

О. А. Гайдукевич, мл. науч. сотрудник; Е. Д. Скаковский, доцент; Л. Ю. Тычинская, вед. науч. сотрудник; А. Н. Кулакова, ассистент; С. А. Ламоткин, доцент

## АНАЛИЗ ЭКСТРАКТОВ ЗЕРНА ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР И МУКИ ИЗ НИХ МЕТОДОМ ЯМР

The fatty-acid composition of extracts of grains rye, wheat, oats, barley, corn and flour from them was investigated by the method of the  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR and gas chromatography. Was established, that the extracts of grain represent oils, and extracts of the flour both oil, and personal fatty acids. Was demonstrated, that along with triglycerides in the structure of oils are present sn-1,2 and sn-1,3 diglycerides, quantity which increases with increase of freeness value. Besides the extracts of the flour contained oxidates of non-saturated fatty acids.

**Введение.** Экстракты органическими растворителями зерна злаковых культур и муки из них содержат главным образом триглицериды жирных кислот. Наличие моно- и диглицеридов, а также свободных жирных кислот зависит от спелости зерна или свидетельствует о деструкции жиров (большой срок хранения, влияние температуры) [1]. Кроме того, в экстрактах присутствуют продукты окисления, фенольные соединения, витамины и другие минорные компоненты.

Масла злаковых культур имеют уникальный жирнокислотный состав и играют важную роль в пищевой промышленности. Так, кукурузное масло производится в значительных количествах для поставки в торговую сеть и представляет определенный интерес для детского и диетического питания [2].

Существуют данные о связи между качеством хлеба из пшеницы и соотношением свободных полярных и неполярных липидов [3], об эффективности масла овса как антиоксиданта [4]. Показано, что гликолипиды слабой пшеницы характеризуются большей степенью ненасыщенности жирнокислотного состава по сравнению с другими образцами пшеницы [5].

Масла злаковых культур применяются в медицине, так как вызывают снижение уровня холестерина в крови, оказывают защитное действие на нервную систему и способствуют заживлению эрозий и язв. Ретиноиды (производные витамина Е), которые содержатся в масле, улучшают зрение в сумерках и у работающих за компьютером.

Из анализа литературных данных следует, что жирнокислотный состав масел определяется чаще всего при помощи капиллярной газовой хроматографии. Для этого масла гидролизуют и переводят в метиловые эфиры, а для идентификации компонентов необходимы стандартные образцы. Спектроскопия ЯМР лишена этих недостатков.

**Основная часть.** Цель настоящей работы – анализ экстрактов зерна злаковых культур и муки из них методом  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопии, поскольку в этом случае воз-

можно без дополнительной пробоподготовки практически полно установить присутствие всех растворимых органических соединений.

Для исследования были взяты рожь, пшеница, овес, ячмень, кукуруза и мука из них различной степени помола. Экстракцию проводили гексаном, хлороформом и хлористым метиленом. Перед экстракцией зерна измельчали в агатовой ступке, а мука использовалась без предварительной обработки. После удаления растворителя для анализа методом ЯМР образцы растворялись в  $\text{CDCl}_3$ .

Запись спектров ЯМР проводилась на спектрометре AVANCE-500 с рабочей частотой 500 МГц для ядер  $^1\text{H}$  и 125 МГц для  $^{13}\text{C}$  в 5 мм стандартных ампулах. Химические сдвиги сигналов протонов соединений определяли по сигналу хлороформа ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\delta = 7,27$  м. д.), который присутствует в качестве примеси в дейтерированном растворителе. Спектры записывались в количественном режиме.

При регистрации спектров  $^{13}\text{C}$  в качестве реперного использовали сигнал растворителя ( $\delta = 77,7$  м. д.). При записи спектров учитывалась спин-решеточная релаксация и эффект Оверхаузера.

Для идентификации сигналов компонентов исследуемых смесей были записаны спектры  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР индивидуальных кислот: гексадекановой ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ , пальмитиновой – 1), октадекановой ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ , стеариновой – 2), *цис*-9-октадеценной ( $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ , олеиновой – 3), *цис*-9-*цис*-12-октадекадиеновой ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$ , линолевой – 4) и *цис*-9-*цис*-12-*цис*-15-октадекатриеновой ( $\text{C}_2\text{H}_5(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ ,  $\alpha$ -линоленовой – 5).

