечивающих получение нативных масел.

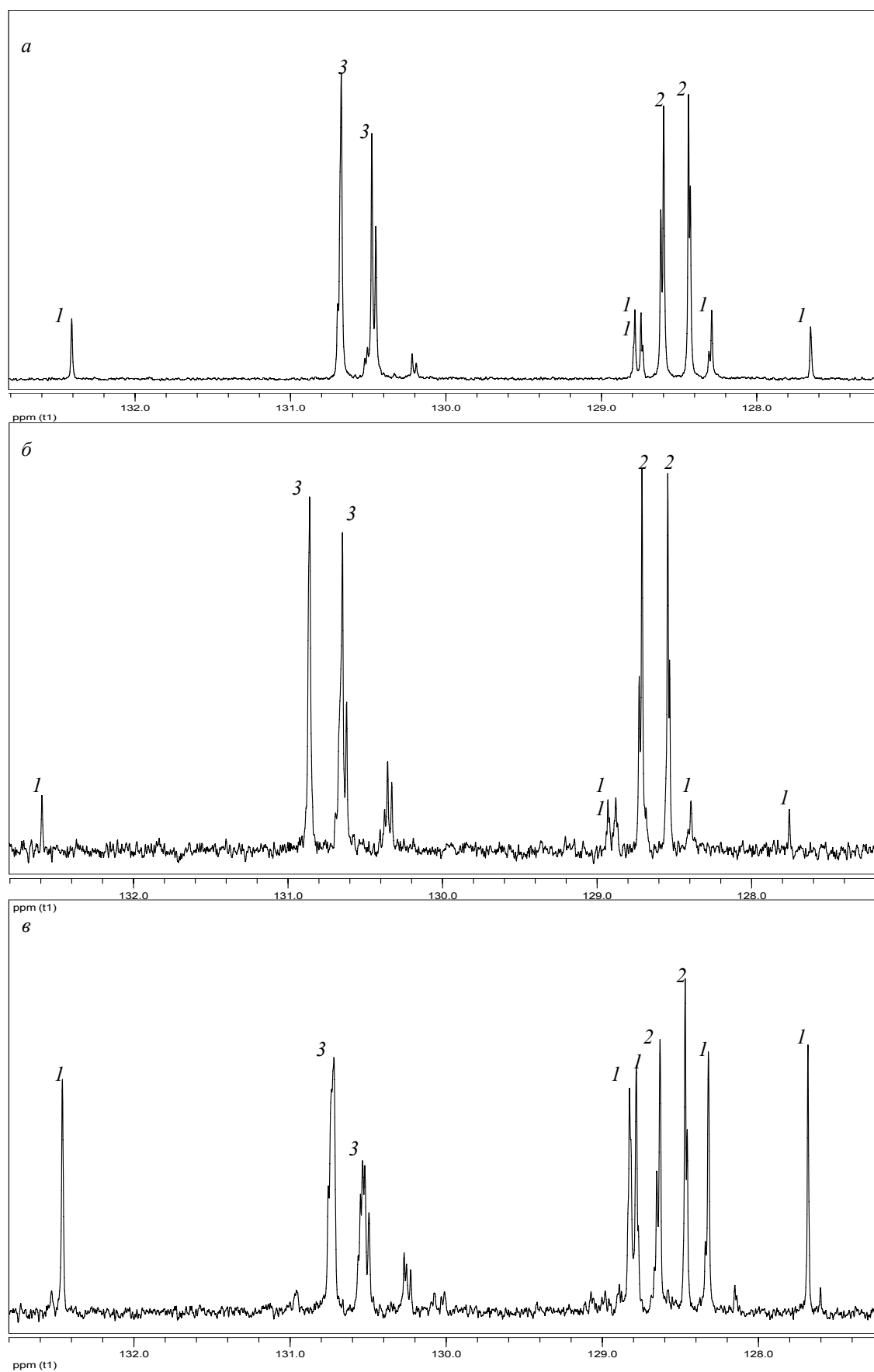


Рис. 2. Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  в  $\text{CDCl}_3$ :  
*а* – масла из семян ежевики; *б* – масла из семян костяники; *в* – масла из семян ёшты;  
 1 – линоленовая кислота; 2 – линолевая кислота; 3 – олеиновая кислота

