

Ф.О. Чмиленко, Н.П. Мінаєва, Л.П. Сидорова

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ РОСЛИННИХ ОЛІЙ

Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара

Запропонована хроматографічна методика ідентифікації рослинних олій з використанням високоефективних капілярних колонок з надзвичайно полярною ціанополісилоксановою нерухомою фазою, підібраний режим хроматографування, що дозволило розділити більшу кількість жирних кислот та їх ізомерів. Здійснене оцінювання якості 20 зразків рослинних олій за фізико-хімічними показниками.

В наш час дуже поширена фальсифікація рослинних олій. Існує декілька видів їх фальсифікації. Пересортиця рослинних олій широко поширена, дуже часто підміняють високоочищені рослинні олії неочищеними і навіть технічними видами. Це може спричинити серйозні наслідки для організму людини. Є види рослинних олій, які без рафінації використовувати в їжу взагалі не можна, оскільки вони містять різні отруйні речовини. Ще одним способом фальсифікації є підміна більш високовартісних видів олій низьковартісними. Існує небезпека, що в рослинній олії, одержаній з насіння, що не пройшло якісне очищення, можуть виявитися шкідливі домішки, які надають оліям гіркового, смолянистого присмаку. Зустрічається і більш груба фальсифікація, коли олії, призначені тільки для технічних цілей, реалізуються як харчові. Враховуючи все це, потрібно здійснювати ідентифікацію рослинних олій.

Оцінювання якості рослинних олій здійснюється за органолептичними та фізико-хімічними показниками [1]. Сировинну приналежність рослинних олій можливо встановити за комплексом органолептичних характеристик, фізичних показників, якісних реакцій і жирнокислотного складу. Головним критерієм ідентифікації, оцінювання споживчих властивостей і біологічної цінності рослинних олій є їх жирнокислотний склад. Близько 75% рослинних жирів становлять гліцериди всього трьох кислот – пальмітинової, олеїнової і лінолевої. Жири деяких рослин містять специфічні, характерні лише для них жирні кислоти [2]. Виконують аналіз і за отриманими результатами (наприклад, вміст лінолевої або олеїнової кислот), встановлюють приналежність досліджуваної продукції до однієї з груп, в які об'єднані за своїм складом рослинні олії.

За відповідною групою продукції знаходять аналогічний жирнокислотний склад або порівнюють результати його вимірювання дослі-

джуваної олієжирової продукції з жирнокислотним складом продукції того ж найменування [3]. Розділення ліпідів в ВЕРХ можна виконувати без попередньої пробопідготовки та омилення ліпідів, використовуючи варіант з оберненими фазами (ОФ) та неполярними розчинниками [4]. Концентрація розраховується за способом стандартів [5]. Дослідити склад насичених та ненасичених жирних кислот, тригліцеридів рослинних олій можна за допомогою хромато-мас-спектрометрії. Ідентифікація сполук здійснювалася порівнянням мас-спектрів сполук з бібліотечними. Кількісні дані щодо вмісту компонентів отримані, виходячи з площ піків на хроматограмі за молекулярними іонами [6].

На підставі експериментальних даних, отриманих при дослідженні ЯМ-релаксаційних характеристик протонів оливкових олій були сформульовані умови для ідентифікації оливкових олій. Метод пропонується застосовувати і для інших рослинних олій [7–9]. Відома методика ідентифікації рослинних олій і олійних екстрактів за допомогою ТШХ за кількістю хроматографічних зон з певними значеннями величин рухливості. При дослідженні розчинів рослинних олій в хлороформі методом тонкошарової хроматографії зафіксовано, що хроматографічний профіль різних олій відрізняється один від одного [10–12].

