

Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2007

Н. В. Сизова, Н. Ю. Андреева

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА Е В РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЛАХ МЕТОДОМ МИКРОКАЛОРИМЕТРИИ

Институт химии нефти СО РАН, Томск

Методом микрокалориметрии определено содержание витамина Е (токоферолов) в натуральных растительных маслах. Метод относится к кинетическим методам определения витамина Е, основываясь на способности токоферола ингибировать реакции жидкофазного радикального окисления. На модельной реакции инициированного окисления кумола показано, что жирные масла тормозят радикальную реакцию с периодом индукции, пропорциональным содержанию токоферолов в масле. Определенные в работе количества токоферолов хорошо согласуются с литературными данными. По экспериментальным кривым вычислены константы скорости ингибирования окисления, которые для всех масел (рыжиковое, сурепное, рапсовое, кедровое) отличаются незначительно и составляют $k_7 = (1,4 - 6,8) \cdot 10^4$ моль/л · с.

Пищевые растительные масла являются сложными, многокомпонентными объектами для анализа, поэтому развитие новых методов определения витаминов в растительных маслах всегда актуально. Одним из ценных для организма человека жирорастворимых витаминов является витамин Е — витамин молодости, красоты, продолжения рода. Чем больше в масле витамина Е и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), тем большую пищевую ценность имеет масло. ПНЖК довольно легко окисляются кислородом воздуха, и одним из факторов устойчивости масел к автоокислению является наличие комплекса природных антиоксидантов. Известны работы, в которых авторы на модельных реакциях цепного радикального окисления разработали метод определения количества токоферола — антиоксиданта в растительных маслах [1, 2]. В настоящее время наиболее используемым способом определения токоферола является метод хроматографии [3], недостатком такого способа является длительная пробоподготовка, в процессе которой возможны потери токоферола, а также изменение структуры исследуемых компонентов. Поэтому развитие кинетических методов определения токоферолов в растительных объектах с использованием их способности быть активными антиоксидантами перспективно и востребовано. Ранее нами был предложен метод микрокалориметрии для измерения активности синтетических и природных антиоксидантов [4–6], который в данной работе мы применили для определения витамина Е.

Развитие идей здорового питания заставляет бережно относиться к переработке сырья и производить продукты питания с минимальными потерями ценных компонентов. Растительные масла, полученные прессованием, содержат сбалансированный антиоксидантный комплекс, который состоит из токоферолов, каро-

тиноидов, фосфолипидов. К сожалению, дезодорация, рафинация растительных масел приводят к нарушению баланса природных антиоксидантов, что ведет к ускоренной окислительной порче липидов. Установлено, что в процессе дезодорации масла содержание витамина Е понижается незначительно [7], а фосфолипиды, которые являются синергистами витамина Е [8], практически полностью удаляются, как следствие этого естественная стабильность масла значительно снижается. В таких случаях для предупреждения окисления жиров и масел в пищевых продуктах применяют синтетические антиоксиданты (пропил-, октил-, додецилгаллаты, бутилоксанизол, бутилокситолуол), которые относятся к разрешенным пищевым добавкам [9]. Пищевые антиоксиданты хорошо предохраняют от радикального окисления, но продукты их преобразования токсичны и имеют побочные эффекты. Это заставляет производителей искать антиоксиданты растительного происхождения, так как они безопасны, универсальны по составу, многообразны по механизмам действия и в природе гармонично дополняют друг друга [10].

Многочисленными исследованиями установлено, что эффективный антиоксидант цепного жидкофазного окисления — это пространственно-экранированный фенол, полифенол или соединение, содержащее хиноидную группу [11]. Для тестирования жирорастворимых, как синтетических, так и природных, антиоксидантов разработаны методики на основе окисления индивидуальных веществ, жирно-ароматических и ненасыщенных липидов [1, 2, 4–6, 11].

