

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

**Применение ИК и КР спектроскопии для определения мононенасыщенных
и полиненасыщенных жиров в растительных маслах**

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД ОБ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ ПОДГОТОВЛЕННОЙ
НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ (ДИССЕРТАЦИИ)

аспиранта 4 курса
направления 03.06.01 «Физика и астрономия»
физического факультета

Новоселовой Анны Владимировны

Научный руководитель

профессор кафедры оптики и биофотоники,

д.ф.-м.н., профессор

_____ К.В. Березин

Саратов 2019

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Известно, что спектроскопия ИК и КР является чувствительным, неразрушающим методом анализа различных жиров и липидов. Структурные особенности триглицеридов различных кислот заметно проявляются в колебательных спектрах, позволяя использовать спектроскопию ИК и КР как инструмент для качественного и количественного определения кислотного состава жиров.

Большой интерес к определению жирнокислотного состава масел растительного происхождения связан с одной стороны с важной ролью жиров в правильном рационе питания, с другой стороны, регистрация изменений в типичном жирнокислотном составе растительных масел позволяет отличить натуральный продукт от его фальсификата. Особенно это касается наиболее часто подделываемого, оливкового масла, обладающего хорошими органолептическими свойствами и полезным воздействием на организм человека. Большое количество подделок связано с тем, что объемы мирового производства оливкового масла относительно небольшие, а цена его довольно высока по сравнению со многими другими растительными маслами. В связи с этим применению методов спектроскопии ИК и КР для исследования жирнокислотного состава различных масел растительного и животного происхождения является актуальной.

По данным хроматографического анализа различных масел известно, что жирнокислотную основу оливкового масла и масла семян подсолнечника составляют олеиновые (омега-9) и линолиевые (омега-6) кислоты, из которых последняя является незаменимой, т.е. не синтезируется организмом из других кислот, а попадает в него только с пищей. При планировании правильного рациона питания очень важно соблюдать баланс, как между незаменимыми полиненасыщенными кислотами омега-3 и омега-6, так и между полиненасыщенными и мононенасыщенными, из которых олеиновая кислота является самой распространенной. Таким образом, экспресс анализ жирнокислотного состава наиболее употребляемых в пищевом рационе растительных масел необходим не только для выявления их фальсификации, но и для планирования правильного рациона питания.

Цель и основные задачи работы

Цель проведенных исследований заключается в построении теоретических моделей оливкового масла и масла семян подсолнечника, интерпретации их экспериментальных ИК и КР спектров для установлении с их помощью содержания олеиновых и линолиевых кислот и доли масла семян подсолнечника в смеси при фальсификации оливкового масла холодного отжима.

Достижение поставленной цели предполагает решение следующих задач:

- Расчеты равновесных электронных конфигураций молекул ряда карбоновых кислот и некоторых их триглицеридов, входящих в состав оливкового масла и масла семян подсолнечника методом функционала плотности.
- Моделирование и анализ теоретических ИК и КР колебательных спектров рассчитанных карбоновых кислот и их триглицеридов на влияние количества ненасыщенных связей в цепи.
- Построение теоретических моделей ИК и КР спектров оливкового масла и масла семян подсолнечника на основе рассчитанных карбоновых кислот и их триглицеридов.
- Экспериментальная регистрация ИК и КР-спектров ряда оливковых масел и масел семян подсолнечника и их смеси друг с другом в различных процентных отношениях.
- Нахождение аналитических полос в ИК и КР спектрах зависящих и независящих от степени насыщенности жирных кислот и их измерение относительной интенсивности.
- Получения уравнений для определения относительного содержания олеиновых и линолиевых кислот в оливковых маслах и маслах семян подсолнечника, так и для оценки доли масла семян подсолнечника в смеси при фальсификации оливкового масла холодного отжима

Научная новизна работы

- Построены квантовые модели триглицеридов олеиновой, линолевой, стеариновой и пальмитиновой кислоты с помощью метода теории функционала плотности на основании, которых, построены спектральные модели оливкового масла и масла семян подсолнечника.
- С использованием экспериментальных ИК и КР спектров ряда оливковых масел и масел семян подсолнечника по относительной интенсивностей выбранных аналитических полос получены уравнения для определения относительного содержания олеиновых и линолиевых кислот и оценки доли масла семян подсолнечника в смеси при фальсификации оливкового масла холодного отжима

Практическая значимость результатов

Полученные теоретические модели оливкового масла и масла семян подсолнечника могут быть использованы и расширены для исследования различных растительных и животных масел и жиров. Полученные уравнения с использованием экспериментальных ИК и КР спектров оливкового масла и масла семян подсолнечника могут использоваться для определения относительного содержания олеиновых и линолиевых кислот, и оценки доли масла семян подсолнечника в смеси при фальсификации оливкового масла холодного отжима.

Достоверность результатов диссертации

Достоверность результатов обеспечивается комплексным подходом к проведению исследований, сочетающим эксперимент и теорию, использованием физически корректных моделей, обоснованных методов и приближений, согласием теоретических и экспериментальных данных по колебательным спектрам. Достоверность полученных результатов также подтверждена отсутствием противоречий между ними и результатами, опубликованными другими авторами.

Основные результаты и положения, выносимые на защиту

- Результаты расчетов равновесных электронных конфигураций и спектральных характеристик ряда карбоновых кислот и их триглицеридов.
- Теоретические модели оливкового масла и масла семян подсолнечника и на их основе интерпретации экспериментальных ИК и КР спектров
- Полученные уравнения определяют относительное содержание олеиновых и линолиевых кислот в оливковых маслах и маслах семян подсолнечника и дают оценку доли масла семян подсолнечника в смеси при фальсификации оливкового масла холодного отжима

Апробация работы

Результаты диссертационной работы докладывались на следующих Российских и международных научных мероприятиях:

- Международные симпозиумы и международные молодежные научные школы, Saratov Fall Meeting 2016, 2017, 2018.

Содержание и основные результаты диссертации отражены в научных публикациях: 3 статьи, опубликованных в периодических изданиях, цитируемых в базе данных Scopus и Webofscience и 1 – в других материалах научных мероприятий.

Личный вклад соискателя

Личный вклад соискателя состоит в участии в постановке задач, в проведении всех экспериментальных исследований и моделировании исследуемых растительных масел, анализе и обработке полученных результатов с последующим их использованием для определения относительного содержания в исследуемых маслах олеиновых и линолиевых кислот.

Структура и объем диссертации

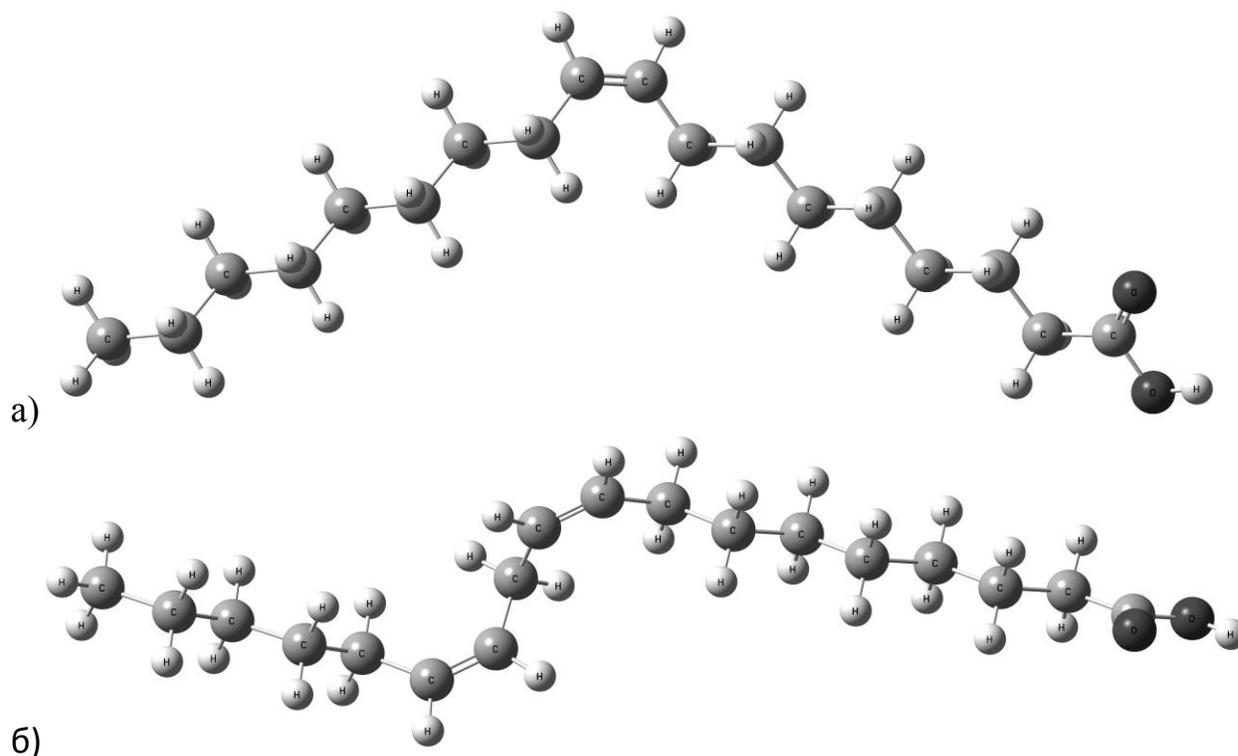
Диссертация состоит из введения, четырёх глав, заключения, списка литературы из 152 наименований. Общий объем диссертации составляет 100 страницы текста, включающего 10 таблиц и 29 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** дано обоснование актуальности темы, сформулированы цель и задачи исследования, показаны научная новизна и практическая значимость работы.