УФ-спектрофотометрія – перспективний метод для контролю якості рослинних олій. Наявність в рослинних оліях таких біологічно активних речовин, як токофероли, фосфоліпіди, фітостерини, поліненасичені жирні кислоти та інших, обумовлюють поглинання електромагнітного випромінювання в УФ-області. Були отримані спектри поглинання спиртових розчинів досліджуваних рослинних олій в інтервалі довжин хвиль 190–380 нм. УФ-спектри рослинних олій мають невелике плече в діапазоні довжин хвиль 215–230 нм, та другий максимум при  $\lambda=260\pm 2$  нм [13]. Кожна рослинна олія має

Органолептичні та фізико-хімічні показники деяких рослинних олій

Нормовані показники	Види рослинних олій					
	ріпакова	кукурудзяна	гірчична	грецького горіха	пальмова	
Колір	Темно-жовтий	Світло-жовтий	Жовтий	Темно-жовтий	Зелено-жовтий	
Аромат	Неприємний	Слабкий аромат насіння	З трав'яними нотками	Неприємний	Практично не відчувається	
Кислотне число:	знайдене за ДСТУ	2,15±0,04	0,35±0,04	1,10±0,04	3,80±0,06	0,15±0,02
		2,10–2,27	<0,40	<1,5	≈4,0	<0,20
Йодне число:	знайдене за ДСТУ	99,48±2,58	120,76±2,71	112,21±2,50	151,05±2,48	54,91±2,80
		95–106	117–123	92–123	140–162	51–57
Число омилення:	знайдене за ДСТУ	176,69±3,73	191,21±2,65	175,12±2,49	193,65±3,97	202,32±3,90
		170–179	188–193	170–183	182–200	196–210
Вміст ВЛД, г:	знайдене за ДСТУ	0,20±0,02	0,08±0,01	0,05±0,02	0,10±0,02	0,07±0,01
		<0,30	<0,10	<0,10	<0,20	<0,10
Показник заломлення:	знайдене за ДСТУ	1,474±0,004	1,472±0,006	1,019±0,008	1,483±0,002	1,459±0,002
		1,472–1,476	1,471–1,473	1,012–1,035	1,478–1,485	1,454–1,545
Густина, кг/м <sup>3</sup> :	знайдене за ДСТУ	923,95±7,57	925,21±6,29	914,86±5,12	927,69±5,06	924,78±6,47
		914–927	921–928	912–916	925–930	924
Кольорове число, мг I <sub>2</sub> :	знайдене за ДСТУ	98,64±2,65	100,28±4,98	80,36±3,73	45,78±3,75	15,69±2,67
		95–106	100	<90	45	15

власні специфічні параметри, за якими також можливо виконувати ідентифікацію (наприклад, ерукова кислота в ріпаковій олії) [14,15].

#### Мета даної роботи

Розробка експресних методик для оцінювання якості рослинних олій та їх ідентифікації.

#### Експериментальна частина

Для аналізу було вибрано 20 рослинних олій. Оцінювання якості рослинних олій визначали за органолептичними та фізико-хімічними показниками: кислотне число (КЧ), йодне число (ЙЧ), число омилення (ЧО), вміст вологи та легких домішок (ВЛД), показник заломлення ( $n_D^{20}$ ), густина ( $\rho$ ), кольорове число (КолЧ) [16–23]. Результати отриманих даних деяких рослинних олій (кукурудзяна, гірчична, ріпакова, олія грецького горіха та пальмова) занесені в табл. 1.

*Ідентифікація рослинних олій методом тонкошарової хроматографії*

В Європейській фармакопеї описаний простий, доступний та експресний спосіб ідентифікації деяких рослинних олій методом тонкошарової хроматографії, в якому отримують хроматограми з плямами, розташування, розмір та величина коефіцієнта розділення  $R_f$  яких притаманна лише певному виду рослинної олії.

Відомий типовий вигляд деяких хроматограм найбільш розповсюджених рослинних олій, які використовуються в харчовій та фармацевтичній промисловості [24].

Нами запропоновано використання 10% розчину фосфорномолібденової кислоти, що є неспецифічним проявником, але дозволяє визначити всі компоненти, які розділяються. При цьому плями отримувались більш яскраві та чіткі ніж при використанні 5% або 15%.

