

Кіщенко В.А.

ВИЗНАЧЕННЯ ВОСКУ І ВОСКОПОДІБНИХ СПОЛУК МЕТОДОМ ВИСОКОТЕМПЕРАТУРНОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Вступ

Присутність воскоподібних сполук в рослинних оліях обумовлює ступінь їхньої прозорості. Через близьку з ацилгліцеридами густину воску довгий час знаходяться у стані суспензії, що надає олії каламутності та погіршує органолептичні показники готової продукції. Воскоподібним сполукам в олії притаманна певна стійкість, що створює труднощі під час їх видалення. Стандартизовані методи визначення неомилювальних речовин, до яких належать і воски, які діють на цей час в Україні та інших країнах, відрізняються між собою застосованими розчинниками, умовами промивання екстракту та ін.

Різні сполуки, що містяться в жирах поряд з триацилгліцеридами жирних кислот, можна розподілити на дві групи. Одні з них називають домішками, а інші сполуками, що супутні триацилгліцеридам жирів. Речовини цієї групи завжди містяться в нерафінованих оліях і жирах, тому що є складовими частинами клітин відповідних жирових тканин. При виділенні з тканин жир ацилгліцериди захоплюють багато компонентів клітин. Супутніх сполук дуже багато. Однак вміст їх у жирах невеликий: в рослинних оліях і жирах близько 3–4 %, а в жирах наземних тварин в декілька разів менше. Одними з супутніх речовин є воски і воскоподібні сполуки.

Мета роботи дослідження воску і воскоподібних сполук в соняшниковій олії методом високотемпературної газорідної хроматографії. Розробити метод контролю щодо визначення вмісту восків у рослинних оліях.

Виклад основного матеріалу

Восками називають ліпіди, основою яких є складні ефіри вищих спиртів та вищих жирних кислот. Натуральні воски являють собою суміш складних ефірів вищих спиртів та жирних кислот. Одночасно вони можуть містити у вільному стані спирти та кислоти.

Значна частина восків це тверді, пружнопластичні, іноді за кімнатної температури навіть крихкі речовини. Дуже небагато восків мають за кімнатної температури рідку консистенцію.

В рослинах воски зустрічаються особливо часто. Вони покривають у вигляді тонкого нальоту або плівки стовбури, листя та плоди рослин. На листях деяких пальм шар воску досягає товщини 3–5 мм та може бути джерелом промислового видобування.

Воски нерозчинні у воді та не змочуються нею, а достатньо товсті шари їх паронепроникні. Цими фізичними властивостями обумовлена локалізація восків на поверхні окремих частин рослин, де вони захищають їх від втрати вологи та механічних пошкоджень.

Тверді воски, за деякими виключеннями, важко розчинні в багатьох розчинниках. Розчинення їх відбувається тільки при нагріванні. Рідкі воски, що входять до складу жирів деяких морських тварин, наприклад спермацетове масло, легко розчиняються у звичайних розчинниках жирів [1,2].

З рослинних восків відомі: карнаубський віск, що добувається з листя бразильської пальми *Copernicia cerifera*, канделільський та ін.

Карнаубський віск – це тверда, ламка маса, що розтирається в порошок. Колір від сірувато-жовтого до зеленувато-жовтого, іноді темно-коричневий.

Карнаубський віск складається з ефірів головним чином насичених вищих жирних кислот, що містять в молекулі 24 та більше атомів вуглецю (карнаубова, церотинова кислоти), зі спиртами цериловим та мелісиловим.

Жирних кислот у воску близько 48% мас., неомилюємих – до 55 %мас.

В соняшниковій олії воски є завдяки тому, що переходять з насінневої оболонки в процесі видалення олії. Кажучи про вміст восків в різних соняшникових оліях одні автори для суміші форпресової та екстракційної олії називають 0,14 %, інші – 0,02 %; для пресової олії наводиться цифра 0,03 %, для форпресової 0,05–0,10 % та для екстракційної – 0,10–0,15 %.

