

Я.Ф. Жукова, канд. біол. наук,
Ц.О. Король, канд. техн. наук,
С.С. Петрищенко, аспірант

Інститут продовольчих ресурсів НААН України

ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ТРАНС-ІЗОМЕРІВ ОЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ У ЖИРОВІЙ ФАЗІ МОЛОЧНИХ І КОНДИТЕРСЬКИХ ВИРОБІВ

Досліджено жирнокислотний склад молочних, молоковмісних та кондитерських виробів. Визначено вміст транс ізомерів жирних кислот та їх фракційний склад. В результаті проведеного аналізу обраховано граничні співвідношення транс-ізомерів для продуктів із натуральним молочним жиром та його частковою заміною. Запропоновано застосування співвідношення t9/t11-ізомерів олеїнової кислоти, як додаткової характеристики природних транс-ізомерів у жировій фазі.

Ключові слова: жирнокислотний склад, заміник молочного жиру, молочні продукти, олеїнова кислота, транс-ізомери.

Исследован жирнокислотный состав молочных, молокосодержащих и кондитерских изделий. Определено содержание трансизомеров жирных кислот и их фракционный состав. В результате проведенного анализа рассчитаны предельные соотношения трансизомеров для продуктов с натуральным молочным жиром и его частичной заменой. Предложено применение соотношения t9/t11-изомеров олеиновой кислоты, как дополнительной характеристики природных трансизомеров в жировой фазе.

Ключевые слова: жирнокислотный состав, заменитель молочного жира, молочные продукты, олеиновая кислота, транс-изомеры.

The object of the research were rennet cheeses, cottage cheese, sour cream, butter, cream, condensed milk, pasteurized and whole milk. A method of capillary gas chromatography was used for identification and quantification of fatty compounds in products.

High consumption of trans isomers present in certain fats of industrial origin, adversely affects human health. There is an evidence that the profile of acid C18:1 trans-isomers differs depending on their origin – bacterial hydrogenation or industrial hydrogenation. However, at present the data on the content of C18:1 trans isomers and the availability of their forms in different foods is quite limited.

It was shown that the characteristic for milk fat short-chain acids slightly vary depending on the type of dairy product and very different from animal or vegetable fats especially in the range of C4:0 – C12:0 and C18:2 acids.

The total content of C 18:1 acid trans-isomers in the studied dairy products ranged from 1.84 to 6.67 %; in some samples of milk containing products it was 27–35 %. The idea of research importance of not only the total content of C 18:1 trans-isomers, but its specific isomeric forms is based on the fact that trans-isomers can damage cells in brain and peripheral nervous system, which increases the risk of multiple sclerosis, Parkinson's and Alzheimer's diseases.

It was shown that in milk fat of the studied products isomer C 18:1 T11 was dominant, which was 30–60 % of all the identified trans-isomers and to 6,34 % of all the identified fatty acids, and in milk containing products – C 18:1 T9 isomer, the level of which in fat phase was dependent on the type of vegetable oil substitute and its mass fraction in fat phase. On the basis of the data presented it was proposed to add methyl esters t9/t11 C18:1 mass fractions ratio as an additional indicator of fat phase naturalness, including trans-isomers nature. For dairy cow fat it was 0,14–0,36, and for milk containing products – 0,43–1,65.

A monitoring of trans-isomers content in domestic dairy products was conducted. According to the data obtained trans-isomer content ranged from 1,84 % to 6,67 %, that meets normative documents requirements. The differences between trans-isomeric composition of natural milk fat and fats of industrial production were detected. A calculation of the ratio of oleic acid t9/t11-isomers was proposed as additional characteristic of trans-isomers naturalness in fat phase of dairy and confectionary products.

Keywords: fatty acid composition of milk fat substitute, dairy products, oleic acid, trans-isomers.

Упродовж останніх років у науковій літературі тривають дискусії щодо норм споживання жиру, наявності та кількості транс-ізомерів жирних кислот. Жири та олії є необхідною частиною здорової дієти, але тип жиру та споживання його загальної кількості має велике значення для нормального функціонування організму людини. Високий рівень споживання жирів, до складу яких входить велика кількість насичених жирних кислот і холестерину підвищує ризик розвитку цілого ряду неінфекційних захворювань, серед яких розлади серцево-судинної системи, онкологія, різні ендокринні порушення, тощо. За рекомендаціями американської асоціації дієтологів [1], споживання жиру, що становить більше 35% калорій, як правило призводить до ожиріння. Навпаки недостатнє споживання олій та жирів, тобто менше 20 % калорій, призводить до нестачі жиророзчинних вітамінів, незамінних жирних кислот, небажаних змін у концентрації ліпопротеїдів високої щільності та тригліцеридів.

Якість продуктів харчування, зокрема молочних, нерозривно пов'язана із жирнокислотним складом їх жирової фази.