Необходимо отметить, что при помощи ЯМР сложно определить содержание глицеридов, насыщенных кислот, так как их сигналы накладываются друг на друга. Поэтому дополнительно мы использовали метод капиллярной газовой хроматографии, который легко решает эту задачу. Был использован газовый хроматограф HP 4890D с капиллярной колонкой с внутренним диаметром 0,32 мм, длиной 30 м, неподвижной жидкой фазой Innowax, снабженный пламенно-

ионизационным детектором. Для получения метиловых эфиров жирных кислот пробы экстрактов (2–3 капли) растворяли в 1,9 мл гексана и в этот же раствор вводили 0,1 мл 2 М раствора метилата натрия в абсолютном метаноле. После интенсивного перемешивания в течение 2 мин реакционную смесь отстаивали 5 мин и фильтровали через бумажный фильтр. Для анализа отбирали 0,1 мкл полученной смеси.

Определение содержания жирных кислот в экстракте проводилось сравнением со стандартным образцом смеси метиловых эфиров жирных кислот фирмы SUPELKO.

На рис. 1 приведена хроматограмма экстракта из зерна ржи. На основании сравнения со стандартным образцом идентифицировано 7 кислот. Нумерация соответствует приведенной в экспериментальной части и табл. 1, 2. Как видно, основными являются кислоты (1, 3–5). Хроматограммы остальных экстрактов подобны приведенной на рис. 1.

На рис. 2, а приведен  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр этого же экстракта. Спектр состоит из ряда мультиплетов ( $\delta$  м. д.): в области 4,25–4,45 – олефиновые протоны, 4,25 – метиновый протон глицерина, 4,10–4,35 – метиленовые протоны глицерина, 2,81 – метиленовые протоны между двойными связями (5), 2,78 – метиленовые протоны между двойными связями (4), 2,25–2,38 – метиленовые протоны рядом с карбоксильной группой всех кислот, 1,96–2,13 – метиленовые протоны около двойных связей всех ненасыщенных кислот, 1,55–1,66 – метиленовые протоны, расположенные через метиленовую группу от карбоксильной группы, 1,22–1,38 –

все остальные метиленовые группы, 0,98 – метильные протоны (5), 0,85–0,95 – все остальные метильные группы.

Усиленная область 3,38–4,96 м. д. этого же спектра приведена на рис. 2, б. Здесь наряду с метиленовыми протонами глицерина наблюдается метиленовый дублет  $\delta = 3,73$  м. д. ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ) *sn*-1,2-диглицеридов и слабые сигналы с  $\delta \sim 4,00$  м. д. ( $\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{R}$ ) *sn*-1,3-диглицеридов. Причем содержание первых составляет ~4%, а вторых ~1%. Такое соотношение диглицеридов свидетельствует о том, что рожь недавно убрана с полей [1]. Необходимо отметить, что содержание диглицеридов в экстрактах пшеницы, овса и ячменя находилось в этих же пределах, а в кукурузном масле «Каролина», произведенном ООО «ПроРост-Ма» (Россия, г. Санкт-Петербург), *sn*-1,2-диглицеридов было только ~2% при неизменном количестве *sn*-1,3-диглицеридов. Причиной этому может быть либо обработка масла, в результате которой уменьшилось содержание *sn*-1,2-диглицеридов, либо достаточно долгий срок хранения. Интересные особенности наблюдаются при анализе экстрактов муки из зерна злаковых культур. На рис. 2, в показан спектр  $^1\text{H}$  ЯМР хлороформенного раствора экстракта муки ржи. Как видно, рис. 2, в и рис. 2, а похожи, за исключением того, что на рис. 2, в практически отсутствуют сигналы протонов глицерина. Следовательно, последний экстракт представляет собой набор жирных кислот такого же состава, как и в глицеридах. Количественный анализ показал, что содержание глицеридов в этом экстракте составляет всего 13%.

