

**Сидорова Л.П.<sup>1</sup>, Мінаєва Ю.А.<sup>2</sup>**  
*1- доцент кафедри аналітичної хімії;  
2- студентка.  
Дніпровський національний університет  
імені Олеся Гончара  
м. Дніпро, Україна*

## **НОВИЙ СПОСІБ ВСТАНОВЛЕННЯ НАЯВНИХ РОСЛИННИХ ЖИРІВ В МОЛОКОПРОДУКТАХ**

Розроблено новий спосіб комплексного хроматографічного однозначного встановлення фальсифікації молокопродуктів, який включає аналіз масложирової продукції з метою встановлення її натуральності за трьома критеріями одночасно: визначення загального жирно-кислотного складу (ЖКС), складу стеринової фракції та вмісту транс-ізомерів жирних кислот.

**Ключові слова:** хроматографія, молочна продукція, транс-ізомери жирних кислот, рослинні жири.

**Сидорова Л.П., Мінаєва Ю.А. НОВЫЙ СПОСОБ УСТАНОВЛЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЖИРОВ В МОЛОКОПРОДУКТАХ** Разработан новый способ комплексного хроматографического однозначного установления фальсификации молокопродуктов, который включает анализ масложировой продукции с целью установления ее натуральности по трем критериям одновременно: определение общего жирно-кислотного состава (ЖКС), состава стериновой фракции и содержания транс-изомеров жирных кислот.

**Ключевые слова:** хроматография, молочная продукция, транс-изомеры жирных кислот, растительные жиры.

**Larisa P. Sidorova, Yuliya A. Minaeva. A NEW METHOD FOR SETTING VEGETABLE FATS IN MILK PRODUCTS** A new method of complex chromatographic single-valued detection of falsification of dairy products has been developed, which includes the analysis of fat and oil products with the aim of establishing its naturality by three criteria at the same time: determination of total fatty acid composition (FSW), composition of sterol fraction and content of trans-isomers of fatty acids.

**Keywords:** chromatography, dairy products, trans-isomers of fatty acids, vegetable fats.

Останнім часом на ринку України присутня значна кількість фальсифікованої продукції. При вступі України в СОТ особливого місця набувають питання харчової хімії, особливо контроль якості продуктів харчування і її сертифікація. Відсутність стандартів України (ДСТУ) по багатьом позиціям, примушує хіміків-аналітиків, гігієністів, токсикологів розробляти нові методики аналогічно ISO- 1900-2000.

Найчастіше фальсифікують молочні продукти. Для фальсифікації найбільш часто використовують гідровані рослинні жири або їх суміші з іншими маслами, використання яких повинно бути обмежено через високий вміст в них транс-ізомерів жирних кислот (ТІЖК). Сучасні дослідження показують, що транс-ізомери жирних кислот не засвоюються в нашому організмі природним фізіологічним шляхом. Накопичуючись в організмі людини, вони знижують імунітет, порушують роботу ферментів, клітинних мембран, сприяють збільшенню рівня холестерину в крові. Їх дія підвищує ризик онкологічних і серцево-судинні захворювань та виникненню діабету.

Нові хроматографічні, мас-спектрометричні, спектроскопічні методи дозволяють детектувати слідові кількості транс-жирних кислот. Але залишаються проблеми пов'язані з широким рядом позиційних моно-, ди- і триєнових ізомерів жирних кислот (ЖК), що присутні в масложировій продукції; перекриттям цис- і транс-ізомерів, тобто неповним відділенням цис-ізомерів від транс-кислоти. Так само немає універсальних методів визначення для всіх зразків масложирової продукції. Рішенням цих та інших проблем визначення ТЖК активно займаються в даний час.

Мета роботи – запропонувати комплекс методик для однозначного встановлення натуральності масложирової продукції, що полягає у одночасному визначенні загального жирно-кислотного складу, складу стерінової фракції та вмісту транс-ізомерів жирних кислот.