Молочний жир жуйних характеризується унікальним жирнокислотним складом. Згідно останніх досліджень, у складі триацилгліцеридів молока корів виявлено близько 416 жирних кислот. Велика різноманітність жирних кислот у жирі молока корів зумовлена рубцевим біогідрогенуванням С18 ненасичених жирних кислот ліпідів корму та синтезом жирних кислот *de novo* в тканині молочної залози [2, 3].

Вміст жирних кислот в молочному жирі становить 85 %, з них приблизно 70 % складають насичені жирні кислоти, 25 % мононенасичені і 5 % поліненасичені [4]. Втім у сирому молоці спостерігається досить широка варіація вмісту жирних кислот в залежності від регіону походження, породи тварини, періоду лактації, способу годування, тощо, що у свою чергу відбивається на їх вмісту у готових продуктах.

Вміст цис-ізомерів мононенасичених жирних кислот у молочному жирі у середньому становить від 18 до 24 % загальної кількості жирних кислот, серед них переважає олеїнова кислота – 15–22 %. Серед транс-ізомерів домінуючою в кількісному відношенні є вакценова (ВК) – транс-11 октадеценова кислота, частка якої в ліпідах молока коливається в широких межах від 1,91 до 6,34 % із середнім значенням 3,74 %, що становить від 30 до 60 % загальної кількості транс-С18:1. Крім цієї ізомерної форми, в молоці корів виявлено ще 13 індивідуальних ізомерних форм транс-С18:1, вміст яких незначний [4]. Важливим аргументом на користь нешкідливості транс-ізомерів ненасичених жирних кислот молочного жиру, проте лише тих, які утворюються в рубці, може слугувати той факт, що людина споживає їх тисячоліттями. Тобто, організм людини еволюційно пристосований до метаболізму таких транс-ізомерів [5].

Включення до раціону жирів промислового походження активізувало дискусії щодо їх шкоди здоров'ю людини, зокрема через наявність в деяких з них надмірної кількості транс-ізомерів. Ступінь споживання транс-ізомерів ненасичених жирних кислот людиною варіює в широких межах. За даними Д. Аллінсона і співавт. індивідуальне споживання їх у США становить 5,3 г/день, або 7,4 % від спожитого жиру, причому лише 15–20 % з них походять з молока чи масла [6].

Вже отримано докази щодо прямого зв'язку транс-жирних кислот промислових жирів з серцево-судинними захворюваннями, раком молочної залози, скорочення періоду вагітності, порушення роботи нервової системи та зору у новонароджених, раком товстої кишки,

діабету, ожиріння і алергії [7]. Такі дані можна пояснити надмірною кількістю транс-ізомерів та відмінностями їх якісного складу у замінниках молочного жиру і неможливістю їх перетворення природними ферментами в організмі людини.

Вміст транс-ізомерів у продуктах харчування може бути знижений за рахунок введення обов'язкових правил, що стосуються процесу та вмісту у продуктах гідрогенізованих олій.

Також є дані, що профіль транс С18:1 відрізняється в залежності від їх походження (бактеріальна гідрогенізація в рубці або промислова гідрогенізація). На сьогоднішній день дані щодо вмісту ТЖК та профілів транс-С18:1 різних видів харчових продуктів обмежена [8].

Метою даної роботи було дослідження жирнокислотного складу жирової фази різних видів молочної продукції, визначення в них та в молоковмісних продуктах вміст різних форм транс-ізомерів С 18:1.

Матеріали та методи.

Об'єктом досліджень були сири тверді сичужні, сир кисломолочний, сметана, масло солодковершкове, згущене, пастеризоване та незбиране молоко.

Пробопідготовку проб проводили згідно ДСТУ ISO 15884/IDF 182: 2008 “Жир молочний. Метод приготування метилових ефірів жирних кислот”. Дослідження жирнокислотного складу проводили методом капілярної газо-рідинної хроматографії на хроматографі “Купол-5”, обладнаному капілярною колонкою НР-88 довжиною 100 м.

Результати досліджень.

Ліпіди, що потрапляють з їжею, так і ті що синтезуються ендогенно виключно важливі для підтримки гомеостазу всього організму і активності імунної системи. Усім класам ліпідів притаманний імуномодельючий потенціал; особливо це стосується фосфоліпідів, сфінголіпідів, жирних кислот.

Жирнокислотний склад молочного жиру визначає його харчову цінність, фізичні властивості і, зокрема, здатність затвердівати при зниженні температури нижче точки плавлення. У свою чергу, ступінь твердіння молочного жиру визначає характер структури вершкового масла, його реологічні показники – міцність структури, здатність намазуватись, термостійкість та інші.

Для контролювання якості молочних продуктів необхідно мати базу даних щодо їх жирнокислотного складу, особливо з підвищеним вмістом жирової фази. У табл. 1 представлено дані жирнокислотного складу різних видів молочної продукції.