В **первой главе** Обсуждены теоретические методы исследования структуры и спектральных свойств карбоновых кислот и их триглицеридов. Более подробно описаны базисные наборы и методы теории функционала плотности (ТФП) и теоретической колебательной спектроскопии. Результатом рассмотрения стал выбор метода ТФП, функционала B3LYP с базисом 6-31G (d) для молекулярного моделирования.

Во **второй главе** указаны основные физико-химические свойства исследуемых карбоновых кислот входящих в состав растительных масел, которые в значительной степени определяются отсутствием и наличием, а также количеством ненасыщенных связей. Представлены структурные модели следующих карбоновых кислот: олеиновой, линолевой, α -линоленовой, арахидоновой, эйкозапентаеновой, докозагексаеновой, стеариновой и пальмитиновой.



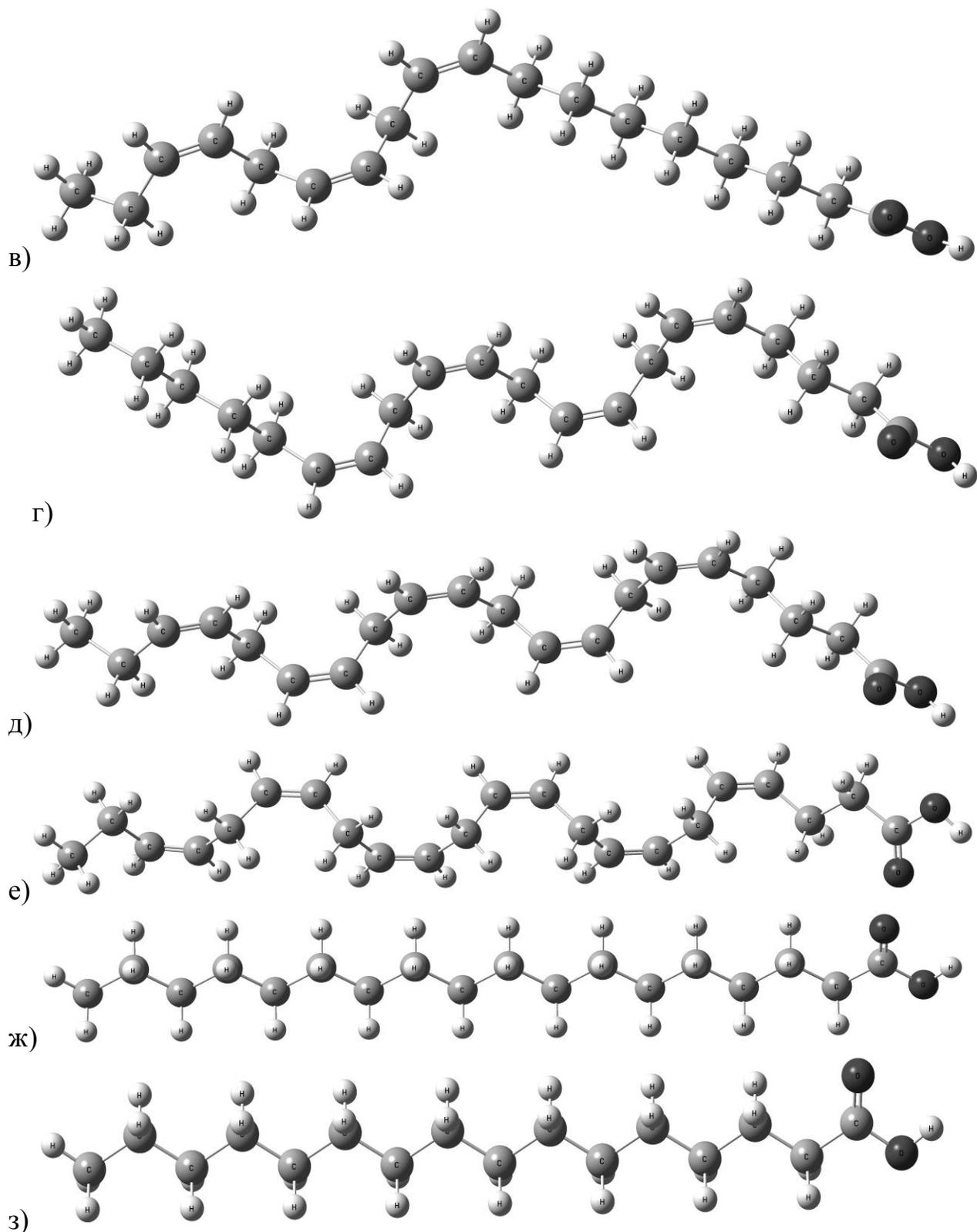


Рис.1. Структура карбоновых кислот содержащиеся в растительных маслах, вычисленные методом DFT/B3LYP/6-31G(d): а) олеиновая, б) линолевая, в) α -линоленовая, г) арахидоновая, д) эйкозапентаеновая, е) докозагексаеновая, ж) стеариновая, з) пальмитиновая

Как видно из рис.1 первых шесть рассматриваемые карбоновые кислоты являются ненасыщенными, т.е. имеют в своей цепи двойные углерод-углеродные связи в *цис*-конфигурации. К кислотам омега-9 относится олеиновая кислота триглицерид которой является основой оливкового масла. Кислоты омега-6 это линолиевая и арахидоновая и омега-3, это α -линоленовая, эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты являются незаменимыми для организма человека и поступают в организм только из пищи. Остальные кислоты стеариновая и пальмитиновая относятся к насыщенным кислотам.

Для построения теоретических моделей оливкового масла и масла семян подсолнечника мы рассчитали триглицериды четырехосновных карбоновых кислот- олеиновой, линолевой, стеариновой и пальмитиновой составляющих основу этих масел. Расчеты остальных ненасыщенных карбоновых кислот использовались для изучения влияния степени ненасыщенности на интенсивности и положение колебательных полос в ИК и КР спектрах. Строение вычисленных методом DFT/B3LYP/6-31G(d) триглицеридов карбоновых кислот показаны на рис.2.