Об'єкт дослідження – масложирова продукція

Предмет дослідження – ТЖК, жирні кислоти, метилові ефіри жирних кислот, фітостерини.

Методи дослідження – газова, газорідинна та тонкошарова хроматографія (ТШХ), гібридні методи, екстракція.

Актуальність дослідження полягає у вирішенні проблеми підвищення якості харчових продуктів, вдосконаленням методів її контролю і стандартизації.

### **ОСНОВНА ЧАСТИНА**

Одними з найбільш достовірних показників, які характеризують якість масложирової продукції, є жирнокислотний і тригліцеридний склад [1], а також параметри стерінової фракції, які встановлюють хроматографічними методами [2-8]. Грубу фальсифікацію молочних продуктів можна встановити за ЖКС, але цим методом можна виявити вміст рослинних добавок > 20%, так як жирно-кислотний склад молочного жиру не постійний. Найбільш вивчено вміст в жирах лауринової (C12: 0), миристинової (C14: 0), пальмітинової (C16: 0), стеаринової (C18: 0), олеїнової (C18: 1), лінолевої (C18: 2) кислот. Тому саме ці кислоти розглядають [9,10] в якості критеріїв ідентифікації натуральності молочного жиру. Нами встановлено, що різниця за вмістом цих кислот в натуральних і фальсифікованих продуктах не перевищує 10%, тому краще провести ідентифікацію по бутановій кислоті (C4: 0). Для виявлення фальсифікації молочного жиру хроматографічний метод визначення жирно-кислотного складу може використовуватися тільки за умови кількісного визначення бутанової кислоти (C4: 0) з використанням внутрішнього стандарту.

Пізніше було встановлено, що склад стерінової фракції дозволяє виявити від 2% і вище добавок масел рослинного походження. При цьому на хроматограмі фіксують піки фітостеринів, ці компоненти підтверджують факт фальсифікації. Встановлюючи стеріновий склад, при ТШХ поділі компонентів зразка нами запропонована рухома фаза з оптимальним співвідношенням гексан – етилацетат (від 65:35 до 60:40 об%), а також хлороформ – етилацетат (95: 5 об%). При використанні РФ з іншим співвідношенням на пластинках неможливо отримати чітке відділення стеринів від метил стеринів, і як наслідок отримані результати будуть недостовірні. Крім того, експериментально встановлена оптимальна кількість зразка, який наноситься на ТШХ пластинку, що не повинна перевищувати 0,1 мг неомильних речовин, що еквівалентно 1 г зразка масложирової продукції, а не 5 г, як зазначено в [3]. Нанесення зразків у вигляді окремих точок також сприяє поліпшенню результатів поділу.

В даний час на лабораторному ринку досліджень масел і жирів з'явилася потреба визначення жирно-кислотного складу з вивченням вмісту і співвідношення цис-, транс-ізомерів жирних кислот [11–16]. У роботі було здійснено вдосконалення існуючих методик та проведений на їх основі аналіз масложирової продукції. В результаті проведеного дослідження встановлено, що тільки комплексний хроматографічний

аналіз молокопродуктів за трьома критеріями одночасно (ЖКС, склад стеринової фракції, вміст ТІЖК) дозволяє надійно встановити фальсифікацію. Такий підхід до комплексного хроматографічного встановлення фальсифікації молокопродуктів дозволяє виявити фальсифікацію рослинними жирами (РЖ) навіть на рівні менше 1% (табл.1.), що неможливо було раніше. Ми вважаємо, що хроматографічні методи визначення жирно-кислотного складу, вмісту ТІЖК і складу стеринової фракції можуть бути взаємоуточнюючими при визначенні грубої фальсифікації молочної продукції (>10% рослинних жирів) і повинні бути обов'язковими при низькому <2% вмісту рослинних жирів.