Отримані дані свідчать, що характеристичні для молочного жиру коротколанцюгові кислоти незначно варіюють в залежності від виду молочної продукції, тобто є характеристичними і вельми відрізняється від тваринного або рослинного жирів особливо в діапазоні С_{4:0} – С_{12:0} та С_{18:2} кислот.

Замінники молочного жиру є спеціалізованими жирами, що за своїми фізико-хімічними властивостями та жирнокислотним складом наближені до натурального молочного жиру коров'ячого молока і призначені як для часткової, так і для повної його заміни у продуктах харчування.

Як правило, замінники молочного жиру виробляють на базі фракціонованих, частково гідрогенізованих та переестерифікованих жирів та олій. Відзначимо, що внаслідок гідрогенізування вміст транс-ізомерів жирних кислот різко підвищується. В окремих зразках вміст транс-ізомерів С 18:1 кислоти становив 27–35%.

Жирнокислотний склад різних видів молочної продукції

Позначення жирної кислоти	Вміст жирної кислоти ($X_{\text{сер.}} \pm \sigma$)			
	Сир кисло-молочний та сметана	Масло солодко-вершкове	Пастеризоване та згущене молоко	Тверді сичужні сири
C 4:0	4,51 ± 0,81	4,38 ± 1,20	4,17 ± 1,10	4,15 ± 0,82
C 6:0	3,03 ± 0,33	2,84 ± 0,44	2,80 ± 0,45	2,87 ± 0,44
C 8:0	1,56 ± 0,18	1,43 ± 0,18	1,46 ± 0,18	1,48 ± 0,32
C 10:0	2,96 ± 0,35	2,78 ± 0,33	2,77 ± 0,27	2,91 ± 0,42
C 10:1	0,34 ± 0,06	0,33 ± 0,10	0,38 ± 0,10	0,27 ± 0,01
C 11:0	0,06 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,07 ± 0,03
C 12:0	3,11 ± 0,31	2,91 ± 0,31	3,02 ± 0,28	3,05 ± 0,41
C 13:0	0,08 ± 0,06	0,10 ± 0,05	0,10 ± 0,04	0,08 ± 0,03
C 14:0	9,01 ± 0,53	8,87 ± 0,61	9,59 ± 0,49	9,52 ± 1,10
C 14:1	1,21 ± 0,40	1,29 ± 0,19	1,00 ± 0,46	1,09 ± 0,16
C 15:0	0,95 ± 0,20	1,06 ± 0,11	1,25 ± 0,31	1,19 ± 0,14
C 15:1	0,25 ± 0,39	0,23 ± 0,04	0,74 ± 0,44	0,25 ± 0,02
C 16:0	23,98 ± 2,47	24,01 ± 2,15	26,29 ± 2,39	26,44 ± 1,31
C 16:1 н7	1,10 ± 0,18	1,20 ± 0,27	1,07 ± 0,20	1,28 ± 0,14
C 17:0	0,56 ± 0,16	0,64 ± 0,14	0,70 ± 0,14	0,71 ± 0,09
C 17:1 н7	0,32 ± 0,07	0,32 ± 0,11	0,36 ± 0,08	0,31 ± 0,06
C 18:0	12,78 ± 1,08	10,16 ± 1,18	9,91 ± 1,23	9,86 ± 0,85
C 18:1 н9 т	2,78 ± 0,85	3,15 ± 2,52	2,74 ± 0,92	2,39 ± 0,55
C 18:1 н9 с	23,68 ± 2,18	22,13 ± 2,98	22,24 ± 1,44	21,82 ± 1,20
C 18:2 н6 т	0,34 ± 0,19	0,41 ± 0,19	0,45 ± 0,19	0,35 ± 0,04
C 18:2 н6 с	3,36 ± 0,66	3,09 ± 0,65	2,83 ± 0,96	2,99 ± 0,85
C 18:3 н6	0,05 ± 0,12	0,05 ± 0,05	0,31 ± 0,86	0,09 ± 0,06
C 20:0	0,10 ± 0,06	0,14 ± 0,12	0,25 ± 0,26	0,16 ± 0,10
C 18:3 н3	0,38 ± 0,22	0,66 ± 0,26	0,59 ± 0,29	0,64 ± 0,22
Conj C 18:2 +C20:1	1,12 ± 0,33	1,07 ± 0,38	0,96 ± 0,45	0,68 ± 0,17

Вміст транс-ізомерів C 18:1 кислоти у досліджених продуктах варіював від 1,84 до 5,67.

Ідея важливості дослідження не лише загального вмісту транс-ізомерів C 18:1, а й її конкретних ізомерних форм базується на тому, що транс-ізомери можуть пошкоджувати клітини мозку і периферичної нервової системи, оскільки захисна оболонка нейронів (мієлін) складається з білка тільки на 30%, а на 70% – з жирних кислот, головним чином, олеїнової (цис-18:1; 9) і докогексаєнової (цис-22: 6; 4, 7, 10, 13, 16, 19). Заміна цих жирних кислот на транс-ізомери призводить до зміни електричної активності нейронів і їх здатності до передачі сигналів. Це призводить до нервового виродження і зниження розумових здібностей, що проявляється при розсіяному склерозі, хворобах Паркінсона і Альцгеймера.