Дані про жирнокислотний склад восків та про можливий вміст їх в плодовій оболонці також не однакові. За Кауфманом, до складу восків соняшникової олії входять арахінова (43,9 %), бегенова (26,6 %), лігноцеринова (10,3 %), церотинова (8,2 %) та октокозанова (11,0 %) кислоти. За даними Гійоме та Друе, воски соняшникових олій містять міристинову (3,3 %), пальмітинову (7,1 %), олеїнову (3,1 %), стеаринову (5,1 %), лінолеву (18,1 %), арахісову (33,6 %), бегенову (15,0 %), лігноцеринову (5,8 %), церотинову (2,6 %), наонадецилову (1,8 %), медуллінову (0,5 %) та ізомедуллінову (0,7 %) кислоти. Хагоні та Переді виявили у восках пальмітинову та олеїнову (41 %), стеаринову (8,7 %), лінолеву (24,6 %), арахісову (4,5 %), бегенову (4,7 %) та церотинову (16,5 %) кислоти.

У ВНДІЖ було досліджено вміст восків в ліпідах ядра, лузги та плівки високоолійного насіння соняшника. Вміст воскоподібних речовин складав для лузги 0,42–

0,46 %, плівки – 1,0 % та ядра – близько 0,002 %. Таким чином, прийнявши загальний вміст воскоподібних речовин за 100 %, джерела накопичення восків в олії можна характеризувати приблизними цифрами: лузга близько 83 %, плівка близько 16 %, ядро близько 1 % [3,4,5].

В таблиці 1 наведені результати порівняльних визначень жирнокислотного складу восків.

Таблиця 1 – Жирнокислотний склад восків

Кислоти	Вміст кислот в їх суміші, % мас.		
	Ліпіди ядра	Ліпіди плівки	Ліпіди лузги
Пальмітинова	7,5	15,1	20,3
Стеаринова	4,6	7,2	13,5
Олеїнова	25,5	36,4	24,5
Лінолева	61,8	40,1	12,1
Арахінова	сліди	сліди	17,5
Бегенова	0,6	1,1	7,4
Лігноцеринова	сліди	сліди	4,7

Ліпіди плівки містять майже в 2 рази більше пальмітинової та стеаринової кислот і в 1,4 рази олеїнової кислоти в порівнянні з ліпідами ядра, але в 1,4 раза менше лінолевої кислоти. В ліпідах лузги міститься значно більше пальмітинової та

стеаринової кислот в порівнянні з ліпідами плівки і значно менше олеїнової та лінолевої кислот. Очевидно, ліпіди насінневої оболонки за жирнокислотним складом займають проміжне місце між ліпідами ядра та плодової оболонки.

До тваринних восків належать бджолиний, що виділяється восковими залозами бджіл, вовняний, що накопичується у великій кількості у вовні овець, спермацетове масло та спермацет, що видобуваються з жиру, який знаходиться в черепній коробці та туші кашалота. Бджолиний віск отримують витоплюванням або екстракцією з бджолиних сот після видалення з них меду. Колір сирого бджолиного воску від світло-жовтого до коричнево-червоного, запах приємний медовий. При кімнатній температурі віск твердий, в'язкий, при охолодженні стає ламким, при нагріванні – пластичним.

Бджолиний віск у воді не розчиняється. На холоді дуже мало розчинний в етанолі. При кип'ятінні в етанолі розчиняються головним чином вільні жирні кислоти та забарвлюючі речовини, що містяться у воску. Віск повністю розчиняється при нагріванні в аліловому спирті, ацетоні, хлороформі, бензолі, бензині, в жирах. Важко гідролізується спиртовим розчином гідроксиду калію. Кислотне число воску знаходиться в межах 16–24 мг КОН/г. Вміст у воску спиртів близько 38–40 % мас. До їх складу належать спирти: неоцероловий, цериловий, монтаніловий, мірициловий та переважно мелісиловий. До складу жирних кислот бджолиного воску входять пальмітинова, церотинова, монтанова, мелісинова та неоцеротилова кислоти.