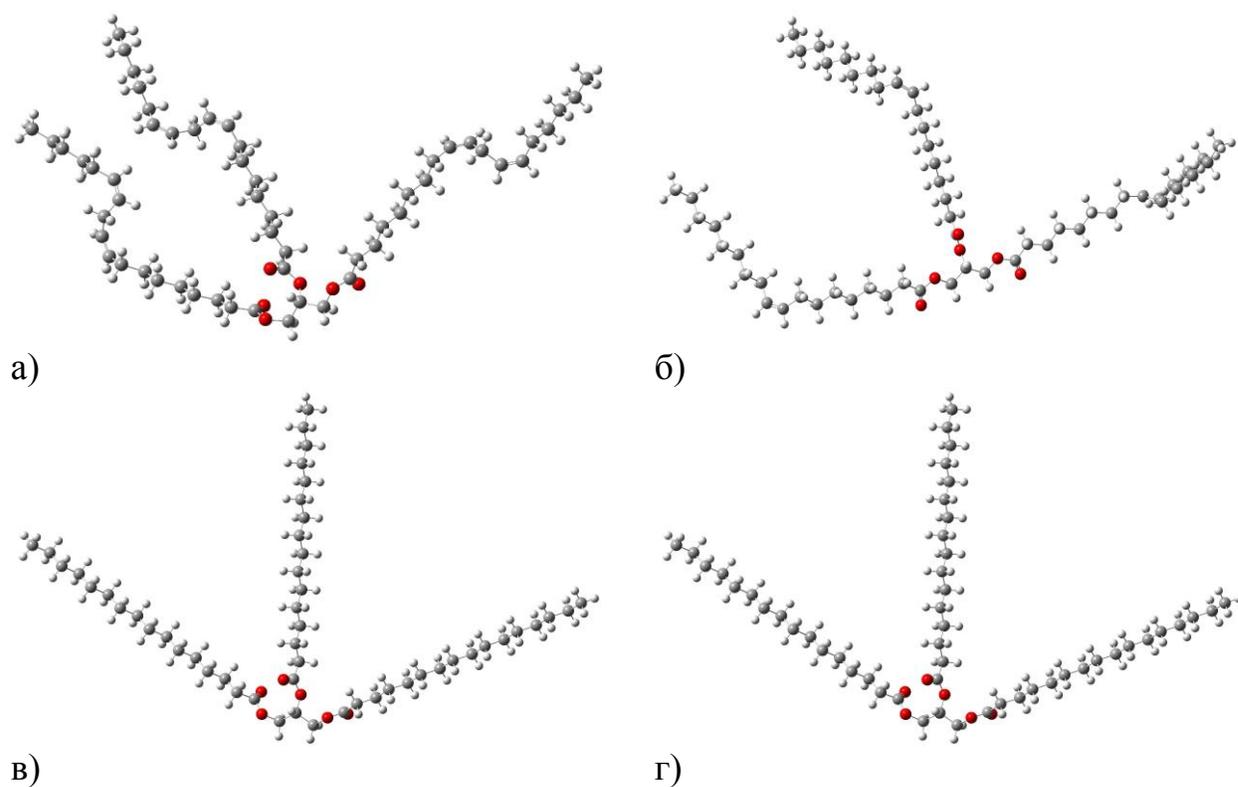


Рис.2. Пространственная структура триглицеридов жирных кислот: а) линолевой, б) олеиновой, в) пальмитиновой г) стеариновой рассчитанная в рамках метода DFT/B3LYP/6-31G(d).

Как показали предварительные расчеты наиболее низкоэнергетической конформацией положения кислот относительно глицериновой сшивки является та, при которой атомы кислорода карбонильных групп крайних цепей смотрят в

одну сторону, а центральной в другую. Отсутствие в расчетах отрицательных значений волновых чисел является подтверждением наличия локальных минимумов в заданных конфигурациях. Сравнения вычисленных значений геометрических параметров триглицеридов и соответствующих жирных кислот показали, что глицериновая сшивка не оказывает существенного влияния на структуру кислот. Максимальные изменения длин валентных С-Ои С-С связей вблизи сшивки составили соответственно 0.004 и 0.002 ангстрема, а валентных углов О-С-С и С-С-С -1.4 и 0.1 градуса.

Как показано выше глицериновая сшивка карбоновых кислот мало влияет на структуру цепей, при этом ИК спектр сравнительно с отдельными кислотами отличается по положению некоторых полос поглощения и их интенсивностям.

На рис.3. представлены совмещенные друг с другом теоретические ИК и КР спектры линолевой кислоты и ее триглицерида. Для более удобного сопоставления спектров рассчитанные значения интенсивностей линолевой кислоты были увеличены в три раза.

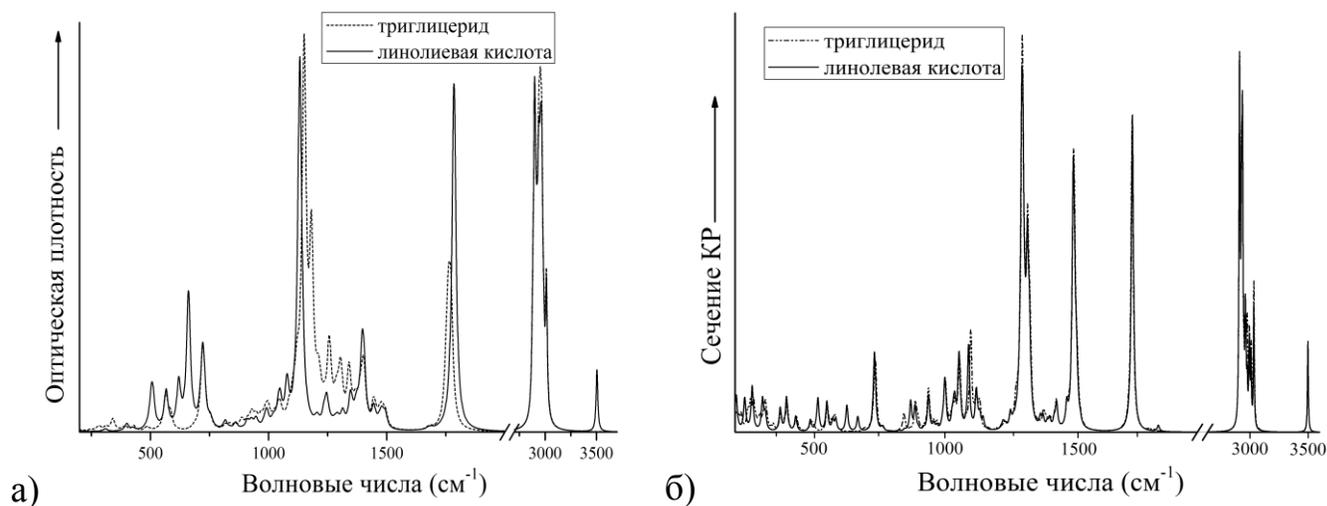


Рис.3 Сравнительные теоретические ИК а) и КР б) спектры триглицерида и отдельной линолевой кислоты с утроенной интенсивностью вычисленные методом DFT/B3LYP/6-31G(d).

Как видно из рис.3 а) наибольшие различия в теоретических спектрах наблюдаются в областях $300-700\text{ см}^{-1}$, и $1000-1200\text{ см}^{-1}$, кроме этого в высокочастотной области спектра линолевой кислоты наблюдается полоса поглощения $\nu_{\text{теор.}} = 3504\text{ см}^{-1}$ образованная согласно расчету валентным колебанием ОН гидроксильной группы, которая отсутствует у триглицерида. В низкочастотной области у триглицерида имеется слабоинтенсивная полоса $\nu_{\text{теор.}} = 342\text{ см}^{-1}$, которая отсутствует у мономера. Это полоса, образованная деформационным колебанием с преимущественной локализацией на глицериновом фрагменте. Полоса $\nu_{\text{теор.}} = 508\text{ см}^{-1}$ образована двумя колебаниями с $\nu_{\text{теор.}} = 508\text{ см}^{-1}$ и $\nu_{\text{теор.}} = 508\text{ см}^{-1}$ первое из них образовано деформационным колебанием, связанным с изменением

нескольких валентных С-С-Суглов вблизи карбонильной группы, а второе деформационным колебанием с участием гидроксильной группы. Три колебания, которые по форме аналогичны первому из вышеописанных имеют в триглицериде очень слабую интенсивность и в теоретическом спектре практически не видны. Полоса $\nu_{\text{теор.}} = 620 \text{ см}^{-1}$ образована деформационным колебанием при котором изменяется валентный угол О-С=О. Полоса $\nu_{\text{теор.}} = 662 \text{ см}^{-1}$ образована деформационным колебанием гидроксильной группы. В области $1000\text{-}1200 \text{ см}^{-1}$ в теоретическом спектре то же наблюдается ряд различий, связанных с глицериновой сшивкой жирных кислот. Так вместо одной интенсивной полосы образованной валентными колебанием С-Освязей $\nu_{\text{теор.}} = 1132 \text{ см}^{-1}$, формируются три отдельные полосы, две из которых $\nu_{\text{теор.}} = 1150 \text{ см}^{-1}$ и $\nu_{\text{теор.}} = 1182 \text{ см}^{-1}$ имеют относительно высокую интенсивность. Такое разделение связано с неэквивалентным пространственными положениями кислот относительно глицеридной сшивки. Этим же объясняется и небольшое различие в положении полос поглощения, образованных валентными колебаниями С=Освязей сложноэфирных групп. Аналогичные различия наблюдаются и при сравнении спектров других жирных кислот и их триглицеридов.

В отличии от ИК спектра, как видно из рис.3 б), глицериновая сшивка слабо оказывает влияние на КР спектр линолевой кислоты поскольку колебания гидроксильных групп (кроме валентных О-Н колебаний $\nu_{\text{теор.}} = 3500 \text{ см}^{-1}$) и С-Освязей не интенсивны в спектре комбинационного рассеяния света. Из рисунка видно, что практически отсутствуют значимые частотные сдвиги, а интенсивность основных КР полос фактически прямо пропорциональна числу цепей. Это позволяет при теоретическом моделировании КР спектров растительных масел использовать структурные модели только отдельных жирных кислот, что существенно экономит время теоретических расчетов интенсивности КР спектров при расчетах триглицеридов.

В третьей главе представлены результаты использования ИК спектроскопии и построенных теоретических моделей оливкового масла и масла семян подсолнечника для определения относительного содержания триглицеридов олеиновых и линолевых кислот в смеси этих двух масел.