Содержание жирных кислот в масле из семян яблок и ягод, % от общего содержания жира

Жирные кислоты	Антоновка	Белый налив	Лесная	Малиновка	Бетин шафранный	Серуел	Слава победителю	Штрифель	Телесааре	Ежевика	Ёшта	Костяника
C <sub>8:0</sub>	0,04	0,14	0,03	0,19	0,03			0,04	0,06	0,12	8,39	0,82
C <sub>10:0</sub>	0,06				0,03	0,08	0,15	0,22				
C <sub>12:0</sub>										0,01		
C <sub>14:0</sub>											0,09	0,07
C <sub>15:0</sub>										0,01	0,06	
C <sub>16:0</sub>	6,94	7,30	6,85	6,89	6,42	7,36	6,80	5,56	5,32	3,63	7,13	1,91
C <sub>16:1</sub>										0,05	0,12	1,08
C <sub>17:0</sub>	0,07										0,08	
C <sub>18:0</sub>	2,05	2,04	1,75	2,09	1,66	1,70	1,64	1,33	1,21	1,65	1,64	1,08
C <sub>18:1</sub>	25,70	24,13	26,82	27,62	27,76	22,22	25,17	19,23	16,32	7,25	11,53	23,87
C <sub>18:1</sub>	0,31	0,28		0,37	0,39	0,30	0,34	0,25	0,26	0,75	0,60	0,94
C <sub>18:2</sub>	62,65	64,05	62,26	60,44	61,13	65,02	62,98	47,26	47,44	69,26	33,90	56,87
γ-C <sub>18:3</sub>											3,87	3,19
α-C <sub>18:3</sub>	0,32	0,44	0,31	0,32	0,40	0,53	0,48	0,29	0,32	14,60	27,97	5,59
C <sub>20:0</sub>	1,15	1,05	1,03	1,20	1,11	1,28	1,14	0,82	0,71	0,95		0,13
C <sub>20:1</sub>	0,29	0,33	0,30	0,38	0,50	0,52	0,46	0,30	0,32	0,45		0,17
C <sub>22:0</sub>	0,23	0,24		0,17	0,25	0,14	0,23	0,11	0,17	0,10		0,54
C <sub>22:1</sub>			0,16									0,40

### Литература

1. Степанова, Л. И. Свойства жировых систем, выработанных на основе смесей растительных масел / Л. И. Степанова, Е. М. Мельников, Т. Г. Мальт // Масла и жиры. – 2002. – № 8. – С. 9.

2. Табакаева, О. В. Растительные масла с оптимизированным жирнокислотным составом / О. В. Табакаева, Т. К. Каленик // Масложировая промышленность. – 2007. – № 1. – С. 21–22.

3. Красильников, В. Н. Перспективы развития технологии жиров и масел / В. Н. Красильников // Масла и жиры. – 2008. – № 9. – С. 2–4.

4. О'Брайен, Р. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение / Р. О'Брайен. – СПб.: Профессия, 2007. – 752 с.

5. Жиры. Химический состав и экспертиза качества / О. Б. Рудаков [и др.]; под общ. ред. О. Б. Рудакова. – М.: ДеЛи принт, 2005. – 312 с.

6. Структура и динамика молекулярных систем: сб. ст. / ИФМК УНЦ РАН; редкол.: Е. С. Шиховцева [и др.]. – Уфа, 2006. – Вып. XIII, Ч. II. – 498 с.

7. Масла растительные. Метод определения жирнокислотного состава: ГОСТ 30418-96. – Введ. 01.01.98. – М.: Госстандарт, 1997. – 8 с.