Наведені приклади показують, що при оцінці безпеки їжі або ліків необхідно враховувати ізомерію складових їх компонентів. Тому, наприклад, в США з 2006 р. на упаковках молочних продуктів і маргаринів обов'язково вказують вміст транс-ізомерів. У складі жиру грудного молока в середньому міститься близько 7,2% транс-ізомерів жирних кислот з спожитих матерями частково гідрогенізованих рослинних жирів.

Тому було досліджено якісний склад транс-ізомерів С18:1 кислоти С 18:1 в продуктах харчування.

На рис. 1–6 представлено хроматографічний профіль ділянки транс-ізомерів С 18:1 кислоти у натуральних молочних продуктах.

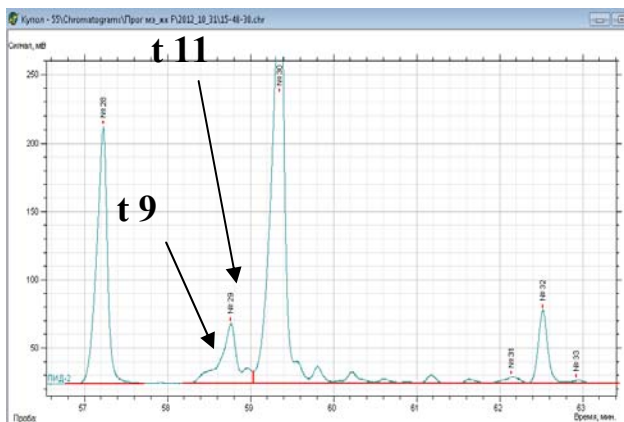


Рис. 1. Молоко коров'яче

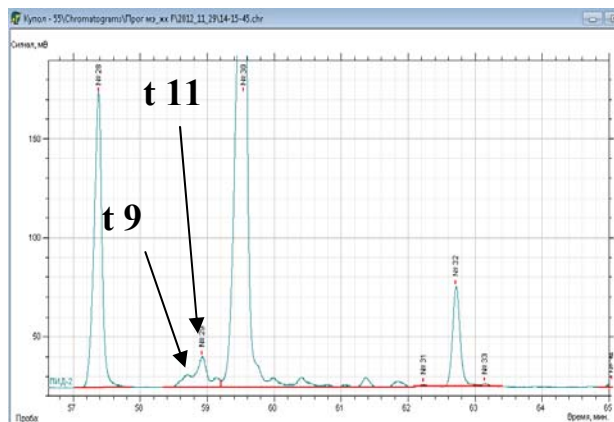


Рис. 2. Молоко козине

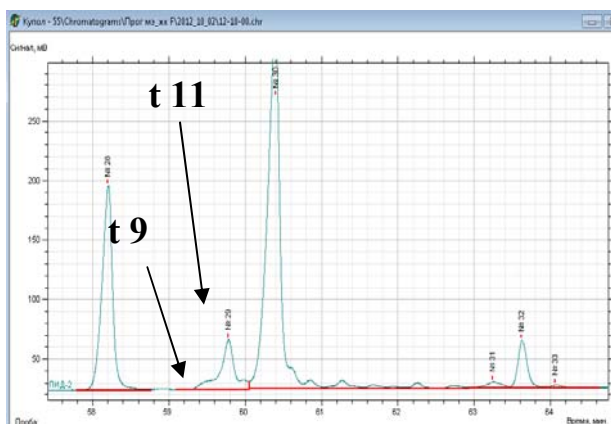


Рис. 3. Масло вершкове

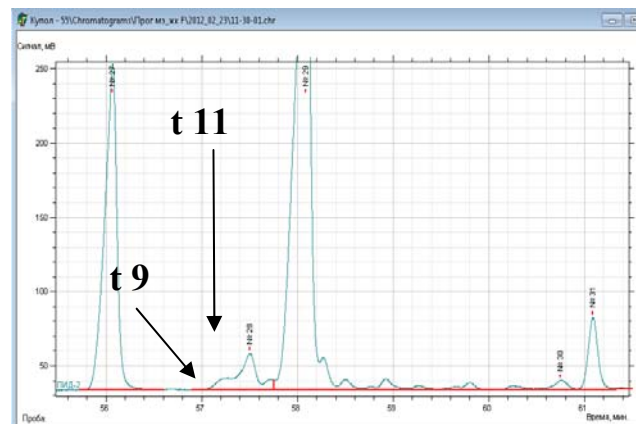


Рис. 4. Плавлений сир

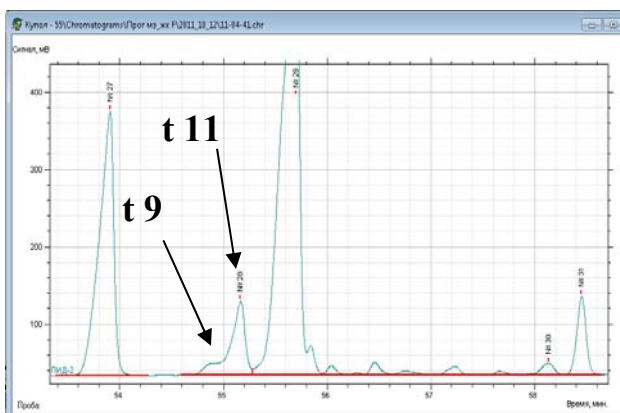


Рис. 5. Сир твердий 1

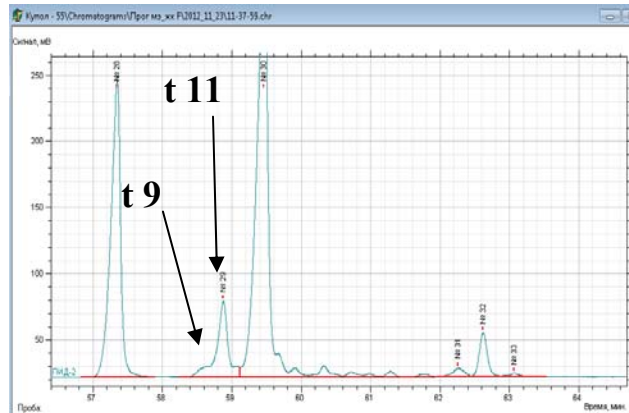


Рис. 6. Сир твердий 2

Як видно, з малюнків в природному молочному жирі домінував ізомер С 18:1 кислоти, так звана вакценова кислота (транс-11-октадеценова кислота) С 18:1т11 (t 11). Вона становила від 30 до 60 % всіх транс-ізомерів і за деяких умов утримання тварин може сягати 6,34 % [9].

Гідрогенізовані жири мали інший профіль транс-ізомерів, в яких досить у більшості випадків переважала транс-9-октадеценова кислота (С 18:1т9) (t 9).

Задля визначення достовірної ізомеризації жирних кислот (ID) у продуктах з рослинними жирами було запропоновано формулу 1 [9]:

$$ID = \frac{transC18 : x}{(cisC18 : x + transC18 : x)} \quad (1)$$