Эффективность натуральных антиоксидантов почти не уступает синтетическим. Например, авторы работы [12] показали, что антиоксиданты экстрактов розмарина и шалфея по сравнению с бутилоксанизолом ак-

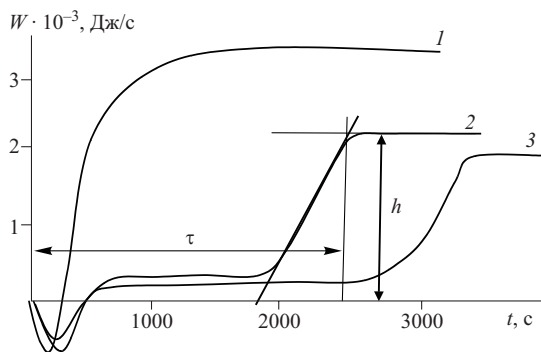


Рис. 1. Кривые тепловыделения модельной реакции окисления кумола в присутствии ингибиторов различного типа: 1 — без ингибитора; 2 — нерафинированное рапсовое масло $C = 28,3$ г/л; 3 — нерафинированное рыжиковое масло $C = 63,1$ г/л.

тивнее в 1,5 – 2 раза, что, при возможно большей стоимости растительных антиоксидантов, позволит сократить его расход в пищевых продуктах.

В заводских лабораториях, следящих за качеством продуктов, методом определения степени окисления масла является измерение количества продуктов перекисного окисления — кислот и перекисей по государственному стандарту [13]. Таким же методическим приемом воспользовались авторы исследовательской работы [14] для определения антиоксидантных свойств эфирных масел — определяли рост перекисного числа подсолнечного масла с добавками эфирных масел при 70 °С в течение 28 дней.

В работе [15] авторы пользуются двумя методами (методом хемилюминисценции и активного кислорода) для оценки влияния ряда антиоксидантов (токоферолы, экстракты розмарина, шалфея, лецитины) на устойчивость рыбьего жира к окислению. Примененные в рамках одной работы методы плохо коррелируют друг с другом, и авторы делают вывод: для оценки активности природных антиоксидантов необходимо одновременно применять несколько экспериментальных методов.

Ранее нами был предложен кинетический метод микрокалориметрии для определения содержания и активности антиоксидантов в многокомпонентных смесях [4 – 6], представляло интерес определить этим методом содержание витамина Е в ряде пищевых масел. В настоящей работе мы измерили количество токоферолов в маслах разных видов, также маслах одного вида, но от разных производителей, сравнили содержание витамина Е в нерафинированных и рафинированных, дезодорированных маслах.

Материалы и методы

Измерения проведены на микрокалориметре МКДП-2, произведенном в ИХН СО РАН по оригинальной конструкции [16]. Метод микрокалориметрии относится к кинетическим методам и основан на регистрации теплоты модельной реакции инициированного окисления кумола в присутствии добавок натураль-

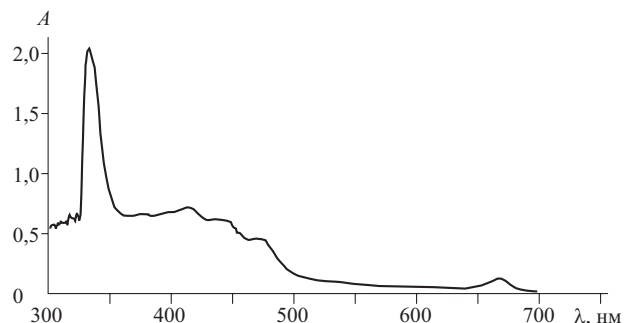


Рис. 2. Разностные спектры электронного поглощения масла рыжика. В ячейке сравнения рафинированное, дезодорированное масло рыжика, в рабочей ячейке нерафинированное масло рыжика. Растворы масел в гексане 50 % вес.

ных масел [4 – 6]. При наличии активного антиоксиданта данный метод позволяет оценивать активность ингибиторов — константу k_7 — по приведенной ниже формуле (2), и стехиометрический коэффициент ингибирования (f) по формуле (3).

По периоду индукции реакции окисления кумола можно оценить концентрацию антиоксидантов для сложных смесей природного происхождения, состав которых точно не известен [4 – 6]. Ограничение метода — растворимость исследуемых фракций в кумоле, из объектов, выделенных из растительного сырья (жирные, эфирные масла, липидные фракции растений).