В якості рухомої фази в роботі було запропоновано суміш етанол:вода, на відміну від запропонованих [10–12], що сприяє більш повному розділенню та виділенню компонентів рослинних олій. Після проявлення отримували пластинки жовто-зеленого кольору з синьо-зеленими плямами. Хроматографічний профіль аналізованих олій відрізнявся один від одного за рахунок різних значень величин коефіцієнта  $R_f$  та кількості плям на отриманих хроматограмах (табл. 2).

Таблиця 2

Хроматографічний профіль деяких рослинних олій

РО	$R_f$ плям на хроматограмах					
	1	2	3	4	5	6
Ріпакова	0,11	0,27	0,37	0,49	0,52	–
Кукурудзяна	0,17	0,27	0,41	0,64	0,77	–
Пальмова	0,13	0,21	0,27	0,33	–0,43	–
Грецького горіха	0,09	0,24	0,33	0,43	0,56	0,61
Гірчична	0,09	0,18	0,32	0,42	0,62	0,77

Визначення якісного складу жирних кислот та їх кількісного вмісту в рослинних оліях методом газової хроматографії. Одним з найбільш ефективних способів визначення кислотного складу і якості продуктів, виготовлених з рослинних олій є метод газової хроматографії.

Пробопідготовка рослинних олій. Аналізовану пробу рослинної олії ( $\approx 3$  г) ретельно перемішують та відбирають наважку масою 0,1 г. Поміщують в скляну пробірку та розчиняють в 1,9 см<sup>3</sup> гексану. В отриманий розчин вводять 0,1 см<sup>3</sup> розчину етилату натрію в етанолі з концентрацією 2 моль/дм<sup>3</sup>. Після інтенсивного перемішування протягом 2 хв реакційну суміш відсто-

юють 5 хв та фільтрують через паперовий фільтр, або центрифугують. Одержаний розчин готовий до використання [25].

Виконання аналізу Хроматографічне розділення етилових ефірів жирних кислот та їх ізомерів здійснювалося нами на газо-рідинному хроматографі "Shimadzu" GC-14 В з полум'яно іонізаційним детектором. Капілярна колонка SPTM-2560 (сорбент – бісціанопріліполісилоксан) завдовжки 100 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм, товщиною нерухомої фази 0,2 мкм. Температури інжектора і детектора – 220°C, термостата колонки – 180°C, ізотермічний режим. Газ носій – гелій (25 см/с). Об'єм проби, що вводиться, – 0,5 мкл, ділення потоку 100:1. Тиск газу-носія на вході в інжектор 0,2 МПа, розподіл потоку на вході в колонку 1/20 (скидання в атмосферу 19/20 частин потоку на виході з інжектора). Аналіз жирнокислотного складу олій з визначенням вмісту жирних кислот та їх ізомерів виконувався на колонці фірми (SUPELCO 595 North Harrison Road, Bellefont, PA 16823-0048 USA). Для якісної ідентифікації використовували стандартні зразки метилових ефірів жирних кислот корпорації SUPELCO. Для кількісної оцінки використовували метод внутрішньої нормалізації

#### Обробка результатів

Відносну масу кожного компонента  $W$  (%), обчислюють за формулою [25]

$$\omega_k = \frac{A_k}{A_t} \cdot 100,$$

де  $A_x$  – площа піка, відповідного компонента  $x$ , мм<sup>2</sup>;  $A_t$  – сума площ всіх піків, виключаючи пік

розчинника, мм<sup>2</sup>.

Ідентифікація жирних кислот здійснювалася нами за часом утримування ЖК в стандартних хроматографічних умовах. Обробка хроматограм виконувалася з використанням програмного забезпечення Мультіхром 1,5х для Windows (Амперсенд, Росія). Як стандарт використовувалася суміш жирних кислот C18:1, C18:2, і C18:3 в розчині метилен хлориду.