Втім ID може не відобразити реальну картину у наступних випадках:

1) високе значення ID в разі малого вмісту транс-ізомерів, або надмірне мале значення ID в разі високих абсолютних значень транс-ізомерів.

З точки зору дієтичного харчування або біологічної цінності більше значення має розподіл окремих транс-ізомерів, встановлення меж їх вмісту та кореляції впливу на здоров'я людини. Поки що диференціація цих ізомерів є складним завданням і методично не уніфікованою процедурою, яка досить рідко впроваджена у промислових лабораторіях. Втім якісний та кількісний склад ізомерів жирних кислот є невід'ємною частиною встановлення походження жиру будь-якого продукту [9].

Задля цього було проаналізовано хроматограми молокозмісних продуктів із заміниками молочного жиру (рис. 7–14) щодо наявності та співвідношення t9/t11 С 18:1 кислот.

У табл. 4 представлені співвідношення транс-ізомерів С18:1 кислоти окремих досліджуваних продуктів. Показано, що у природному молочному жирі у продуктах, виготовлених з коров'ячого молока, співвідношення ізомеру t9 С 18:1 до t11 С 18:1 складало від 0,14 до 0,36 тоді, як у продуктах із заміниками молочного жиру воно варіювало від 0,43 до 1,65.

Таблиця 4

Співвідношення транс-ізомерів С18:1 кислоти у молочних продуктах

Продукт з натуральним молочним жиром	Границі співвідношень масових часток метилових ефірів t9/t11 С18:1	Продукт з додаванням ЗМЖ	Границі співвідношень масових часток метилових ефірів t9/t11 С18:1
Молоко коров'яче	0,20–0,23	Спред	0,43–1,65
Масло солодковершкове	0,18–0,23	Сирний продукт	0,77–1,17
Сир плавлений	0,32–0,36	Плавлений сир із ЗМЖ	0,58–0,62
Сир твердий	0,14–0,20	Дитячий сирок	0,97–1,19