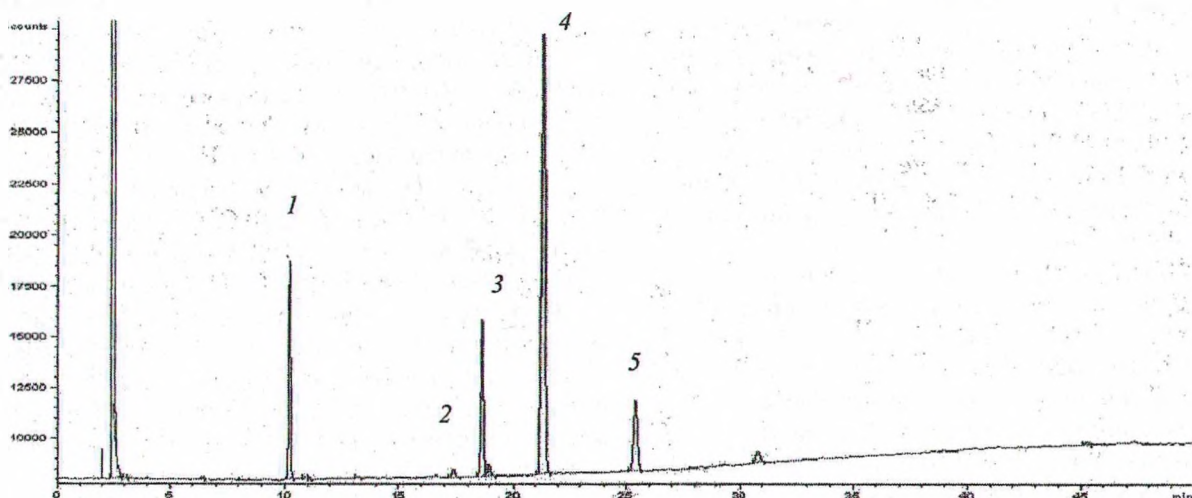


Рис. 1. Хроматограмма экстракта ржи

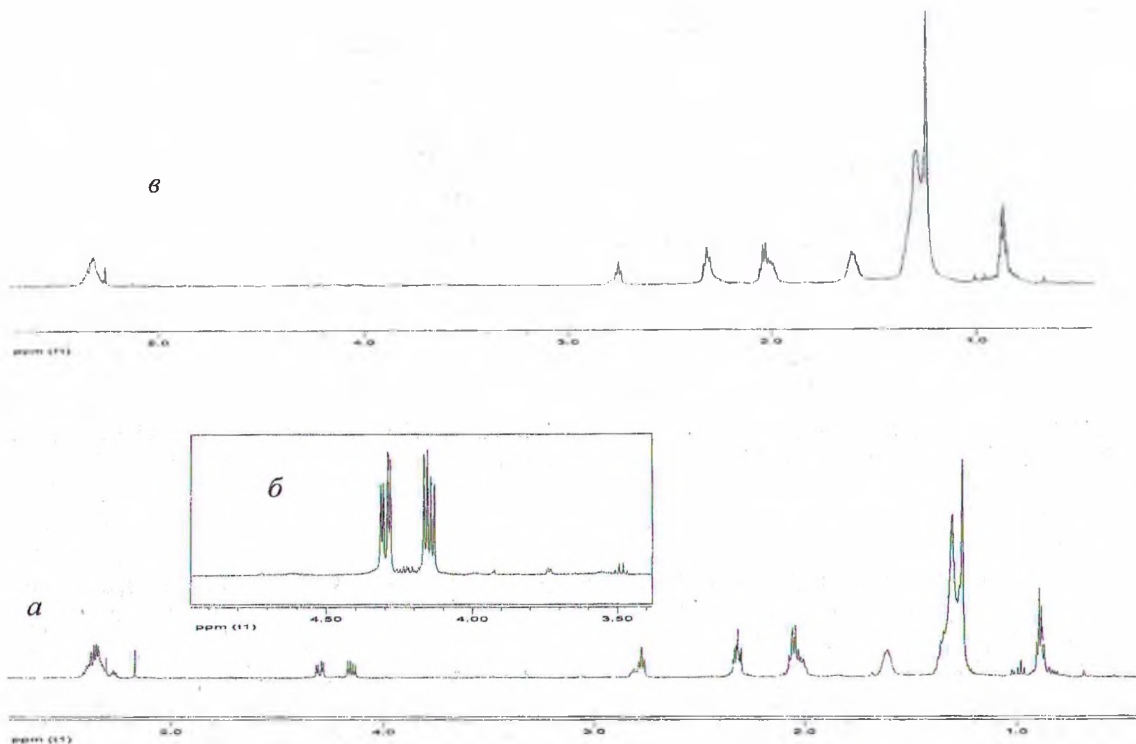


Рис. 2.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектры растворов в  $\text{CDCl}_3$  масла, экстрагированного из зерна ржи (а, б) и ржаной муки (в)