Опустим подробное описание общеизвестной схемы окисления с участием ингибитора [17], приведем реакции принципиальных стадий продолжения радикальных цепей (реакция II) и их обрыва на ингибиторе (реакция VII). Определяемая константа скорости ингибирования k_7 относится к взаимодействию пероксирадикала с токоферолом (реакция VII):



Выражение, связывающее мощность тепловыделения со скоростью реакции окисления $w_{\text{ок}}$:

$$W = \Delta H V w_{\text{ок}}, \quad (1)$$

где ΔH — энтальпия изучаемого процесса, равная 111 ± 3 кДж/моль [4], V — объем реакционной смеси, л.

Подробный вывод формулы, методика измерений и расчета констант описана в работах [4 – 6]. Подставляя известные значения концентрации кумола $[\text{RH}]_{60} = 6,9$ моль/л, объема кумола $V = 4$ мл; $k_2 = 1,75$ л/моль · с [1] в приведенное ниже выражение, рассчитываем k_7 :

$$W_t = \Delta H V k_2 / k_7 [\text{RH}] [1 / (\tau - t)]. \quad (2)$$

Если ингибитор эффективный, то обрыв цепей происходит по реакции (VII). В таком случае наблюдается период индукции τ (с), который связан со скоростью

Сравнение данных по содержанию токоферолов (мг%- мг в 100 г), полученных в настоящей работе, с литературными данными. Ингибирующая активность растительных масел измерена на модельной реакции окисления кумола (кислород, $t = 60$ °С, скорость иницирования $w_i = 6,8 \cdot 10^{-8}$ л/(моль·с)).

Сорт масла, производитель	[InH] · 10 ⁻³ моль/кг	Количество токоферолов, мг%		K ₇ · 10 ⁴ л/моль · с
		полученные данные	литературные данные	
Нерафинированное подсолнечное масло (Helianthus) “Полдень” (ООО ПКП “Провансаль”, г. Томск)	2,00	86	51 – 75 [21]	2,0
Рафинированное, дезодорированное подсолнечное масло (Helianthus) “Губинское” (ОАО “Губинское масло”, г. Томск)	1,55	67	51 – 75 [21]	2,0
Нерафинированное подсолнечное масло “Алтай” (Helianthus) (г. Барнаул)	1,64	71	51 – 75 [21]	2,0
Масло зародышей пшеницы (Triticum) (ООО “СибТар”, г. Новосибирск)	6,99	300	200 – 300 [21]	1,8
Нерафинированное масло рыжика (Camelina sativa) (ООО ПКП “Провансаль”, г. Томск)	2,73	117	105 [8]	6,2
Рафинированное, дезодорированное масло рыжика (Camelina sativa) (ООО ПКП “Провансаль”, г. Томск)	1,90	82	91 [8]	1,4
Нерафинированное рапсовое (Brassica napus oleifera) масло (ООО ПКП “Провансаль”, г. Томск)	1,97	85	-	2,5
Рафинированное, дезодорированное масло рапсовое (Brassica napus oleifera) (ООО ПКП “Провансаль”, г. Томск)	1,77	77	-	2,1
Сурепное масло (Berbarea vulgaris) (ООО ПКП “Провансаль”, г. Томск)	2,35	102	-	6,8
Абрикосовое масло (Prunus armeniaca) (ООО НПП “Дары природы”, г. Томск)	1,80	78	-	-
(“Биаск”, г. Москва)	1,84	79	-	-
Масло персиковое (Persica mill.) (ОАО “Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга”, г. Санкт-Петербург)	2,31	100	21 – 41 [23]	-
Миндальное масло (Amygdalus communis) (ООО “Биаск”, г. Москва)	1,15	49	21 – 41 [23]	-
Кедровое масло (Pinus sibirica) (ООО “Дары природы”, г. Томск)	1,00	43	50 – 55 [22]	1,4
(ООО “Лаборатория Рузаева”, г. Томск)	1,44	61	-	-
(ПКП “Лазурин”, г. Новосибирск)	1,30	55	-	-
Масло соевое (Soybean oil) “Идеал”, Аргентина	3,14	136	75 – 170 [21]	0,9

иницирования w_i (л/моль·с) и начальной концентрацией антиоксидантов $[InH]_0$ (моль/л) следующей формулой:

$$\tau = \frac{fn[InH]_0}{w_i} \quad (3)$$

Концентрация антиоксиданта, рассчитанная по формуле (3), будет соответствовать концентрации токоферолов в масле. Основываясь на литературных данных о максимальной антиоксидантной активности альфа-токоферола [18 – 19], молекулярный вес этого гомолога мы используем при расчетах. Примем альфа-токоферол за сильный ингибитор с одной функциональной группой $n = 1$ и стехиометрическим коэффициентом ингибирования $f = 2$, и из периода индукции рассчитаем концентрацию альфа-токоферола. Так как молекулярный вес других гомологов токоферола отличается незначительно, то вносимая ошибка в определение общего количества токоферолов невелика.