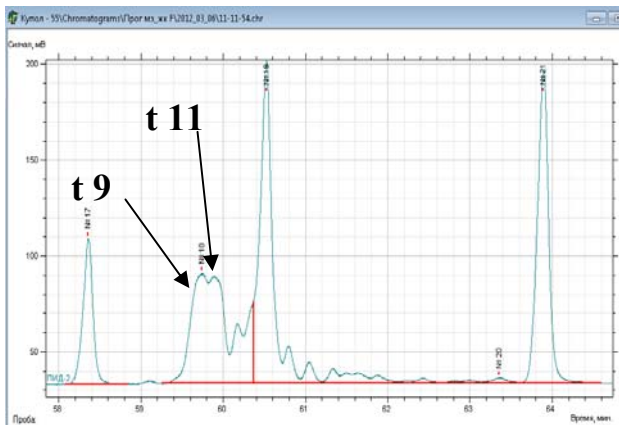


Рис. 7. Спред 1

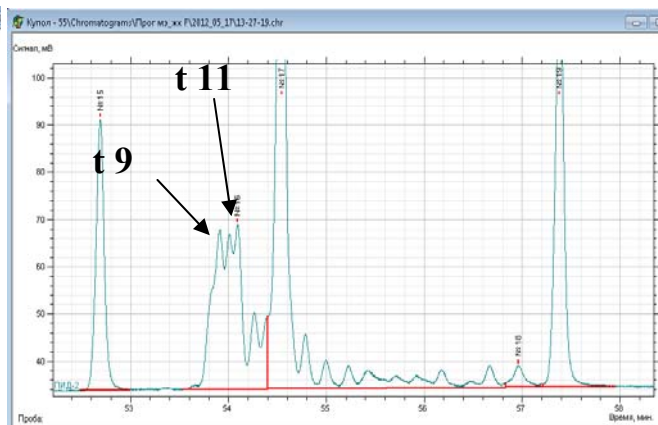


Рис. 8. Спред 2

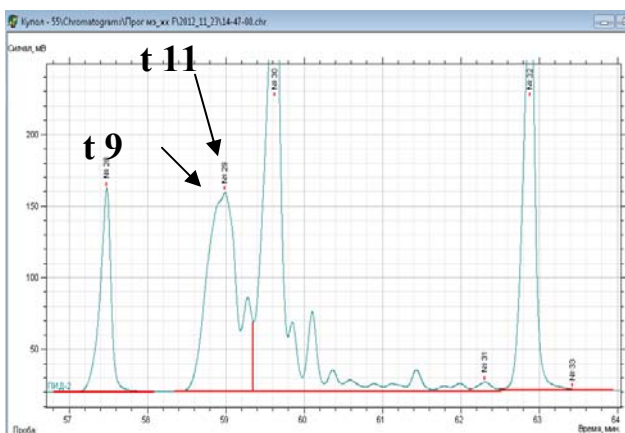


Рис. 9. Спред 3

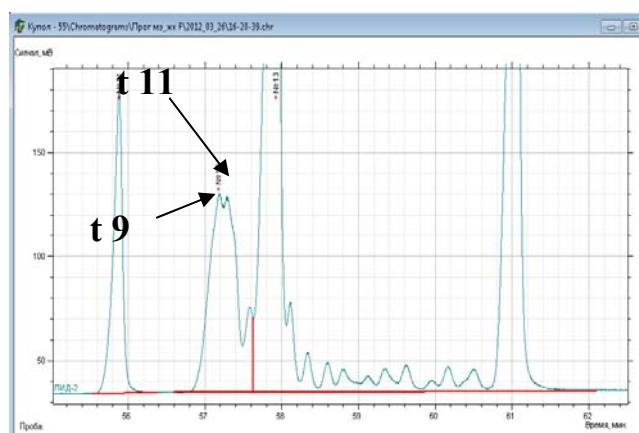


Рис. 10. Спред 4

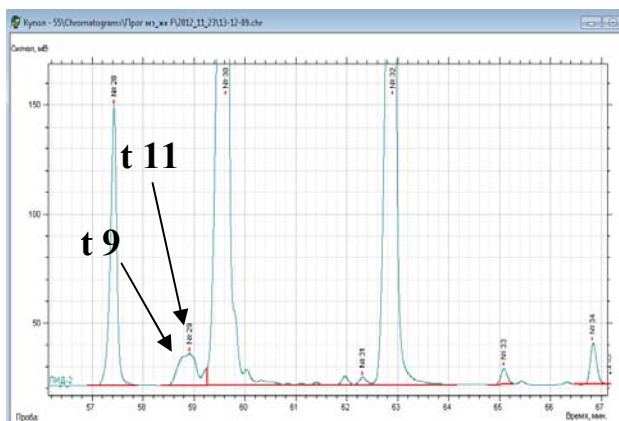


Рис. 11. Сирний продукт 1

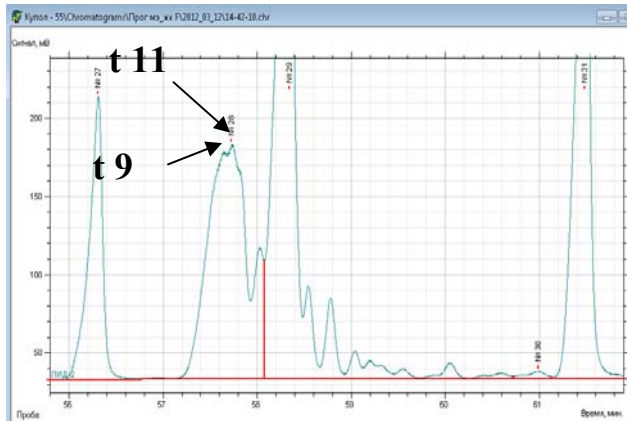


Рис. 12. Сирний продукт 2

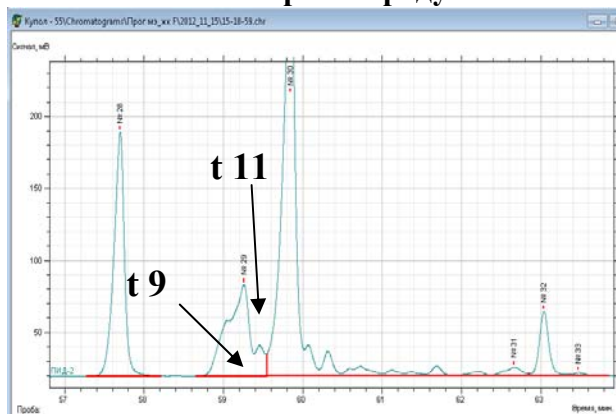


Рис. 13. Плавлений сир із ЗМЖ

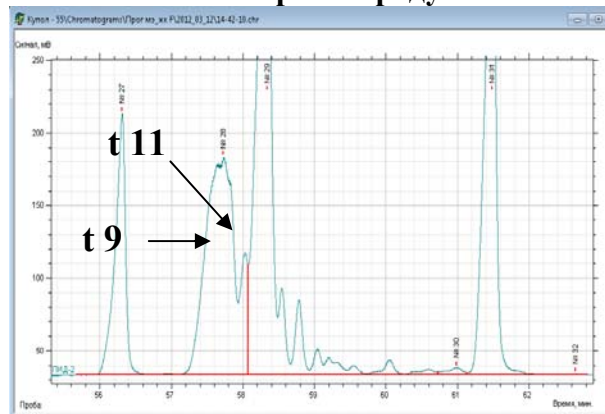


Рис. 14. Дитячий сирок