Методика була використана для ідентифікації жирних кислот та їх ізомерів в 5 зразках рослинних олій: кукурудзяна, гірчична, ріпакова, грецького горіха та пальмова. Хроматограми аналізованих рослинних олій наведені на рис. 1–5, звідки видно більш чітко розділення жирних кислот та їх ізомерів.

#### Висновки

Запропонована хроматографічна методика ідентифікації рослинних олій з використанням вискоєфективних капілярних колонок з надзвичайно полярною ціанополісилоксановою нерухомою фазою, підібраний оптимальний режим хроматографування, що дозволило розділити більшу кількість жирних кислот та їх ізомерів.

Виміряно основні параметри (колір, аромат, кислотне, йодне, кольорове число, число омилення, вміст вологи та летких домішок, величина густини, в'язкості) 20 видів рослинних олій (ріпакова, гірчична, пальмова, кукурудзяна, грецького горіха та ін.).

Підібрано оптимальні умови для здійснення ідентифікації рослинних олій методом тонкошарової хроматографії: концентрації; рухома фаза у об'ємних співвідношеннях – етанол:вода (8:2); детектуючий реагент для проявлення отриманих плям.

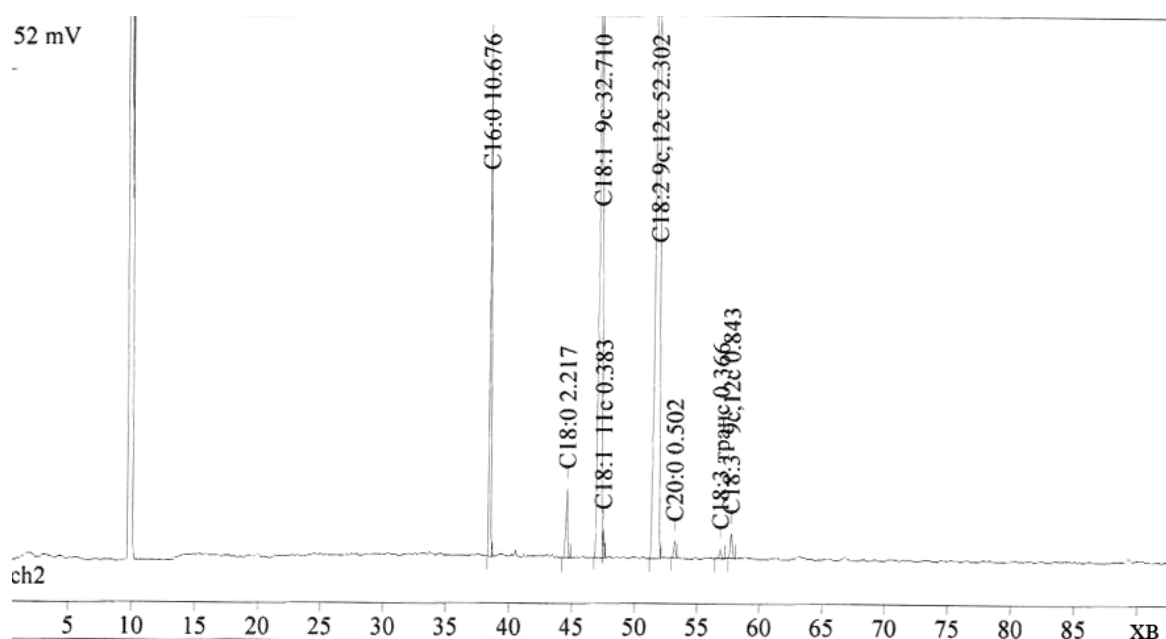


Рис. 1. Хроматограма кукурудзяної олії

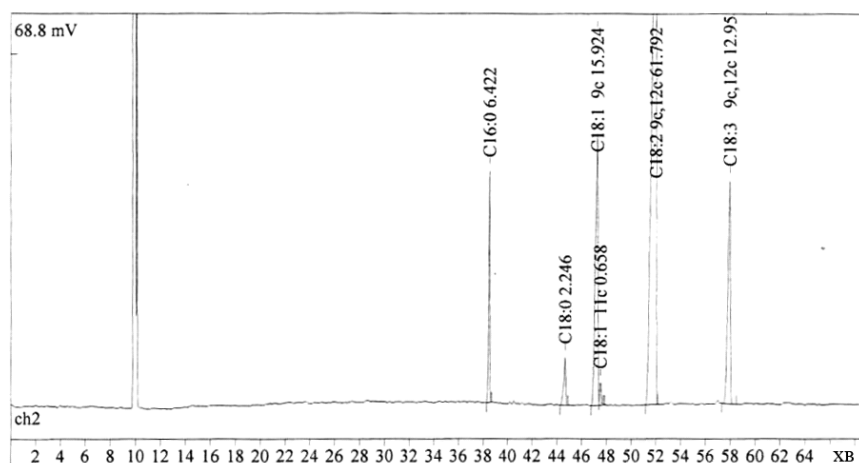


Рис. 2. Хроматограма олії грецького горіха

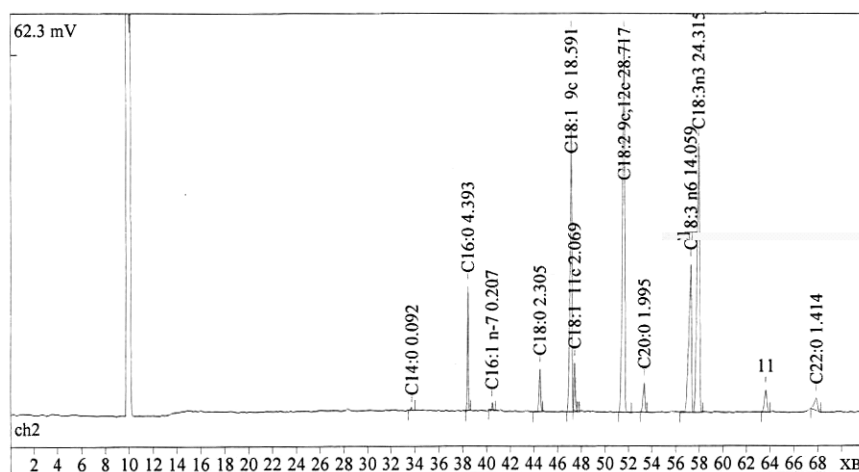


Рис. 3. Хроматограма гірчиної олії

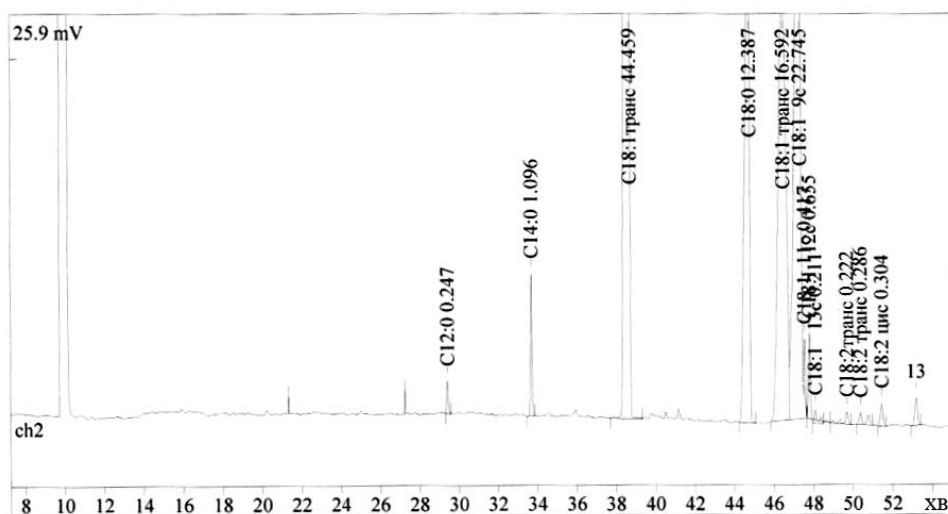


Рис. 4. Хроматограма пальмової олії

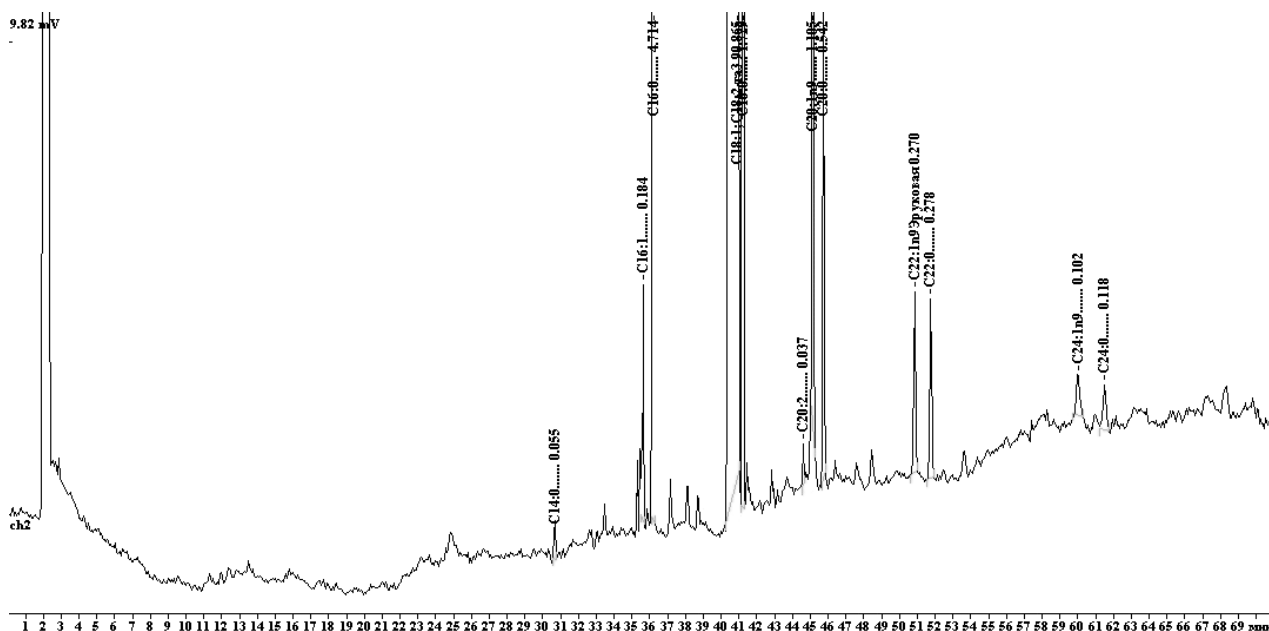


Рис. 5. Хроматограма ріпакової олії

Запропонований комплекс методів для ідентифікації рослинних олій.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Степанова Л.И., Матвеев П.Б., Почерников С.В. Растительные жиры и жировые системы – критерии оценки качества // Пищ. ингредиенты: сырье и добавки. – 2005. – № 1. – С.80-81.
2. ГОСТ 30623-98. Масла растительные и маргариновая продукция. Метод обнаружения фальсификации. – Введ. 01.01.2000. – Минск: Госстандарт России, 1998. – 16 с.
3. ГОСТ 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.: Госстандарт России, 1999. – 11 с.
4. Анализ растительных масел с использованием ВЭЖХ / Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Габрук Н.Г. и др. // Журн. аналит. химии. 2003. – Т.58. – № 12. – С.1294-1299.
5. Отто М. Современные методы аналитической химии. – М.: Мир, 2003. – Т.2. – 277 с.
6. A rapid method for trans-fatty acid determination using a single capillary GC / Shirasawa S., Sasaki A., Saida Y. and others // J. of Oleo Science. – 2007. – Vol.56. – № 2. – P.53-58.
7. Determination of trans fatty acids and fatty acid profiles in margarines marketed in Spain. / Alonso L., Fraga M.J., Juarez M. and others // J. Amer. Oil Chem. Soc. – 2000. – Vol.77. – № 2. – P.131-136.
8. Ідентифікація растительных масел с применением метода ядерно-магнитного релаксации / Лисовая Е.В., Корнена Е.П., Прудников С.М. и др. // Изв.вузов. Пищ.технол. – 2009. – № 5-6. – С.104-105.
9. Оценка экономической эффективности экспрес-