В качестве объектов исследования использовали пищевые масла холодного прессования, произведенные ООО ПКП “Провансаль” (Томск): подсолнечное, рапсовое, рыжиковое, сурепное. Кедровое, миндальное, абрикосовое масла произведены фирмой ООО

“Дары природы” (Томск). Названия фирм-производителей приведены в таблице. Для рапсового и рыжикового масел представилась возможность сравнить содержание витамина Е в нерафинированных и рафинированных, дезодорированных маслах.

Объекты изучались в соответствии с методиками, разработанными в Институте химической физики РАН [1, 2, 11, 17, 20] на модельной реакции радикального инициированного окисления кумола при 60 °С, инициатор — азо-бис-изобутиронитрил (АИБН), скорость инициирования — $w_i = 6,8 \cdot 10^8$ л/моль·с.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 приведены кривые тепловыделения модельной реакции инициированного окисления кумола с добавками жирных масел. Наблюдаемый период индукции на экспериментальных кривых пропорционален концентрации токоферола в реакционной ячейке.

В зависимости от исходного сырья, способа производства в масле одного вида содержание витамина Е сильно колеблется (таблица). Например, для подсолнечных масел, произведенных разными фирмами, нами получено содержание токоферола от 67 до 86 мг%, литературные данные — от 50 до 80 мг% [21].

По данным [22] в кедровом масле содержится 55 мг% токоферолов. Нами определено в кедровых маслах разного происхождения от 43 до 61 мг% токоферолов, максимальное количество обнаружено в масле ООО “Лаборатория Рузаева”, полученном холодным прессованием. Меньшее количество витамина Е установлено в образце фирмы ООО “Дары природы”, возможно, это объясняется тем, что при нагревании ореха для лучшего выхода масла часть токоферолов в процессе прессования расходуется как антиоксидант на предотвращение окисления жирных кислот масла.

Рассмотрим вопрос о потере токоферолов в процессе дезодорации масла. Методом газовой капиллярной хроматографии установлено уменьшение токоферолов в процессе рафинации, дезодорации масла рыжика со 105 до 91,3 мг% [7], нами определено уменьшение со 117 до 82 мг% (см. таблицу).

Для изученных растительных масел холодного прессования рассчитаны константы скорости ингибирования, величины констант $k_7 = (1,4 - 6,8) \cdot 10^4$ моль/л·с (таблица), что меньше приводимых в литературе [1, 18]. Для рыжикового масла более высокое значение имеет константа скорости ингибирования для нерафинированного масла — $6,2 \cdot 10^4$ л/моль·с, чем для рафинированного, дезодорированного — $1,4 \cdot 10^4$ л/моль·с, та же закономерность отмечена и для рапсового масла.

Отличие состава нерафинированного и рафинированного масла рыжика видно по разностным спектрам электронного поглощения в видимом диапазоне света. На рис. 2 приведены УФ-спектры масел в области 200 – 700 нм, спектры сняты на приборе UVIKON 943. Спектры поглощения нерафинированного масла, в отличие от дезодорированного, имеют пики, характерные для α - β - ξ -каротинов (448, 375, 342 нм), хлорофилла а и b (668, 452 нм), ликопина (474, 446 нм) [24, 25].