**Таблиця 1.** Визначення вмісту рослинних жирів (РЖ) за різними критеріями

Критерій	Вміст РЖ, який можливо встановити, %	Можливість ідентифікації РЖ
ЖКС	>10	-
Стерини	>2	-
ТІЖК	>5	-
ЖКС+стерини	>2	-
ЖКС+ТІЖК	>5	+
Стерини+ТІЖК	>2	-
ЖКС+стерини+ТІЖК	>1	+

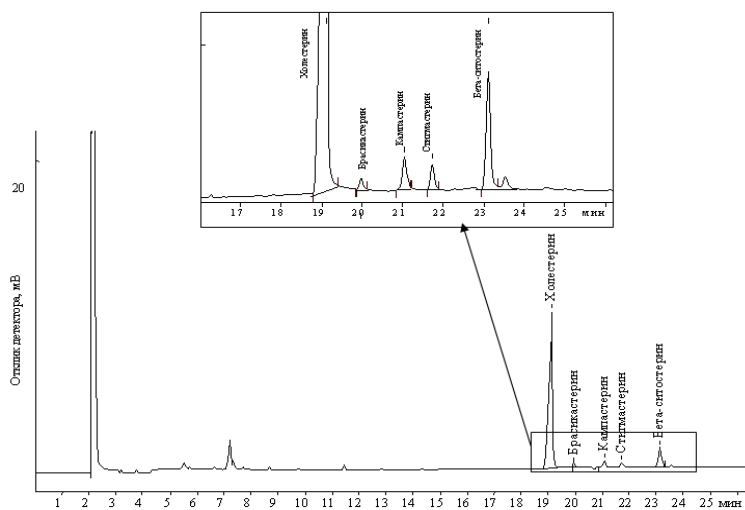
Поставлена задача вирішується тим, що в способі хроматографічної ідентифікації молочної продукції, що включає зважування наважки продукту, який аналізується, з частки 1/3 наважки проводять омилування відібраної проби, вилучення неомильних речовин, відокремлювання стеринів від інших неомильних речовин за допомогою тонкошарової хроматографії та визначення розділених стеринів методом газової хроматографії, який відрізняється тим, що з іншої 2/3 наважки проводять лужний гідроліз тригліцеридів та отримання метилових естерів жирних кислот реакцією етерифікації і подальшим визначенням жирно-кислотного складу з половини цієї наважки методом газорідинної хроматографії та з іншої половини частки наважки проводять визначення вмісту транс-ізомерів жирних кислот методом газової хроматографії.

*Суть способу розглянемо на прикладі дослідження вершкового масла за визначенням його натуральності за трьома критеріями: аналіз жирно-кислотного складу з визначенням вмісту і співвідношення цис-, транс-ізомерів жирних кислот, а також вивчення стеринової фракції зразків.*

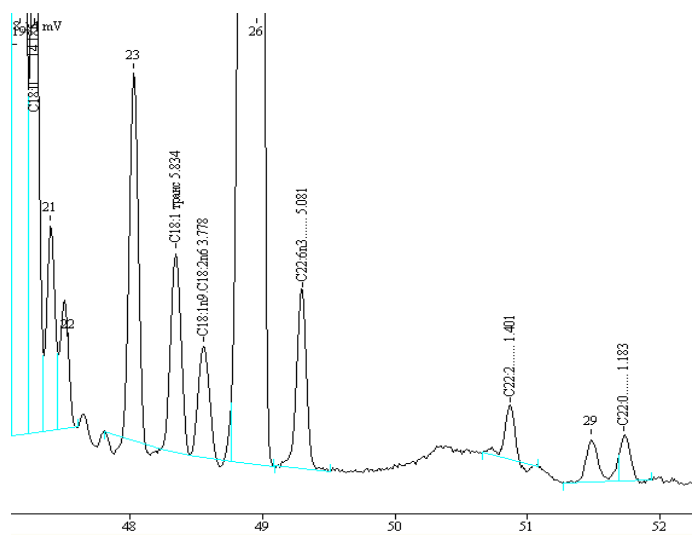
Зважуємо наважку продукту та виділяємо жирову фазу. Потім проводимо лужний гідроліз отриманої жирової фракції з наступним екстрагуванням неполярним розчинником та виділенням стеринової фракції з неомильних речовин методом тонкошарової хроматографії. Аналіз розділених стеринів проводиться методом газової хроматографії з розділенням на насадних або капілярних колонках в ізотермічному режимі з полум'яно-іонізаційним детектуванням. Ідентифікація здійснюється за часом утримання стеринів у стандартних хроматографічних умовах. Наявність на хроматограмі піка бета-ситостерина свідчить про присутність рослинних жирів у продукції. Інші фітостерини додатково підтверджують наявність жирів немолочного походження. Визначення стеринової фракції проводили на хроматографі Shimadzu 14В методом ГХ / ПІД на капілярній колонці з рідкою нерухою фазою ZB-5, довжиною 30 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм, товщиною покриття нерухої фази 0,25 мкм. Температури інжектора і детектора становили 300°C. Термостат колонки: температура початкова 200°C, витримка при ній 2 хв, програмування аналізу 7°C / хв,