Якісні показники соняшникового воску у порівнянні з показниками бджолиного та карнаубського восків наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Показники якості восків

Показники	Віск		
	соняшниковий	карнаубський	бджолиний
Кислотне число, мг КОН/г	1,72–1,98	1,0–8,0	20,0–23,0
Число омилення, мг КОН/г	98,1	78,0–86,0	96,0–107,0
Ефірне число, мг КОН/г	96,11	–	–
Йодне число, % J ₂	0,76–1,04	9,0–13,0	7,0–10,0
Неомилені речовини, %	63,0–65,0	53,0–55,0	50,0–52,0
Температура плавлення, °С	77,0–79,0	82,0–84,0	63,0–64,0
Густина при 15 °С, г/см ³	0,9355	0,9900	0,9600

На основі даних цієї таблиці можна зробити висновок, що віск з соняшникової олії містить найменшу кількість вільних жирних кислот, має низьке йодне число та високе ефірне число, що свідчить про достатню ступінь його чистоти. За температурою плавлення він наближається до карнаубського воску.

Воск і воскоподібні сполуки вилучали з соняшникової олії за допомогою колонкової хроматографії з використанням набивних колонок із силікагелем. Визначали воскоподібні сполуки методом капілярної газової хроматографії з внутрішнім стандартом (гексатриоктаном), який завчасно додавали до рослинної олії.

Склад підготовлених проб досліджували методом високотемпературної газорідної хроматографії (ГРХ). Для обробки експериментальних даних застосовано програмні пакети Galaxie, Agilent Technologies Chemstation, Microsoft Office Excel.

Хроматографічне визначення восків проведено на газовому хроматографі СР 3800 виробництва фірми Varian.

Детектор полум'яно-іонізаційний (ПД): температура – 420 °С; потік водню – 30 мл/хв; потік повітря – 350 мл/хв; допоміжний потік – 20 мл/хв; допоміжний газ-носій – азот. Об'єм введеної проби – 1,5–3,0 мкл.

Капілярна колонка VF-5HT з нерухомою неполярною фазою – (5 %-феніл)-диметилполісилоксаном: довжина 15 м, діаметр 0,32 мм, товщина плівки 0,1 мкм, високотемпературна (максимальна температура – 400 °С).

Температурний режим термостата колонки

швидкість (°С /хв.)	температура, °С	час, хв.
початкова	170	1,0
б	380	20

Інжекційна система з діленням потоку (*split*): температура – 410 °С; коефіцієнт ділення потоку (*split ratio*) – 1:100.

Воскоподібні речовини виділяли за допомогою колонкової хроматографії із застосуванням набивних колонок із силікагелем. Визначали воскоподібні речовини за допомогою капілярної газової хроматографії з внутрішнім стандартом, який перед тим додавали до олії. В якості внутрішнього стандарту використано гексатриоктан (парафін С₃₆). При приготуванні зразка до дослідження пробу олії нагрівали до 130 °С, розмішували її, щоб повністю розчинилися кристали воску. Зважують наважку олії від 4,0 г до 4,5 г олії, додають 3 см³ внутрішнього стандарту і розбавляють отриману суміш 10 см³ розчинником н-гексану з хлороформом у співвідношенні 90:10. Розмішують до отримання однорідного розчину. Наносять 2 см³ цього розчину в колонку.

Для промивання колонки використано 160 см³ розчинника н-гексану у хлороформі у співвідношенні 7:3. Перші 10–15 хв промивають колонку повільно (1 крапля за секунду), потім можна швидше. Процес фільтрування крізь колонку триває 1,5 год. Фільтрат збирають у велику ротаційну колбу місткістю 250 см³. Перед використанням колбу обполіскують невеликими порціями хлороформу.

Відганяють суміш гексану з хлороформом на ротаційному випарнику за температури 60 °С та вакуумі до сухого залишку. З великої ротаційної колби вміст кількісно переносять хлороформом у маленьку колбу для відгонки, заздалегідь промиту хлороформом. Отриманий розчин знову відганяють (до залишку від 0,1 см³ до 2 см³) і перерозчиняють у 1 см³ хлороформу.