Можно сделать выводы, что применяемая нами методика определения витамина Е чутко реагирует на наличие компонентов в масле, усиливающих действие токоферола, ещё раз подтверждая явление синергизма в растительных объектах.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Харитонов, З. Г. Козлова, В. Ф. Цепалов, Г. П. Гладышев, *Кинетика и катализ*, **XX**(3), 593 – 599 (1979).
2. Л. М. Радченко, В. Ф. Цепалов, М. Е. Кончаловская и др., *Способ количественного определения ингибитора-токоферола в подсолнечном масле*, А. с. 761902 кл G 01 № 31 к₇ 00.
3. *Масла растительные. Методы определения массовых долей витаминов А и Е. ГОСТ 30417–96. Издательство стандартов*, Москва (1997).
4. А. А. Великов, В. И. Карпицкий, В. И. Сизова, *Кинетика и катализ*, **29**(2), 321 – 325 (1988).
5. Н. В. Сизова, *Дисс. на соиск. уч. ст. канд. хим. наук*, Томск (2002).
6. А. А. Великов, Н. В. Сизова, Патент России № 224205, *Бюл. изобрет.*, № 9 (2005).
7. Н. В. Сизова, И. В. Пикулева, Т. М. Чикунова, *Химия растительного сырья*, **2**, 27 – 31 (2003).
8. Н. М. Сторожок, *Тез. докл. IV международной конференции “Биоантиоксидант”*, Москва (2002), сс. 555 – 557.
9. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. СанПиН 2.3.2. 560-96, С-Петербург (1998).
10. Н. В. Сизова, И. Ю. Попова, А. Р. Водяник, *Тез. докл. I Международной научно-практической конференции “Сверхкритические флюидные технологии: инновационный потенциал России”*, 29 июня — 1 июля 2004 г., Ростов-на-Дону (2004), сс. 98 – 102.
11. В. А. Рогинский, *Фенольные антиоксиданты*, Наука, Москва (1988), с. 72.
12. В. Weinreich, *Ernahrungsindustrie*, **10**, 34 – 36 (1995).
13. ГОСТ 26593–85. Масла растительные. Метод измерения перекисного числа. Введен 01.01.86. Из-во стандартов, Москва (1994).
14. G. Singh, I. P. S. Kapoor, S. K. Pandey, *J. Sci. Ind. Res.*, **57**(3), 139 – 142 (1998).
15. Ivan C. Burkov, Line Vikersveen, Kristin Saarem, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **72**, 553 – 557 (1995).
16. А. А. Великов, А. А. Вичутинский, А. с. СССР № 1437696, *Бюл. изобрет.*, **42**, 171 (1988).
17. Н. М. Эмануэль, Д. Гал, *Окисление этилбензола*, Наука, Москва (1984).
18. Е. Б. Бурлакова, Н. Г. Храпова, *Успехи химии*, **LIV**(9), 1540 – 1558 (1985).
19. Н. И. Белая, Т. А. Филиппенко, А. Н. Николаевский, И. А. Опейда, *Тез. докл. конф. О реакционной способности токоферолов как антиоксидантов*, Биоантиоксидант, Москва (2002), сс. 655 – 656.
20. В. С. Никитина, Г. В. Шендель, А. Я. Герчиков, Н. Б. Ефименко, *Хим.-фарм. журн.*, **34**(11), 25 – 27 (2000).
21. Витамины, В. В. Смирнов (ред.), *Медицина*, Москва (1974), с. 128.
22. А. А. Ефремов, *Химия растительного сырья*, **3**, 83 – 86 (1998).
23. А. А. Рихтер, Г. И. Нилов, В. И. Кривенцов, *Растит. ресурсы*, **13**(вып. 4), 675 – 679 (1977).
24. Ф. Л. Калинин, В. П. Лобов, В. А. Жидков, *Справочник по биохимии*, Наукова думка, Киев (1971).
25. *Установление структуры органических соединений физическими и химическими методами*, Химия, Москва (1967).

Поступила 07.06.05

MICROCALORIMETRIC DETERMINATION OF VITAMIN E IN PLANT OILS

N. V. Sizova and N. Yu. Andreeva

Institute of Petroleum Chemistry, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634021 Russia

The content of vitamin E (tocopherols) in various natural plant oils was determined using a kinetic microcalorimetric technique based on the ability of tocopherol to inhibit liquid-phase radical oxidation reactions. Using the model reaction of induced cumol oxidation, it is shown that fatty oils inhibit this radical oxidation process with an induction period proportional to the content of tocopherol in the plant oil sample. The results of analyses agree well with the published data. The inhibition rate constants calculated from the experimental data for cameline, winter-cress, rape, and cedar oils exhibit rather insignificant differences, amounting on the average to $k_7 = (1.4 - 6.8) \times 10^4$ (mole liter)/s.