На рис. 15 та 16 представлені хроматограми какао масла та замітника масла какао, виготовленого методом гідрогенізації. У природному маслі какао спостерігали відсутність усіх форм транс-ізомерів 18:1 кислоти, тоді як у замінику масло какао вміст транс-9-октадеценової кислоти (t 9) становив 39,82 %.

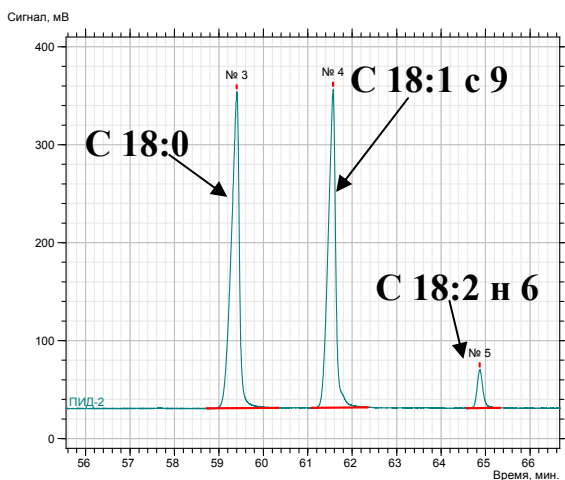


Рис. 15. Масло какао.

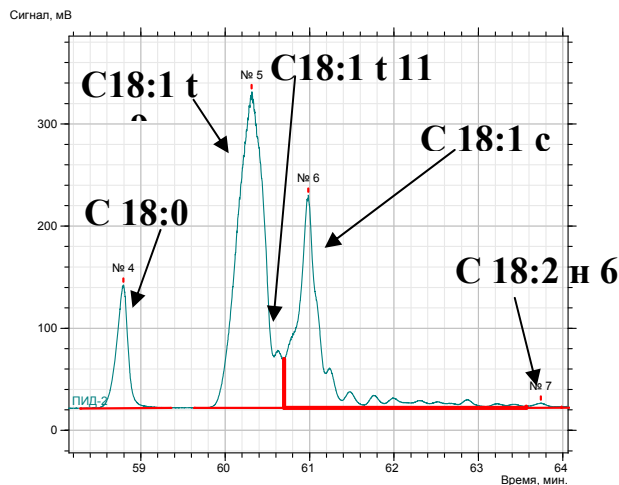


Рис. 16. Кондитерський жир.

Аналіз хроматограм кондитерських виробів показав досить широку варіацію значень співвідношень t9/t11 C 18:1 кислот, що залежало від вмісту застосованих при виробництві жирів.