Нами исследовались экстракты муки пшеничной и муки пшеничной отрубной. Результаты анализа показали, что в первом случае экстракт содержит 78% глиcerидов, а во втором – 67%. Однако в муке большей степени помола содержалось ~13% sn-1,2-диглицеридов и ~7% sn-1,3-диглицеридов, а в отрубной только ~9% sn-1,2-диглицеридов и ~2% sn-1,3-диглицеридов. Кроме того, мы анализировали экстракт из овсяных хлопьев. Результаты анализа показали, что экстракты из зерна овса и овсяных хлопьев практически не отличаются.

Таким образом, в случае механического воздействия на зерно злаковых мы имеем дело с деструкцией триглицеридов либо в результате механохимии, либо, что более вероятно, из-за повышения активности ферментов, ответственных за разложение триглицеридов. Решение этого вопроса требует проведения дополнительных исследований.

Для решения задачи о жирнокислотном составе удобно использовать спектроскопию  $^{13}\text{C}$  ЯМР. На рис. 3, а показан спектр раствора в  $\text{CDCl}_3$  экстракта пшеничной муки. Спектр состоит из ряда линий, принадлежащих соответствующим атомам С углерода  $\delta$  м. д.: 172–180 – карбоксильные атомы С (причем при 172–175 относятся к глицеридам, а при 180 – к свободным кислотам), 125–135 – олефиновые атомы С, 60–75 – метиленовые и метиновые углеродные атомы триглицеридов и sn-1,2- и sn-1,3-диглицеридов, 22–36 – метиленовые углероды

всех кислот и 14–15 – углеродные атомы метильных групп. Рис. 3, б представляет область олефиновых углеродов того же экстракта. Цифрами пронумерованы сигналы соответствующих кислот. Видно, что количество групп сигналов соответствует количеству углеродных атомов двойных связей, так (3) – 2, (4) – 4, а (5) – 6. Причем некоторые сигналы дают дублет с соотношением 2 : 1, что соответствует стехиометрическому отношению ацильных групп в триглицериде.

В заключение мы приводим таблицу (табл. 1) содержания жирных кислот в экстрактах зерна злаковых культур, определенно методами ЯМР и газовой хроматографии (в скобках). Из таблицы видно, что оба метода дают похожие результаты, а главными кислотами в составе экстрактов являются 1, 3, 4.

Кроме того, методом газовой хроматографии было установлено, что транс-изомеры представлены элаидиновой кислотой, содержание которой в экстрактах колебалось от 0,5 до 1,3%. Были обнаружены арахидиновая (0,1–1%), гондоиновая (0,3–1,6%) и эруковая (0,3–0,7%) кислоты. Дополнительно метод ЯМР показал, что экстракты муки содержат также продукты окисления ненасыщенных жирных кислот.

Жирнокислотный состав экстрактов муки приведен в табл. 2. Из сравнения таблиц видно, что экстракты зерна и муки из зерна того же вида различаются незначительно, хотя взяты из разных источников.