Экспериментальные исследования проводились на ИК фурье-спектрометре Frontier фирмы Perkin Elmer в диапазоне $650\text{-}3800 \text{ см}^{-1}$. Инфракрасные спектры были сняты на приставке НПВО. Общие условия проведения экспериментов были следующие: атмосферное давление – 762 мм.рт.ст., температура – 25°C , относительная влажность – 42%, разрешение прибора – 4 см^{-1} , режим – 32 scan. Для исследования были выбраны 5 образцов масел семян подсолнечника и 5 образцов оливкового масла для которых известен жирнокислотный состав. Все образцы растительных масел были закуплены в продуктовых магазинах г. Саратова, РФ. Для построения экспериментальной зависимости и тестирования воз-

возможностей, полученных в данной работе эмпирических зависимостей интенсивности ИК полос от относительного содержания в смеси масел триглицеридов олеиновой и линолевой жирных кислот дополнительно были зарегистрированы ИК спектры объемных смесей оливкового масла и масла семян подсолнечника (доля каждого масла в смеси варьировалась от 10 до 90% с шагом 10%).

Теоретические ИК спектры моделей исследуемых масел строились при полуширине всех лоренцевых контуров 10 см^{-1} . Для лучшего согласия с экспериментом вычисленные значения колебательных волновых чисел были скорректированы с помощью метода линейного масштабирования частот. Интегральная интенсивность экспериментальных полос определялась путем подсчета количества пикселей в ограниченном снизу контуре при разрешении спектрограммы 600 dpi .

Экспериментальные ИК спектры образцов оливкового масла и масла семян подсолнечника показаны на рис.5.

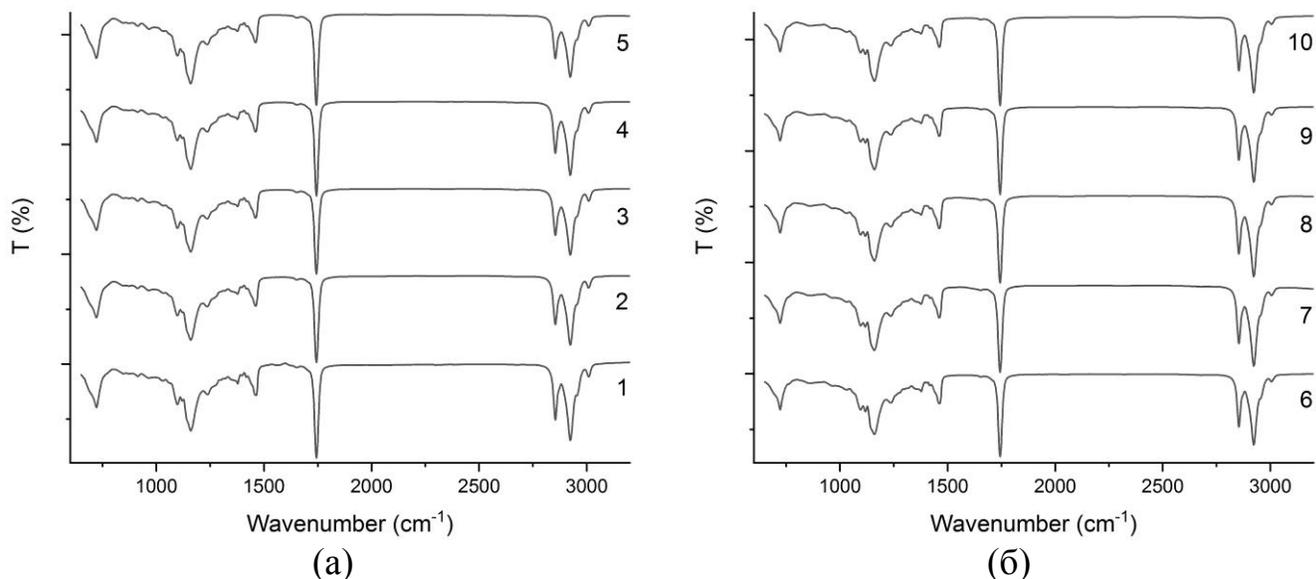


Рис. 5 Экспериментальные ИК спектры масел семян подсолнечника (а) и оливковых масел (б) в области $650\text{-}3200 \text{ см}^{-1}$. Цифрами на графиках обозначены номера образцов масел.

Для нашего исследования в качестве аналитических мы выбрали следующие две полосы в ИК спектре. Первая $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ см}^{-1}$ согласно расчету образована валентным колебанием С-С связей между углеродом CH_2 групп и углеродами относящимся к ненасыщенным связям.

Вторая $\nu_{\text{эксп.}} = 3009 \text{ см}^{-1}$ образована валентными С-Н колебаниями ненасыщенных частей жирнокислотных цепей. Изменение степени ненасыщенности жирнокислотных цепей естественным образом отражается на интенсивности этих полос, что позволяет использовать их для оценки относительного содержания в растительных маслах ненасыщенных кислот.

На рис.6 представлены теоретические ИК спектры триглицеридов линолевой, олеиновой, пальмитиновой и стеариновой жирных кислот, а также сравнение выбранных для анализа экспериментальных и теоретических ИК полос двух типов растительных масел (образцы 3 и 8).

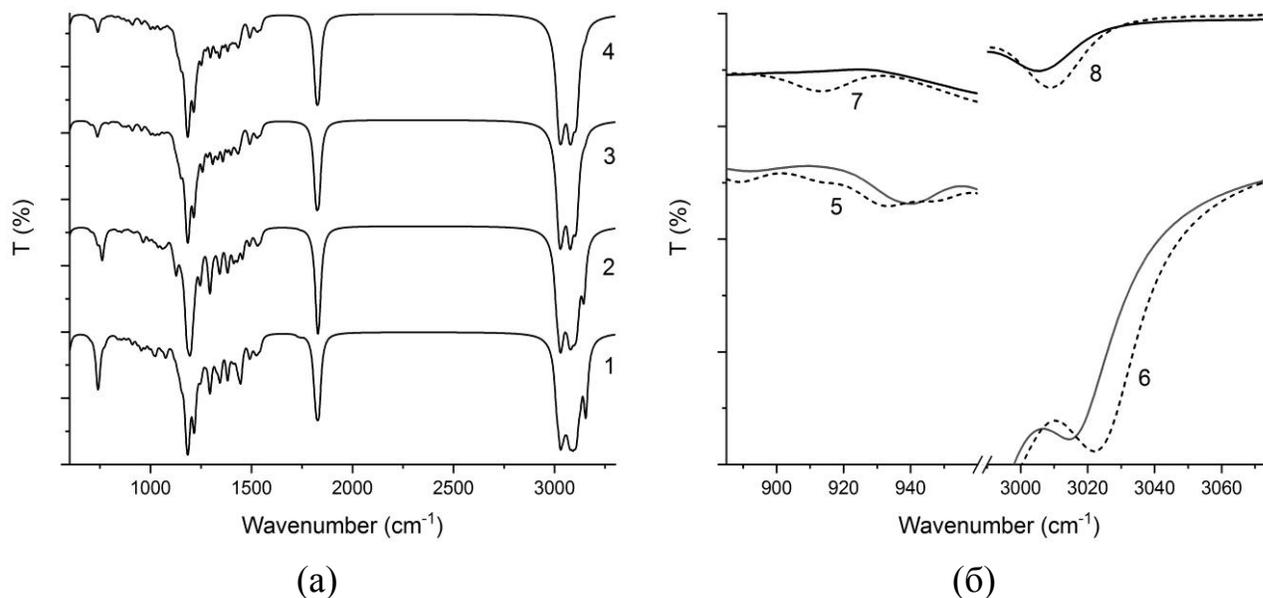


Рис 2. Теоретические ИК спектры триглицеридов (а) линолевой 1, олеиновой 2, пальмитиновой 3 и стеариновой 4 жирных кислот, а также (б) теоретические (5, 6) и экспериментальные полосы (7,8) $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ см}^{-1}$ и $\nu_{\text{эксп.}} = 3009 \text{ см}^{-1}$ для оливкового масла (пунктирная линия) и масла семян подсолнечника (сплошная линия).

Как видно из рис.6б, полоса с $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ см}^{-1}$, образованная валентными колебаниями С-С связей между ненасыщенными фрагментами цепей, гораздо сильнее проявляется в спектре подсолнечного масла. Это связано с тем, что интенсивность этой полосы зависит только от концентрации триглицеридов полиненасыщенных кислот, входящих состав растительных масел (рис.7а). Из четырех основных жирных кислот входящих в состав рассматриваемых растительных масел, эта полоса наблюдается (рис.7а) только у полиненасыщенной линолевой кислоты. Следовательно, наблюдаемая разница в ИК спектрах растительных масел обусловлена тем, что в среднем концентрация линолевой кислоты у масла семян подсолнечника почти в 7 раз больше чем у оливкового масла.

Вторая полоса с $\nu_{\text{эксп.}} = 3009 \text{ см}^{-1}$ образована валентными С-Н колебаниями ненасыщенных частей жирнокислотных цепей и, следовательно, проявляется у всех ненасыщенных жирных кислот входящих в состав растительных масел. На рис 7б представлены теоретические зависимости интенсивности рассматриваемой ИК полосы от числа колебаний ненасыщенных частей жирнокислотных цепей (валентные колебания связей СН входящих в состав С=С групп). Из рис.7б

видно, что с увеличением степени ненасыщенности жирнокислотной цепи интенсивность этой ИК полосы довольно быстро линейно возрастает.