способа идентификации растительных масел на основе метода ядерно-магнитной релаксации / Прудников С.М., Блягоз А.И., Наумов Н.Н. и др. // Изв. вузов. пищ. технол. – 2006. – № 6. – С.81-83.

10. Чечета О.В., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Идентификация растительных масел и масляных экстрактов методом ТСХ // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2008. – Вып.4. – С.646-653.
11. Шаршунуова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. – М.: Мир, 1980. – 610 с.
12. Сливкин А.И., Селеменев В.Ф., Суховерхова Е.А. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств. – Воронеж: ВГУ. – 1999. – 368 с.
13. Рыбакова О.В., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Определение спектральных характеристик спиртовых растворов растительных масел и масляных экстрактов методом УФ-спектрофотометрии // Вестник Воронежского гос. ун-та. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2007. – № 2. – С.171-173.
14. Хроматографічна ідентифікація ерукової кислоти / Ф.О. Чмиленко, Н.П. Мінаєва, Л.П. Сидорова, О.В. Портянко // Вісн. Дніпропетр. нац. ун-ту. Сер. Ракетно-космічна техніка. – 2011. – № 4. – С.159-165.
15. Temperature-sensitive resolution of cis- and trans-fatty acid isomers of partially hydrogenated vegetable oils on SP-2560 and CP-Sil 88 capillary columns / Ratnayake N.W.M., Plouffe L.J., Pasquier E. and others // J. of AOAC International. – 2002. – Vol.85. – № 5. – P.1112-1118.
16. ГОСТ 50457-92. Жиры и масла животные и растительные. Определение кислотного числа и кислотности. – Введ. 01.01.1994. – М.: Госстандарт России, 1995. – 8 с.
17. ГОСТ 52110-2003. Масла растительные. Методы определения кислотного числа. – Введ. 01.01.1994. – М.: Госстандарт России, 2003. – 8 с.
18. ГОСТ 5475-69. Масла растительные. Методы определения йодного числа. – Введ. 01.01.1970. – М.: Гос-

стандарт России, 1999. – 6 с.

19. *ГОСТ 5478-90*. Масла растительные и натуральные жирные кислоты. Метод определения числа омыления. – Введ. 01.01.1992. – Минск: Межгосударственный стандарт, 1990. – 4 с.

20. *ГОСТ 51445-99*. Жиры и масла животные. Метод определения показателя преломления: – Введ. 01.01.2001. – М.: Госстандарт России, 2000. – 3 с.

21. *Nikolova-Damyanova B., Momchilova Sv.J.* Silver ion HPLC for the analysis of positionally isomeric fatty acids // *Liq. Chromatogr. and Relat. Technol.* – 2002. – Vol.25. – № 13-15. – P.1947-1965.

22. *ГОСТ 50456-92*. Жиры и масла животные и растительные. Определение содержания влаги и летучих веществ. – Введ. 01.01.1994. – М.: ИПК Изд-во стандартов, 2001. – 4 с.

23. *ГОСТ 5477-93*. Масла растительные. Методы определения цветности. – Введ. 01.01.1995. – Минск: Межгосударственный стандарт, 1994. – 8 с.

24. *European Pharmacopoeia: Supplement*, 2008. Strasbourg: Council of Europe. – 2008. – 6rd ed. – 3905 p.

25. *ГОСТ Р 51486-99*. Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот. – Введ. 01.01.2001. – М.: Госстандарт России, 1999. – 8 с.

26. *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.: Госстандарт России, 2000. – 8 с.

Надійшла до редакції 19.06.2013