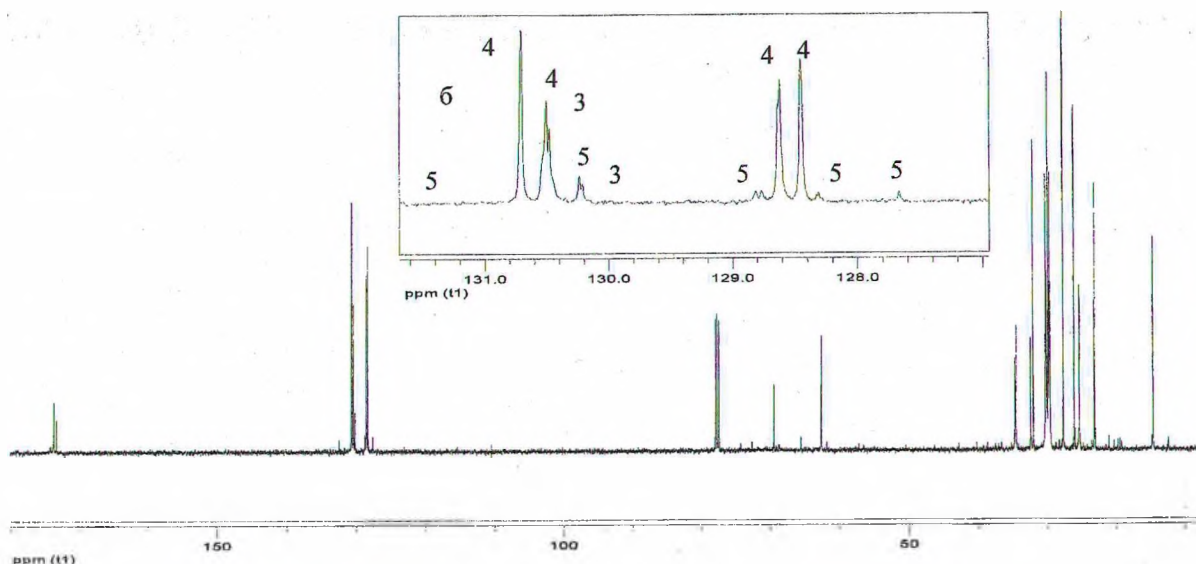


Рис. 3.  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектр раствора в  $\text{CDCl}_3$  масла, экстрагированного из пшеничной муки

Таблица 1

Жирнокислотный состав экстрактов гексаном семян злаковых

№	Кислота	Рожь	Пшеница	Овес	Ячмень	Кукуруза
1	Пальмитиновая	13 (13,1)	14 (15,8)	17 (16,6)	21 (20,4)	12 (10,2)
2	Стеариновая	1 (0,8)	1 (1,3)	2 (1,8)	1 (1,0)	3 (2,2)
3	Олеиновая	18 (19,3)	19 (17,7)	35 (35,9)	16 (16,8)	27 (29,2)
4	Линолевая	54 (53,4)	58 (57,7)	39 (40,2)	51 (52,3)	55 (55,8)
5	$\alpha$ -Линоленовая	8 (9,1)	4 (3,7)	2 (1,4)	6 (6,1)	1 (0,7)

Таблица 2

Жирнокислотный состав экстрактов гексаном муки из семян злаковых

№	Кислота	Мука ржаная	Мука пшеничная отрубная	Мука пшеничная	Овсяные хлопья
1	Пальмитиновая	15 (17,0)	14 (15,2)	17 (16,7)	17 (16,3)
2	Стеариновая	1 (1,0)	1 (0,9)	1 (1,0)	2 (1,4)
3	Олеиновая	22 (19,9)	16 (16,3)	14 (15,1)	36 (37,6)
4	Линолевая	56 (56,7)	62 (59,6)	61 (61,2)	39 (38,9)
5	$\alpha$ -Линоленовая	5 (5,3)	5 (4,9)	4 (3,5)	1 (1,3)

Содержание других кислот, обнаруженных в экстрактах зерна злаковых и не приведенных в таблицах, также незначительно отличается друг от друга. Следовательно, в отличие от триглицеридов, сами жирные кислоты не подвержены разложению в процессе размола зерна.

**Заключение.** Таким образом, проведенные исследования показали, что метод  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии может быть использован для анализа экстрактов зерна злаковых культур, при этом он позволяет определять одновременно три- и диглицериды, а также жирные кислоты и продукты их окисления.

Литература

1. Sacchi, R.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR of virgin olive oil. An Overview / R. Sacchi, F. Addeo,

L. Paolillo // Magn. Res. Chim. – 1997. – V. 35. – P. 133–145.

2. Жиры. Химический состав и экспертиза качества / О. Б. Рудаков [и др.]. – М.: Наука, 2005. – 312 с.

3. Investigation of the relationship between wheat lipids and baking properties / E. M. Karpati [et al.] // Acta alim. – 1990. – V. 19, № 3. – P. 237–260.

4. Antioxidative effects of oat oil and its fractions / P. Forsell [et al.] // Fett. Wiss. Technol. – 1990. – V. 92, № 8. – P. 318–312.

5. Хроматографическое исследование гликолипидов пшеницы / У. Т. Жуманова [и др.] // Применение хроматограмм в пищ. микробиол. и мед. промышленности: материалы Всерос. конф., Геленджик, 1990. – М., 1990. – С. 25–26.