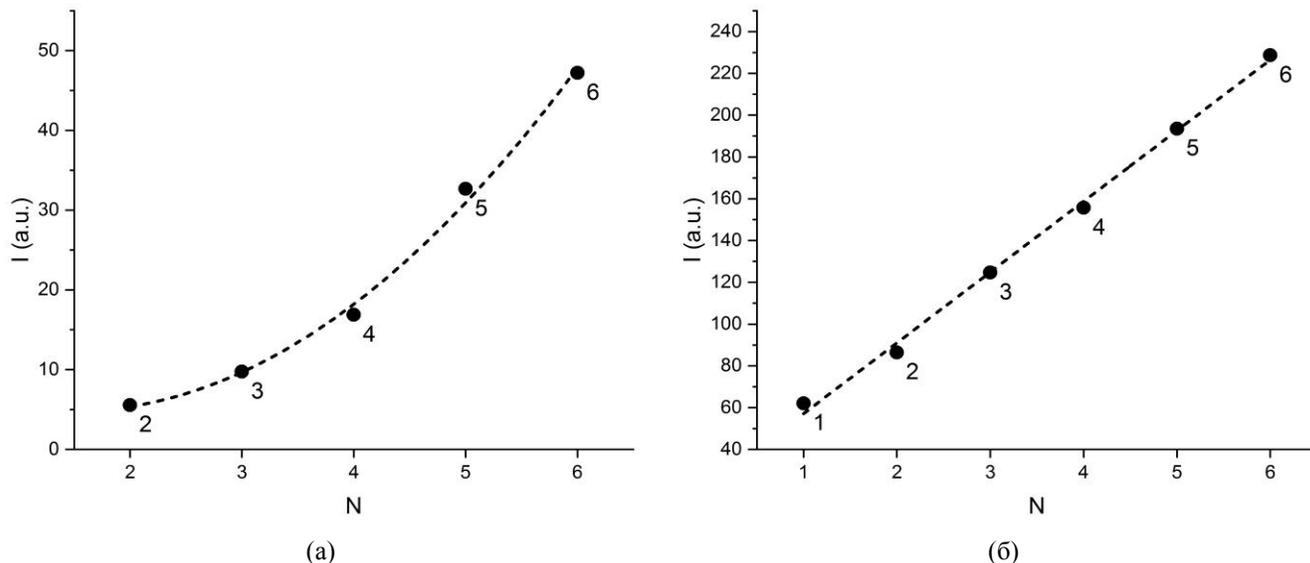


Рис. 7. Теоретические зависимости интенсивностей ИК полос (а) $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ cm}^{-1}$ от числа валентных колебаний С-С связей находящимися между ненасыщенными фрагментами цепи и (б) $\nu_{\text{эксп.}} = 3009 \text{ cm}^{-1}$ от числа валентных колебаний связей С-Н принадлежащих этим фрагментам, рассчитанные методом ВЗЛР/6-31G(d). Цифрами на графиках обозначены следующие жирные кислоты: олеиновая (1); линолевая (2); α -линоленовая (3); архидоновая (4); эйкозапентаеновая (5) и докозагексаеновая (6).

Для удобства сравнения спектров различных масел между собой, интенсивности обеих полос нормировались на интенсивность полосы $\nu_{\text{эксп.}} = 1744 \text{ cm}^{-1}$, которая образована валентными колебаниями С=О связей карбонильных групп и практически не зависит (рис.6а) от длины жирнокислотных цепей и степени их ненасыщенности.

На рис.8а представлены экспериментальные и теоретические зависимости относительной интенсивности ИК полосы с $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ cm}^{-1}$ от соотношений концентраций олеиновой и линолевой кислот для различных образцов оливкового масла и масла семян подсолнечника, а также для их смесей (образцы 5 и 7). Также из рисунка видно, что теоретическая и экспериментальная зависимость относительной интенсивности для различных смесей растительных масел хорошо описывается логарифмической регрессионной моделью (коэффициент детерминации R^2 лежит в интервале от 97.3 до 93.8%). Для теоретической зависимости эта модель может быть описана уравнением типа $Y = -0.0079 \cdot \ln(X) + 0.0251$, а для экспериментальной $Y = -0.0055 \cdot \ln(X) + 0.0144$, где X – отношение концентраций олеиновой и линолевой кислот, Y – отношение интенсивности ИК полосы на частоте 914 cm^{-1} к интенсивности на частоте 1744 cm^{-1} .

Зависимость между полученными экспериментально интенсивностями ИК полосы с $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ см}^{-1}$ и их теоретическими оценками представлена на рис.8б. Из рисунка видно, что эта зависимость хорошо описывается линейной регрессионной моделью (коэффициент линейной корреляции $r = 0.99$): $Y = 0.7018 * X - 0.0032$, где X и Y – теоретические и экспериментальные относительные интенсивности ИК полосы на частоте $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ см}^{-1}$. Эту зависимость можно использовать для предварительной оценки результатов эксперимента по регистрации ИК спектра на данной частоте для смесей растительных масел с помощью теоретического моделирования.

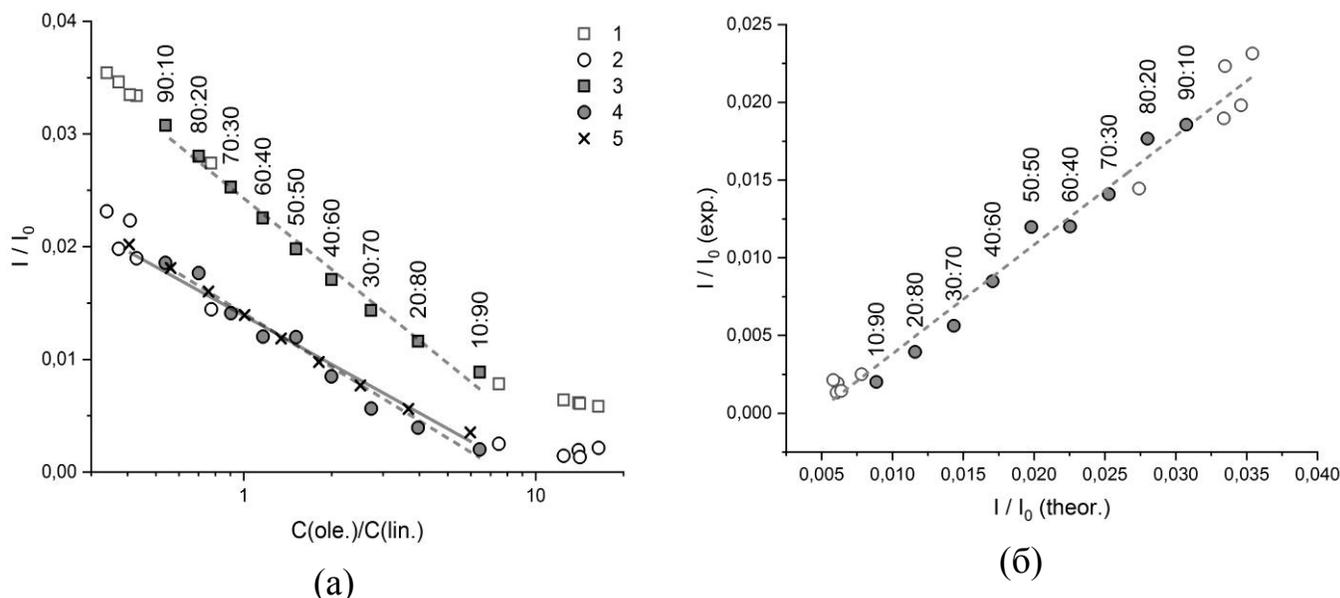


Рис.8. Зависимость (а) относительной интенсивности двух ИК полос ($\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ см}^{-1}$ к $\nu_{\text{эксп.}} = 1744 \text{ см}^{-1}$) полученными в ходе моделирования ИК спектров 10 образцов растительных масел 1, а также их экспериментальными значениями 2 от соотношений концентраций олеиновой и линолевой кислот. Аналогичные теоретические и экспериментальные зависимости для смесей одного из образцов масла семян подсолнечника и оливкового масла и обозначены 3 и 4. Результаты моделирования эксперимента по смешиванию оливкового масла и масла семян подсолнечника с усредненным жирнокислотным составом обозначен 5. Взаимосвязь (б) между экспериментальными значениями относительной интенсивности ИК полос и полученными в ходе моделирования спектров для образцов оливкового масла (группа светлых точек слева) и масел семян подсолнечника (справа); темными точками обозначены результаты для смеси одного из образцов масла семян подсолнечника и оливкового масла. Цифрами на графиках дано соотношение концентраций этих масел в смеси, линиями – результаты аппроксимации данных.