У табл. 5 представлені співвідношення транс-ізомерів C18:1 кислоти окремих кондитерських виробів.

Таблиця 5

Співвідношення транс-ізомерів C18:1 кислоти у кондитерських виробах

Продукт	Границі співвідношень масових часток метилових ефірів t9/t11 C18:1	Продукт	Границі співвідношень масових часток метилових ефірів t9/t11 C18:1
Масло какао	0,00	Шоколадні цукерки 5	1,19
Чорний шоколад 1	0,00	Шоколадно-горіхова паста 1	1,07
Чорний шоколад 1	0,00	Шоколадно-горіхова паста 2	1,09
Шоколадні цукерки 1	1,05	Шоколадно-горіхова паста 3	0,97
Шоколадні цукерки 2	1,18	Шоколадно-горіхова паста 4	1,01
Шоколадні цукерки 3	1,29	Шоколадно-горіхова паста 5	1,96
Шоколадні цукерки 4	0,26	Шоколадно-горіхова паста 6	1,04

На основі представлених даних запропоновано ввести співвідношення масових часток метилових ефірів t9/t11 C18:1, як додатковий показник натуральності жирової фази, зокрема природи транс-ізомерів. Співвідношення являє собою нескладний, зручний інструмент, що може додатково використовуватись для характеристики жирів продуктів харчування. А

також може бути використаний в майбутньому при дослідженні впливу різних видів жирів на здоров'я людини і поширений на інші вироби, особливо борошняні та кондитерські.

Висновки

1. Проведено моніторинг вмісту транс-ізомерів у вітчизняних молочних продуктах. За отриманими даними вміст транс-ізомерів коливався від 1,84 % до 5,67 %, що відповідає вимогам чинної нормативної документації.

2. Було ідентифіковано два основних транс-ізомери C18:1 кислоти. Вони представлені *транс-9*-октадецеенової та *транс-11*-октадецеенової кислот.

3. Виявлено відмінності транс-ізомерного складу натурального природного молочного жиру та жирів промислового виробництва. Показано, що при додаванні жирів промислового виробництва, отриманих методом гідрогенізації загальний вміст транс-ізомерів збільшувався. При цьому спостерігається підвищення вмісту *транс-9*-октадецеенової кислоти, що має негативний вплив на здоров'я людини.

4. Запропоновано обрахування співвідношення t9/t11-ізомерів олеїнової кислоти, як додаткової характеристики натуральності транс-ізомерів у жировій фазі. У досліджених продуктах співвідношення становило 0,1–0,4 для натурального молочного жиру з коров'ячого молока і 0,4–1,65 для жирової фази продукту з додаванням промислово отриманих жирів.

Література

1. Uauy R., Aro A., Clarke R., Ghafoorunissa M., L'Abbé R., Mozaffarian D., Skeaff C. M., Stender S., Tavella M. WHO Scientific Update on trans fatty acids: summary and conclusions // European Journal of Clinic Nutrition. – 2009. – Vol. 63, № S2. – P. 68–75.

2. Palmquist D.L. Milk fat: Origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon / In Advanced of Dairy Chemistry, Volume 2 : Lipids, 3rd ed. Edited by Fox P. F. and McSweeney P. L. H. – New York : Springer, 2006. – P. 43–91. – ISBN 978-0387-26364-9.

3. Jensen R. G. Invited review: The composition of bovine milk lipids: january 1995 to december 2000 // J. Dairy Sci. – 2002. – Vol. 85, № 2. – P. 295–350.

4. Precht D., Molkentin J. Rapid analysis of the trans-octadecenoic acid in milk fat // Int. Dairy J. – 1996. – Vol. 6, № 8–9. – P. 791–809.

5. Achman R. G. The dichotomy of the trans-ethylenic bond in our foods // European Journal of Lipid Science and Technology 2000. – Vol. 102, № 10. – P. 630–632.

6. Bauman D. E., Tyburczy C., O'Donnell A. M., Lock A. L. Production and use of high fats in human health // J. Dairy Sci. – 2007. – 90 (Suppl. 1). – P. 429 (Abstr.).

7. Vandana D., Neelam G., Kulveer Singh A., Bhupender Singh K. Trans fats-sources, health risks and alternative approach – A review // J Food Sci Technol. (September–October 2011) – 2011. – Vol. 48, № 5. – P. 534–541.

8. Kuhnt K., Baehr M., Rohrer C., Jahreis G. Trans fatty acid isomers and the trans-9/trans-11 index in fat containing foods // Eur. J. Lipid Sci. Technol. – 2011. – Vol. 113, № 10. – P. 1281–1292.

9. Dionisi F., Golay L., Fay L. Influence of milk fat presence on the determination of trans fatty acids in fats used for infant formulae // Analytica Chimica Acta. – 2002. – Vol. 465, № 1–2. – P. 395–407.