кінцева 295°C. Тиск газу-носія на вході в інжектор – 0,1 МПа, розподіл потоку на вході в колонку – 1/20 (скидання в атмосферу – 19/20 частин потоку на виході з інжектора). Газ-носії – азот.

Для визначення ТІЖК в масложировій продукції також зважуємо наважку продукту, виділяємо жирову фазу та проводимо лужний гідроліз тригліцеридів з отриманням метилових естерів жирних кислот реакцією етерифікації. Наважку 50–100 мг (попередньо розплавлену) вміщуємо в скляну пробірку і розчиняємо в 1 мл толуолу. В толуольний розчин вводимо 1 мл метилату натрію в метанолі молярної концентрації 1 М, гріємо до 70–80°C 15–20 хвилин. Суміш охолоджуємо до кімнатної температури і додаємо 1 мл дистильованої води і 1 мл гексану, перемішуємо 10 сек. Відокремлюємо верхній органічний шар і вміщуємо в герметичну ємність (віала з тефлоновою пробкою) з безводним сульфатом натрію. Отриманий фільтрат вводимо в хроматограф в кількості 1 мм<sup>3</sup> за допомогою мікрошприця.



а) стерина фракція (хроматограф “Shimadzu” 14В);



б) ТІЖК C18:1 (хроматограф “Shimadzu” 14 В).

Рис.1. Хроматограми фальсифікованого вершкового масла

Ідентифікація транс-ізомерів проводилася на газорідинному хроматографі “Shimadzu” GC – 14 В з полум’яно-іонізаційним детектуванням за часом утримання ТІЖК в стандартних хроматографічних умовах. Капілярна колонка SP-2560 (сорбент

бісцианопропілполісілоксан), довжина 100 м, внутрішній діаметр 0,25 мм, товщина нерухомої фази 0,2 мкм. Температури інжектора і детектора – 220°C, термостата колонки – 180°C, ізотермічний режим. Газ-носії – водень (25 см<sup>3</sup>/с). Об'єм проби – 0,5 мкл, розподіл потоку 100:1. Тиск газу-носія на вході в інжектор 0,2 МПа, розподіл потоку на вході в колонку (1:20).

Обробка хроматограм проводилась з використанням програмного продукту Мультіхром 1,5х для Windows. В якості стандарту використовувалась суміш жирних кислот С18:1, С18:2, и С18:3 в розчині метиленхлориду.

Відносну масу кожного компоненту  $W_k$ , %, обчислюють за формулою  $W_x = \frac{A_x}{A_t} \cdot 100$ , де  $A_x$  — площа піку, що відповідає компоненту  $x$ , мм<sup>2</sup>;  $A_t$  — сума площ усіх піків, виключаючи пік розчинника, мм<sup>2</sup>.

Типову хроматограму фальсифікату вершкового масла показано на рис.1 а,б.

### ВИСНОВКИ

У роботі розроблено новий спосіб комплексного хроматографічного однозначного встановлення фальсифікації молокопродуктів, який включає аналіз масложирової продукції з метою встановлення її натуральності за трьома критеріями одночасно: визначення загального жирно-кислотного складу (ЖКС), складу стеринової фракції та вмісту транс-ізомерів жирних кислот.