Полученная зависимость была использована нами для оценки результатов моделирования эксперимента по смешиванию оливкового масла и масла семян подсолнечника с усредненным жирнокислотным составом (рис.8а). Полученная зависимость относительной интенсивности ИК полосы от соотношений концен-

траций олеиновой и линолевой кислот также хорошо описывается логарифмической регрессионной моделью: $Y = -0.0091 \cdot \ln(X) + 0.0246$ (коэффициент детерминации $R^2 = 99.4\%$). С помощью этой зависимости были оценены результаты эксперимента по смешиванию оливкового масла и масла семян подсолнечника (образцы 3 и 8). Средняя ошибка в определении доли оливкового масла в смеси двух масел составила 6.5%. Это погрешность во многом объясняется отличием использованных в эксперименте образцов масел от использованных в регрессионной модели масел с усредненными составами.

Аналогичные результаты для интенсивности ИК полосы с $\nu_{\text{эксп.}} = 3009 \text{ см}^{-1}$ представлены на рис.9а. Видно, что в отличие от рассмотренной выше полосы ИК спектра с $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ см}^{-1}$, наблюдается гораздо большее различие между экспериментальными данными и их теоретическими оценками. Тем не менее, видно, что на данной частоте как теоретическая, так и экспериментальная зависимость относительной интенсивности для различных смесей растительных масел также хорошо описывается логарифмической регрессионной моделью (коэффициент детерминации R^2 лежит в интервале от 98.8 до 95.6%). Для теоретической зависимости эта модель может быть описана уравнением типа $Y = -0.0364 \cdot \ln(X) + 0.544$, а для экспериментальной $Y = -0.00956 \cdot \ln(X) + 0.0564$, где X – отношение концентраций олеиновой и линолевой кислот, Y – отношение интенсивности ИК полосы на частоте 3009 см^{-1} к интенсивности на частоте 1744 см^{-1} .

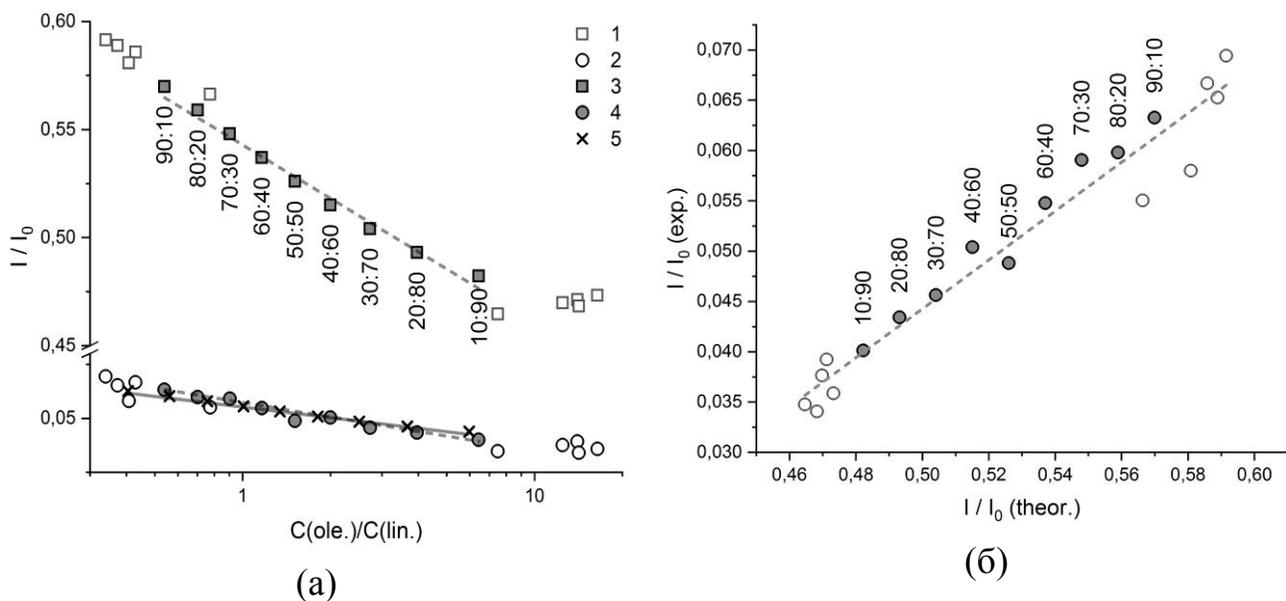


Рис.9. Зависимость (а) относительной интенсивности двух ИК полос ($\nu_{\text{эксп.}} = 3009 \text{ см}^{-1}$ к $\nu_{\text{эксп.}} = 1744 \text{ см}^{-1}$) полученными в ходе моделирования ИК спектров 10 образцов растительных масел 1, а также их экспериментальными значениями 2 от соотношений концентраций олеиновой и линолевой кислот. Аналогичные теоретические и экспериментальные зависимости для смесей одного из образцов масла семян подсолнечника и оливкового масла и обозначены 3 и 4. Результаты

моделирования эксперимента по смешиванию оливкового масла и масла семян подсолнечника с усредненным жирнокислотным составом обозначен 5. Взаимосвязь (б) между экспериментальными значениями относительной интенсивности ИК полос и полученными в ходе моделирования спектров для образцов оливкового масла (группа светлых точек слева) и масел семян подсолнечника (справа); темными точками обозначены результаты для смеси одного из образцов масла семян подсолнечника и оливкового масла. Цифрами на графиках дано соотношение концентраций этих масел в смеси, линиями – результаты аппроксимации данных.

Также на рис.9б отображена зависимость между полученными экспериментально интенсивностями ИК полосы с $\nu_{\text{эксп.}} = 3009 \text{ см}^{-1}$ и их теоретическими оценками. Видно, что эта зависимость, также как и для полосы 914 см^{-1} , хорошо описывается линейной регрессионной моделью (коэффициент линейной корреляции $r = 0.976$): $Y = 0.2431 * X - 0.0773$, где X и Y – теоретические и экспериментальные относительные интенсивности ИК полосы на частоте $\nu_{\text{эксп.}} = 3009 \text{ см}^{-1}$. Эту зависимость также можно использовать для оценки результатов эксперимента по регистрации ИК спектра на данной частоте для смесей растительных масел с помощью теоретического моделирования.

На рисунке 9.а также представлены результаты моделирования эксперимента по смешиванию оливкового масла и масла семян подсолнечника с усредненным жирнокислотным составом (рис.9а). Полученная зависимость относительной интенсивности ИК полосы 3009 см^{-1} от соотношений концентраций олеиновой и линолевой кислот хорошо описывается логарифмической регрессионной моделью: $Y = -0.0073 * \ln(X) + 0.0558$ (коэффициент детерминации $R^2 = 99.4\%$). Также с помощью этой зависимости были оценены результаты эксперимента по смешиванию оливкового масла и масла семян подсолнечника (образцы 3 и 8). Средняя ошибка в определении доли оливкового масла в смеси двух масел составила 7.5%. Это погрешность также связана с отличием использованных в эксперименте образцов масел от использованных в регрессионной модели масел с усредненными составами.

В четвертой главе представлены результаты использование КР спектроскопии и построенных теоретических моделей оливкового масла и масла семян подсолнечника для определения относительного содержания триглицеридов олеиновых и линолевых кислот в смеси этих двух масел.

Экспериментальные исследования проводились на КР спектрометре QEPRO-RAMAN фирмы Ocean Optics (США) в диапазоне $300 \text{ см}^{-1} - 2000 \text{ см}^{-1}$. Длина волны возбуждающего лазера 785 нм. Разрешение прибора 8 см^{-1} . Для исследования были выбраны 5 образцов масел семян подсолнечника и 5 образцов оливкового масла для которых экспериментально был известен жирнокислотный состав. Все образцы растительных масел были закуплены в продуктовых магазинах г. Саратова, РФ. Для построения экспериментальной зависимо-

сти и тестирования возможностей, полученных в данной работе эмпирических зависимостей интенсивности КР полос от относительного содержания в смеси масел триглицеридов олеиновой и линолевой жирных кислот дополнительно были зарегистрированы КР спектры четырех объемных смесей (20, 40, 60 и 80%) оливкового и масла семян подсолнечника соответственно.

Теоретические КР спектры моделей исследуемых масел строились при полуширине всех лоренцевых контуров 10 см^{-1} . Для лучшего согласия с экспериментом вычисленные значения колебательных волновых чисел были скорректированы с помощью метода линейного масштабирования частот. Интегральная интенсивность экспериментальных полос определялась путем подсчета количества пикселей в ограниченном снизу контуре при разрешении спектрограммы 600 dpi .

Экспериментальные КР спектры пяти образцов оливкового масла и масла семян подсолнечника показаны на рис.10.