Аналіз воскоподібних речовин проводили на газовому хроматографі.

НР 6890 фірми *HEWLETT PACKARD*, для хроматографічного розділення використовується високотемпературна капілярна колонка VF-5HT, довжиною 15 м, з внутрішнім діаметром 0,32 мм і товщиною плівки фази 0.1 мкм. Хроматограми наведено на рис. 1–4.

Виявлено (рис. 2–4), що повністю вилучити воски з олії технологічно неможливо. Експериментально підтверджено, що кількість восків в рослинних оліях коливається в межах від 10 до 30 мг/кг (рис. 3–4). Такий вміст восків у соняшниковій олії не впливає на її якість (прозорість, каламутність).

Висновок

Ефективним методом визначення восків і воскоподібних сполук є метод ГРХ з високотемпературною колонкою.

Розроблено методику якісного і кількісного визначення восків в оліях методом ГРХ. Встановлено технологічні умови ГРХ для визначення восків, а саме: градієнтне програмування температури, температура інжектора та детектора. Методика включена до державного стандарту України «Олії. Методи визначення воскоподібних речовин».

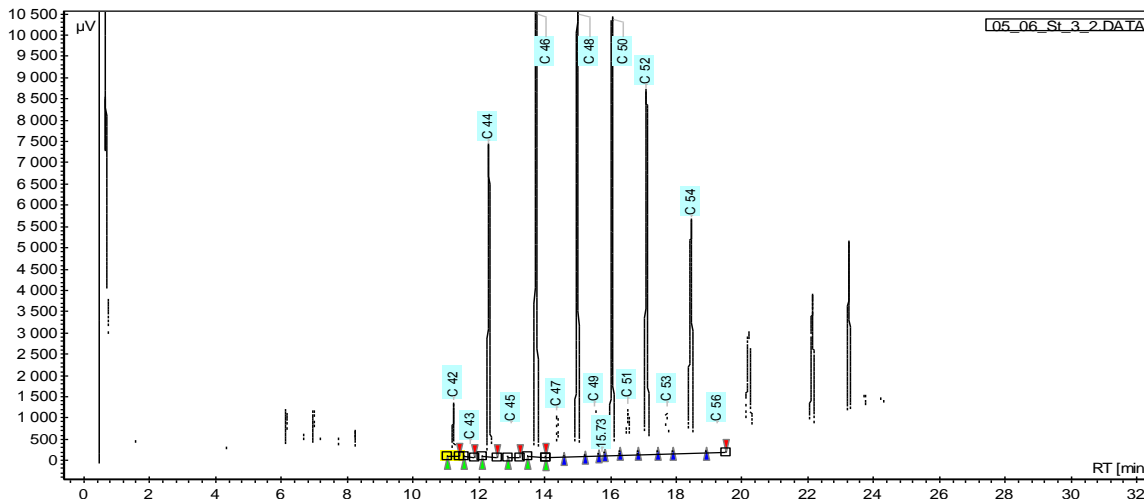


Рисунок 1 – Хроматограма стандарту воску соняшникового

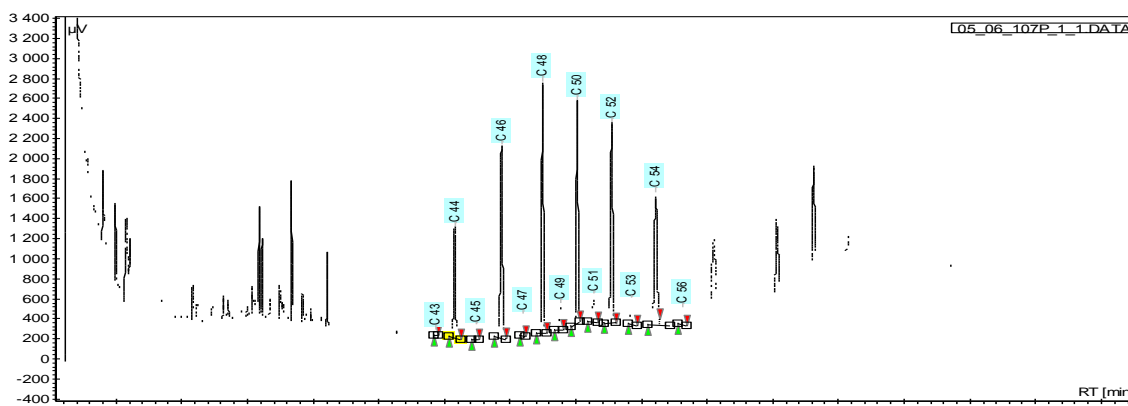


Рисунок 2 – Хроматограма воску з олії соняшкової (без видалення восків)