Перевагою запропонованого способу є можливість однозначної ідентифікації рослинних жирів, а також визначення вмісту ТІЖК при виявленні фальсифікації молочної продукції, шляхом введення додаткової стадії хроматографічного визначення складу жирних кислот та ТІЖК. Це дозволяє виявити фальсифікацію молокопродуктів рослинними жирами на рівні їх вмісту навіть нижче 1 %, що неможливо іншими відомими хроматографічними методами.

### Список використаних джерел:

1. ДСТУ ISO 5508-2001 “Жири та олії тваринні і рослинні. Аналізування методом газової хроматографії метилових ефірів жирних кислот”.
2. ДСТУ ISO 3594-2001 “Жир молочний. Виявлення рослинного жиру методом газорідинної хроматографії стеринів (Контрольний метод).”
3. ДСТУ ISO 18609-2004 “Жири тваринні і рослинні та олії. Метод визначення вмісту неомильних речовин з використанням екстрагування гексаном.”
4. ДСТУ ISO 6799-2002 “ Жири та олії тваринні і рослинні. Визначення складу стеринової фракції. Газо-хроматографічний метод”.
5. Рудаков О.Б. Качественная идентификация молочного жира по хроматографическим данным/ Рудаков О.Б., Полянский К.К., Алексюк М.П. // Журнал аналит. химии. – 2002. – 57, № 12. – С.1267-1275.
6. Кириллова Л.Г. Метод определения фальсификации сливочного масла/ Кириллова Л.Г., Алексюк М.П., Батищева Л.В. // Переработка молока. – 2005. – № 1. – С 14.
7. Рудаков О.Б. Развитие метода интерпретации хроматограмм животных жиров/ Рудаков О.Б., Полянский К.К. // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2001. – № 10. – С. 40-42.
8. Боев А.И. Способ идентификации сливочного масла методом газовой хроматографии / А.И. Боев, С.Ю. Никитина, К.К. Полянский // Сыроделие и маслоделие. – 2001. - № 2. - С. 42-43.
9. Полянский К.К. Определение жирно-кислотного состава молочного жира и его фальсификации/ Полянский К.К., Голубева Л.В., Долматова О.И.// Сыроделие и маслоделие. 2002. № 1. С.10.

10. Fraga M. Composition of the sterol fraction of caprine milk fat by gas chromatography and mass spectrometry / M. Fraga, J. Fontecha, L. Lozada, I. Martinez-Castro // *Journal of Dairy Research*. – 2010. – V. 67. - № 3. - P. 437-441.
11. ГОСТ Р 52677-2006. Масла растительные и жиры животные и продукты их переработки. Методы определения массовой доли транс-изомеров жирных кислот.
12. Pelillo M. Identification of plant sterols in hexaploid and tetraploid wheats using gas chromatography with mass spectrometry / M. Pelillo, G. Iafelice, E. Marcon, M.F. Caboni // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2008. – V. 17. – P. 2245-2252.
13. Лепилкина О.В. Методы установления фальсификации жировой фазы продуктов/ О.В. Лепилкина // *Сыроделие и маслоделие*. – 2011. - № 5. - С. 42-
14. Коваленко Д. Н. Фальсификация молока и молочных продуктов/ Д. Н. Коваленко// *Переработка молока*. – 2015. - № 3. - С. 32-37.
15. Bufau C. Rapid and Quantitative Determination of Total sterols of plant and animal origin in Liver Samples by gas-chromatography // C.Bufau, R. Coolony, M. Rafelas // *J. Chromatographia*. – 2006. - № 11. - P. 9-12.
16. Brufau G. Rapid and quantitative determination of total sterols of plant and animal origin in liver samples by gas chromatography / G. Brufau, R. Codony, M.A. Canela, M. Rafecas // *J. Chromatographia*. – 2006. –V. 64. – P. 559-563.