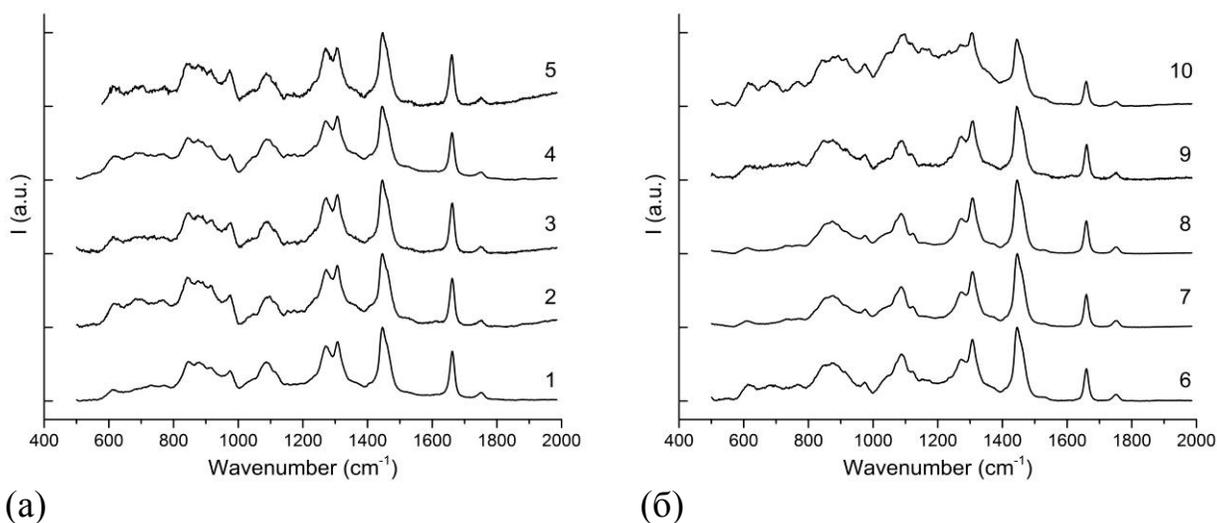


Рис. 10 Экспериментальные КР спектры масел семян подсолнечника а) и оливковых масел б) в области $500\text{-}2000 \text{ см}^{-1}$. Цифрами на графиках обозначены номера образцов масел.

Как видно из рис.10, в области $500\text{-}2000 \text{ см}^{-1}$ в КР спектре рассматриваемых масел наблюдаются несколько интенсивных полос. Первые две из них $\nu_{\text{эксп.}} = 1660 \text{ см}^{-1}$ и $\nu_{\text{эксп.}} = 1445 \text{ см}^{-1}$ согласно расчету образованы колебаниями только ненасыщенных частей жирнокислотных цепей (синфазные валентные колебания связей $\text{C}=\text{C}$), а вторая только колебаниями насыщенных частей (деформационные ножничные колебания CH_2 групп и концевой CH_3 группы). Следующая частично разрешенная полоса имеет два максимума первый $\nu_{\text{эксп.}} = 1306 \text{ см}^{-1}$ согласно расчету образован деформационными крутильными колебаниями CH_2 групп, а второй $\nu_{\text{эксп.}} = 1270 \text{ см}^{-1}$ преимущественно деформационными синфазными колебаниями CH связей ненасыщенных фрагментов. Таким образом, из-

менение длины жирнокислотных цепей или степени их ненасыщенности естественным образом отражается на интенсивности этих полос, что позволяет использовать их для оценки относительного содержания в растительных маслах ненасыщенных кислот. Для нашего исследования в качестве аналитических мы выбрали первые две полосы поскольку они в КР спектре не перекрываются и для определения интегральных интенсивностей не нужно проводить разделение контуров. Оставшиеся КР полосы в этой частотной области образованы, согласно расчету, различными деформационными колебаниями СН связей и СН₂ групп, а также валентными колебаниями С-С связей насыщенных участков цепей. Кроме этого, в спектре наблюдается слабая полоса $\nu_{\text{эксп.}} = 1750 \text{ см}^{-1}$ образованная валентными колебаниями С=О связей карбонильных групп.

На рис 11 представлены теоретические зависимости интенсивности рассматриваемых КР полос от числа деформационных колебаний СН₂, СН₃ групп и валентных колебаний связей С=С их образующих.

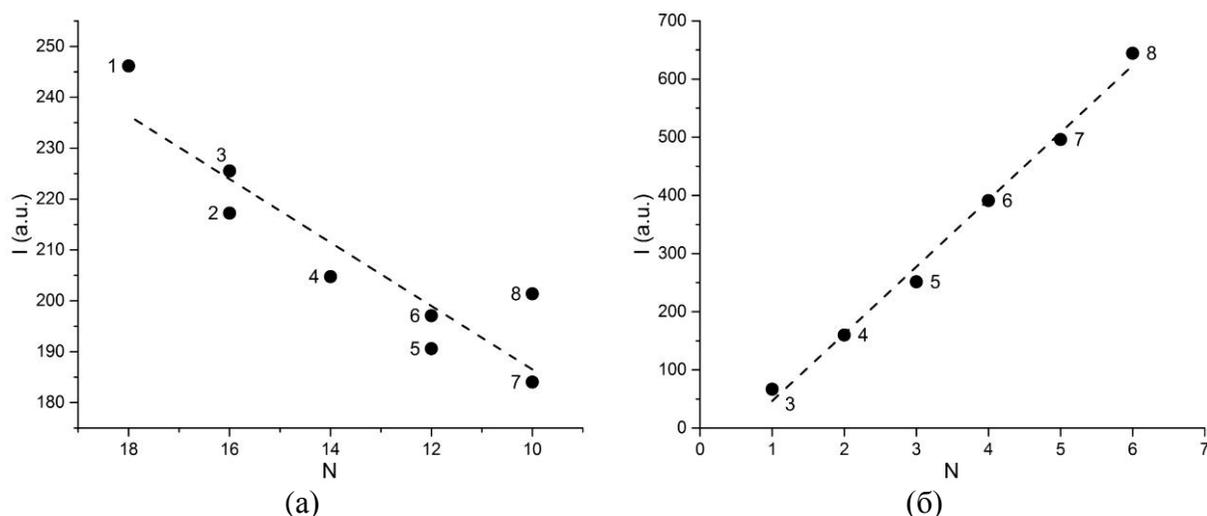


Рис. 11. Теоретическая зависимость интенсивности КР полос (а) $\nu_{\text{эксп.}} = 1445 \text{ см}^{-1}$ от числа деформационных колебаний СН₂, СН₃ групп и (б) $\nu_{\text{эксп.}} = 1660 \text{ см}^{-1}$ от числа валентных колебаний связей С=С в спектрах жирных кислот: пальмитиновая (1); стеариновая (2); олеиновая (3); линолевая (4); α -линоленовая (5); архидонтовая (6); эйкозапентаеновая (7) и докозагексаеновая (8) рассчитанная методом B3LYP/6-31G(d).

Из рис.11 видно, что с увеличением степени ненасыщенности жирнокислотной цепи интенсивность КР полосы образованной валентными С=С колебаниями довольно быстро линейно возрастает. При равенстве длин жирнокислотных цепей с ростом степени насыщенности количество СН₂ групп пропорционально уменьшается, что приводит к снижению интенсивности второй КР полосы, но спад интенсивности происходит значительно медленнее, чем ее рост в первом случае.

При теоретическом моделировании зависимости относительной интенсивности КР полос от содержания в смеси двух типов рассматриваемых масел олеиновой и линолевой кислот дополнительно учитывался тот факт, что среднее содержание насыщенных кислот в них различны. Так, например, в оливковом масле это значение равно 16.3%, а в масле семян подсолнечника 9.8%. Этот учет позволяет улучшить согласие с экспериментом, так как в интенсивность КР полосы $\nu_{\text{эксп.}} = 1445 \text{ см}^{-1}$ вносят вклад деформационные колебания как ненасыщенных так и насыщенных кислот. На рис.12а) представлена зависимость, учитывающая это изменение. Она носит логарифмический характер и описывается следующим выражением $y = -0.09 \ln(x) + 0.83$, где x - отношением олеиновой и линолевой кислот, y - разница между экспериментальными и теоретическими значениями относительной интенсивности КР полос смесей рассматриваемых масел.