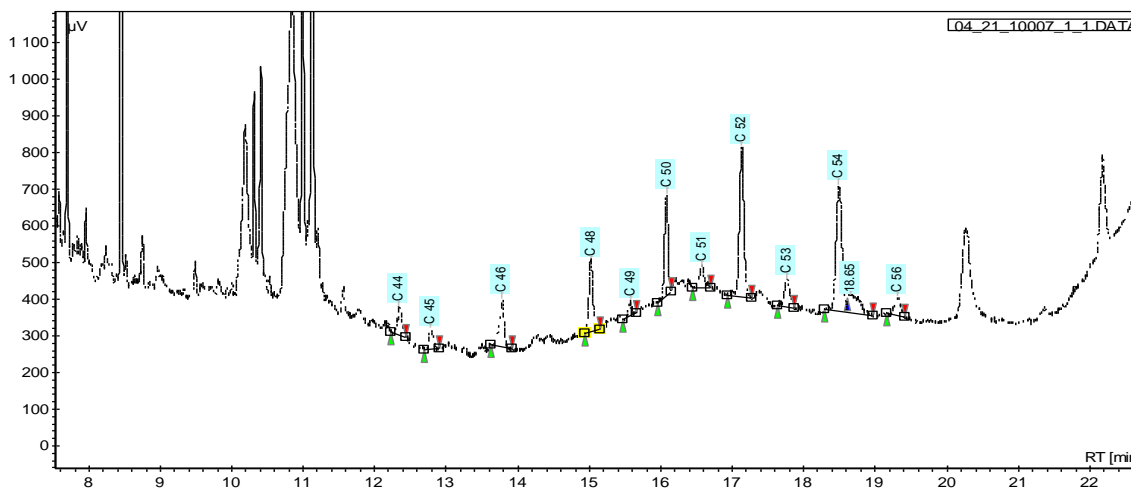


Рисунок 3 – Хроматограма восків з олії соняшкової з низьким вмістом восків

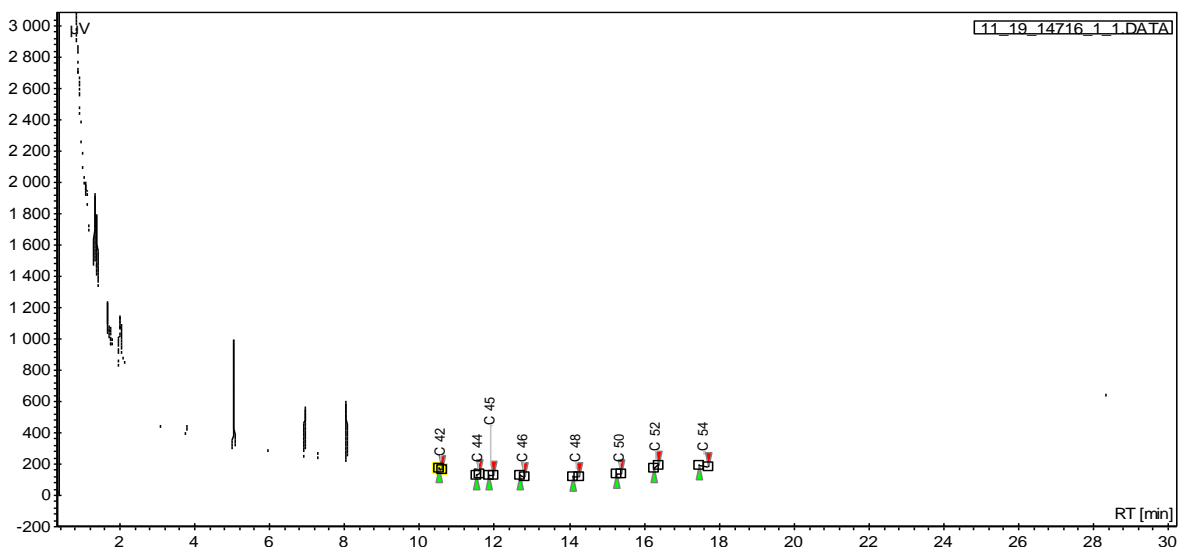


Рисунок 4 – Хроматограма восків з олії соняшникової з дуже низьким вмістом восків

Література

1. Осейко М. І. Технологія рослинних олій : [підручник] / Осейко М. І. – К. : Варта, 2006. – 280 с.
2. Олії та жири: склад, методи одержання, якість / М. Осейко, А. Українець, С. Усатюк [та ін.] // Харчова і переробна промисловість. – 2004. – №5. – С. 17–19.
3. Технология переработки жиров / [Н.С. Арутюнян, Е.П. Корнена, Л.И. Янова [и др.]; под ред. Н.С. Арутюняна. – [3-е изд.] – М.: Пищепромиздат, 1999. – 452 с.
4. Лисицин А.Н. Масложировые технологии: теория, практика, перспективы / А.Н. Лисицин, В.Н. Григорьева // Масложировая промышленность. – 2002. – №3. – С. 8–11.
5. О'Брайен Р. Жиры и масла. Производство, состав и свойства, применение / Р. О'Брайен; пер. с англ. 2-го изд. В.Д. Широкова, Д.А. Бабейкиной, Н.С. Селивановой, Н.В. Магды. – С.Пб.: Профессия. – 2007. – 751 с.

Bibliography (transliterated)

1. Oseyko M.I. Tehnologiya roslinnih oliy : [pIdruchnik] Oseyko M.I. – K. : Varta, 2006. – 280 p.
2. Oliyi ta zhiri: sklad, metodi oderzhannya, yakist M. Oseyko, A. UkraYinets, S. Usatyuk [ta in.] /Harchova i pererobna promislovist. – 2004. – #5. – P. 17–19.
3. Tehnologiya pererabotki zhirov [N.S. Arutyunyan, E.P. Kornena, L.I. Yanova [i dr.]; pod red. N.S. Arutyunyana. – [3-e izd.] – M.: Pischepromizdat, 1999. – 452 p.
4. Lisitsin A.N. Maslozhirovyie tehnologii: teoriya, praktika, perspektivy /A.N. Lisitsin, V.N. Grigoreva Maslozhirovaya promyishlennost. – 2002. – #3. – P. 8–11.

5. O'Brayen R. Zhiryi i masla. Proizvodstvo, sostav i svoystva, primenenie / R. O'Brayen; per. s angl. 2-go izd. V.D. Shirokova, D.A. Babeykinoy, N.S. Selivanovoy, N.V. Magdyi. – S.Pb.: Professiya. – 2007. – 751 p.

УДК 664:665.1/7:539:542/543

Кіщенко В.А.

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОСКОВ И ВОСКОПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ
МЕТОДОМ ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

В статье изложены результаты исследований содержания восков и воскоподобных веществ в подсолнечном масле методом газожидкостной хроматографии с использованием высокотемпературной колонки. Изложено методику выделения восков с методом колоночной хроматографии с использованием набивных колонок с силикагелем.

Kishchenko V.A.

**DETERMINFTION OF WAXES AND WAX-LIKE COMPOUNDS
BY MEAN HIGH-TEMPERATURE CHROMATOGRAPHY**

In the article the results of studies of wax and wax-like compounds content in sunflower seed oil be mean gas-liquid chromatography with using high-temperature column are presented. The method of extraction of waxes with using of column's chromatography on the silicagel stuffed columns.