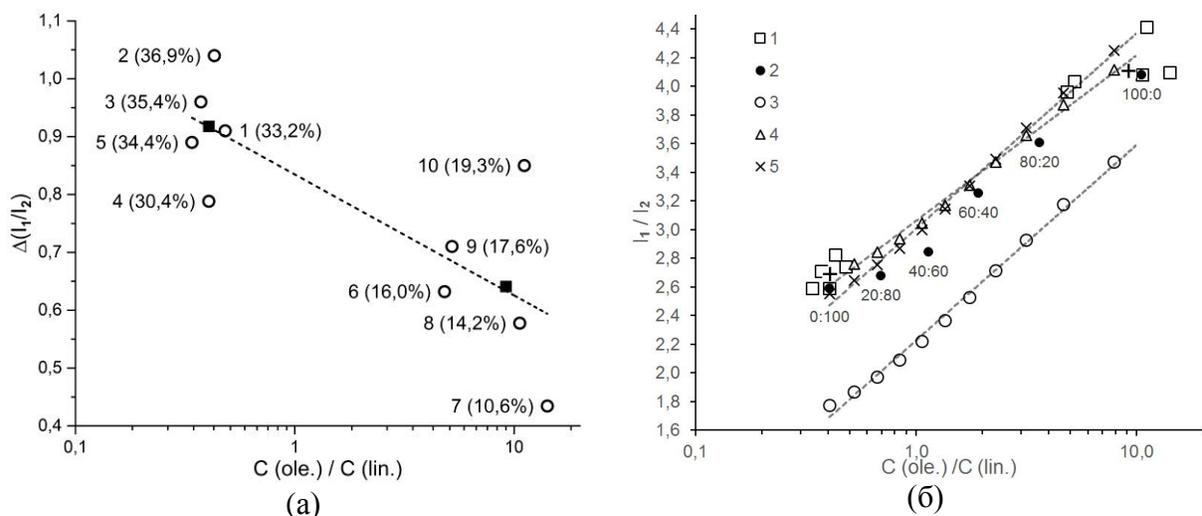


Рис.12. Разница а) между экспериментальными значениями относительной интенсивности КР полос и полученными в ходе моделирования КР спектров 10 образцов растительных масел (цифрами на графике обозначены номера образцов: 1-5 масла семян подсолнечника, 6-10 оливковые масла; в скобках – разница между экспериментальными и теоретическими значениями в процентах). Квадратами на графике отображены средние значения для образцов масла семян подсолнечника и оливкового масла; пунктирной линией - аппроксимация зависимости разницы между экспериментальными и теоретическими значениями и отношением олеиновой и линолевой кислот в образцах. Зависимости б) относительной интенсивности КР полос от соотношений концентраций олеиновой и линолевой кислот построенные с разной параметризацией: 3 – модель, построена на основе только теоретических расчетов; 4 – модель, построенная на основе теоретических расчетов с учетом эмпирического коэффициента сдвига 0.78; 5 – модель, построенная на основе теоретических расчетов с учетом эмпирического коэффициента сдвига с учетом функциональной зависимости представленной на

рис.12а. Квадратами (1) показаны экспериментальные значения относительных интенсивностей КР полос для образцов оливкового масла (группа точек справа) и масел семян подсолнечника (слева); плюсами обозначены их средние значения. Точками (2) обозначены экспериментальные результаты для смеси одного из образцов оливкового масла и масла семян подсолнечника (цифрами внизу дано соотношение концентраций этих масел в смеси).

На рис.12б) представлены теоретические зависимости относительной интенсивности двух КР полос от соотношений концентраций олеиновой и линолевой кислот, построенные с разной параметризацией. В первом случае зависимость построена только по данным теоретических расчетов методом ВЗЛР/6-31G(d). Во втором случае в качестве эмпирического параметра использовался коэффициент сдвига (0.78), который рассчитывался как среднее значение разницы между экспериментальными значениями относительной интенсивности КР полос и полученными в ходе моделирования КР спектров 10 образцов растительных масел, представленных на рис.12а. Эта зависимость описывается уравнением $y = -0.59 \ln(x) + 3.01$ (x, y описаны выше) и наиболее хорошо подойдет для определения процентного содержания олеиновой и линолевой кислот в смеси оливкового масла и масла семян подсолнечника близкой к отношению 1:1. В третьем случае в качестве корректирующего параметра была выбрана функциональная зависимость разницы между экспериментальными и теоретическими значениями относительной интенсивности КР полос от соотношений концентраций олеиновой и линолевой кислот в исследуемых образцах растительных масел, также представленной на рис.12а. Эта зависимость описывается уравнением $y = -0.50 \ln(x) + 3.06$. Она является универсальной и может быть использована при оценке, как процентного содержания олеиновой и линолевой кислот в чистых маслах, так и в их смесях и соответственно для определения фальсификации оливкового масла холодного отжима маслом семян подсолнечника. При использовании этой зависимости средняя ошибка в определении доли оливкового масла в смеси двух масел составила 5%. Кроме этого, была построена зависимость, основанная только на экспериментальных данных, которая описывается уравнением $y = -0.49 \ln(x) + 2.91$ и может, также использоваться для определения фальсификации оливкового масла.

В заключении сформулированы основные результаты и выводы:

- в рамках теоретического метода ВЗЛР/6-31G(d), построены структурные модели и рассчитаны спектральные характеристики ИК и КР спектров восьми жирных кислот: олеиновой, линолевой, пальмитиновой, стеариновой, альфа-линоленовой, арахидоновой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой, а также триглицеридов первых четырех кислот;

- зарегистрированы экспериментальные ИК и КР спектры пяти образцов оливкового масла холодного отжима и пяти образцов масел семян подсолнечника и их смеси в различных процентных отношениях;
- с помощью рассчитанных триглицеридов олеиновой, линолевой, пальмитиновой, стеариновой построены спектральные модели оливкового масла и масла семян подсолнечника и дана теоретическая интерпретация их колебательных ИК и КР спектров;
- установлены спектральные полосы в ИК спектрах и КР спектрах интенсивность которых зависит напрямую от степени насыщенности, входящих в растительные масла триглицеридов жирных кислот. Теоретически установлена степень зависимости интенсивности этих полос от числа ненасыщенных связей;
- установлена функциональная связь между относительной интенсивностью двух экспериментально наблюдаемых КР полос $\nu_{\text{эксп.}} = 1660 \text{ см}^{-1}$ и $\nu_{\text{эксп.}} = 1445 \text{ см}^{-1}$ и трех наблюдаемых ИК полос $\nu_{\text{эксп.}} = 1744 \text{ см}^{-1}$ и $\nu_{\text{эксп.}} = 914 \text{ см}^{-1}$, 3009 см^{-1} от содержания в маслах триглицеридов олеиновой и линолевой кислот, которая хорошо аппроксимируется логарифмической зависимостью;
- показано, что использование теоретического метода теории функционала плотности B3LYP без эмпирической коррекции не обеспечивает хорошего согласия с экспериментом при описании логарифмической функциональной зависимости относительной интенсивности от содержания в маслах триглицеридов олеиновой и линолевой кислот;
- полученные уравнения, описывающие связь относительной интенсивности спектральных полос от содержания в маслах триглицеридов олеиновой и линолевой кислот в ИК и КР спектрах позволяют со средней ошибкой 5% и 6.5% соответственно определить долю оливкового масла в смеси двух масел.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Березин К.В., Дворецкий К.Н., Чернавина М.Л., Новоселова А.В., Нечаев В.В., Антонова Е.М., Шагаутдинова И.Т., Лихтер А.М. / Применение КР-спектроскопии и методов квантовой химии для оценки относительного содержания триглицеридов олеиновой и линолиевой кислот в смеси оливкового масла и масла семян подсолнечника // Оптика и спектроскопия. 2018. Т. 125. вып.3, с. 297-304. doi 10.21883/OS.2018.09.46541.102-18 (Web of Science)

2. Berezin K.V., Antonova E.M., Shagautdinova I.T., Chernavina M.L., Novoselova A.V., Dvoretzkiy K.N., Grechukhina O.N., Vasilyeva L.M., Rybakov A.V.,

Likhter A.M. / FT-IR spectrum of grape seed oil and quantum models of fatty acids triglycerides // Proc. SPIE. 2018. V. 10716. P. 1071625. doi 10.1117/12.2316488 (Scopus)

3. K.V. Berezin, K.N. Dvoretzky, M.L. Chernavina, A.V. Novoselova, V.V. Nechaev, E.M. Antonova, A.M. Lichter, V.V. Smirnov, O.V. Grechukhina, M.V. Kartashov. The use of theoretical and experimental methods of Raman spectroscopy in the determination of unsaturated fatty acids in vegetable oils. // Proc. SPIE. 2019. Paper No 11067-166 (Scopus)

4. К. В. Березин, К.Н. Дворецкий, М.Л. Чернавина, А.В. Новоселова, В.В. Нечаев, Е.М. Антонова, А. М. Лихтер, В.В.Смирнов, О.В. Гречухина, М. В. Карташов. Применение теоретических и экспериментальных методов КР спектроскопии при определении содержания ненасыщенных жирных кислот в растительных маслах // Проблемы оптической физики и биофотоники. SFM-2018: Материалы 6-го Международного симпозиума и 22-ой Международной молодежной научной школы Saratov Fall Meeting 2018 / под ред. Г. В. Симоненко, В. В. Тучина. – Саратов : Изд - во «Новый ветер», 2018. –с. 73-79. ISBN 978-5-98116-235-0 web ссылка: http://optics.sgu.ru/_media/library/sfm-2018.pdf