Методы и объекты химического анализа 2010, т.5, №3, с.106-117

Идентификация и определение транс-изомеров жирных кислот в масложировой промышленности (Обзор)

Ф.А. Чмиленко, Л.П. Сидорова, Н.П. Минаева

Днепропетровский национальный университет имени О. Гончара , 49010, Украина,
г. Днепропетровск, пр. Гагарина, 72, e-mail: analyticdnu@mail.ru

Поступила: 18 сентября 2009 г./ Принята к публикации: 12 апреля 2010 г.

Рассмотрены методы идентификации и определения транс-изомеров жирных кислот в масложировой продукции

The methods of authentication and determination trans-izomers of fat acids in butter-fatty products were considered

Ключевые слова: *хроматография, молочная продукция, транс-изомеры жирных кислот*
Keywords: *gas chromatography, milk products, trans-izomers of fat acids in butter-fatty*

Современный рынок пищевых продуктов предлагает неискушенному потребителю широкий выбор отечественных и импортных продовольственных товаров. Из них наиболее употребляемые в нашем рационе являются жиры и масла. Разнообразие выставляемой продукции, «ненавязчивая» реклама, использование красочной упаковки позволяют потребителю смело отдать предпочтение тому или иному продукту. Появились и новые продукты, как не выпускаемые раньше в нашей стране, так и поступившие из-за рубежа.

В последнее время на рынке Украины присутствует значительное количество фальсифицированной продукции. При вступлении Украины в ВОТ особое место приобретают вопросы пищевой химии, особенно контроль качества продуктов питания и ее сертификация. Отсутствие стандартов Украины (ДСТУ) по многим позициям, заставляет химиков-аналитиков, гигиенистов, токсикологов разрабатывать новые методики аналогично ISO-1900-2000.

Чаще всего фальсификации подвержены молочные продукты (масло, сливки, сметана, сыры, сгущенное и сухое молоко, мороженое и др.). Как показывает практика, для фальсификации наиболее часто используют гидрированые растительные жиры или их смеси с другими маслами. Поэтому для молочной и маслодельной отраслей пищевой промышленности Украины особо актуальными стали вопросы повышения качества продукции, совершенствования методов ее контроля и стандартизации.

Известно, что при гидрировании растительных жиров образуются жирные кислоты в форме транс-изомеров, в отличие от природных ненасыщенных жирных кислот, которые имеют цис-конфигурацию и усваиваются организмом человека. По всей видимости, транс-конфигурация молекулы энергетически более выгодна при существующих технологиях гидрирования жиров. Современные исследования показывают, что транс-изомеры жирных кислот (ТИЖК) не усваиваются в нашем организме естественным физиологическим путём. Накапливаясь в организме человека, они снижают иммунитет, нарушают работу ферментов, клеточных мембран, способствуют увеличению уровня холестерина в крови. Их действие повышает риск онкологических и сердечно-сосудистые заболеваний и возникновение диабета [1. 2].

Поэтому органами здравоохранения Европейского союза рекомендуется по возможности уменьшать уровень потребляемых с пищей транс-изомеров (ТИ). В ряде стран вводятся нормы на содержание ТИЖК в пищевых продуктах, содержащих масла и жиры. Так в странах Евросоюза в спредах и маргаринах транс-изомеры допускаются на уровне не более 2%, в России и Украине – не более 8%. В США кроме того существует требование при маркировке продуктов питания указывать о наличии в них транс-изомеров.

Учитывая, что рынок Украины заполнен гидрированными жирами, в которых среднее содержание транс-изомеров по данным зарубежных фирм-производителей может достигать 49%, крайне необходимо проводить контроль за содержанием транс-изомеров в масложировых продуктах на стадии их государственной санитарно-

© Ф.А. Чмиленко, Л.П. Сидорова, Н.П. Минаева

эпидемиологической экспертизы. В настоящее время рассматривается вопрос о необходимости разработки нормативного документа на содержание транс-изомеров жирных кислот в гидрированных растительных жирах и пищевых продуктах, их содержащих. Введение в Украине такого ГОСТа позволит ограничить возможность поступления на рынок продукции, опасной для здоровья.

Оценку качества пищевых продуктов следует рассматривать в контексте изменившихся запросов покупателей, требований законодательства и с точки зрения новых разработок в приборном анализе. Новые хроматографические, масс-спектрометрические, спектроскопические методы позволяют детектировать следовые количества транс-жирных кислот. Но остаются проблемы связанные с широким рядом позиционных моно-, ди- и триенових изомеров жирных кислот (ЖК), что присутствуют в масложировой продукции (табл.1); перекрытием цис- и транс-изомеров, т.е. неполным отделением цис-изомеров от транс-кислоты. Так же нет универсальных методов определения для всех образцов масложировой продукции. Решением этих и других проблем определения ТИЖК активно занимаются в настоящее время.

Для определения содержания транс-изомеров жирных кислот чаще всего применяют хроматографические [3–29], спектральные [30–42], а также гибридные [43–59] методы анализа (рис. 1.). Рассмотрим более детально каждую группу методов.

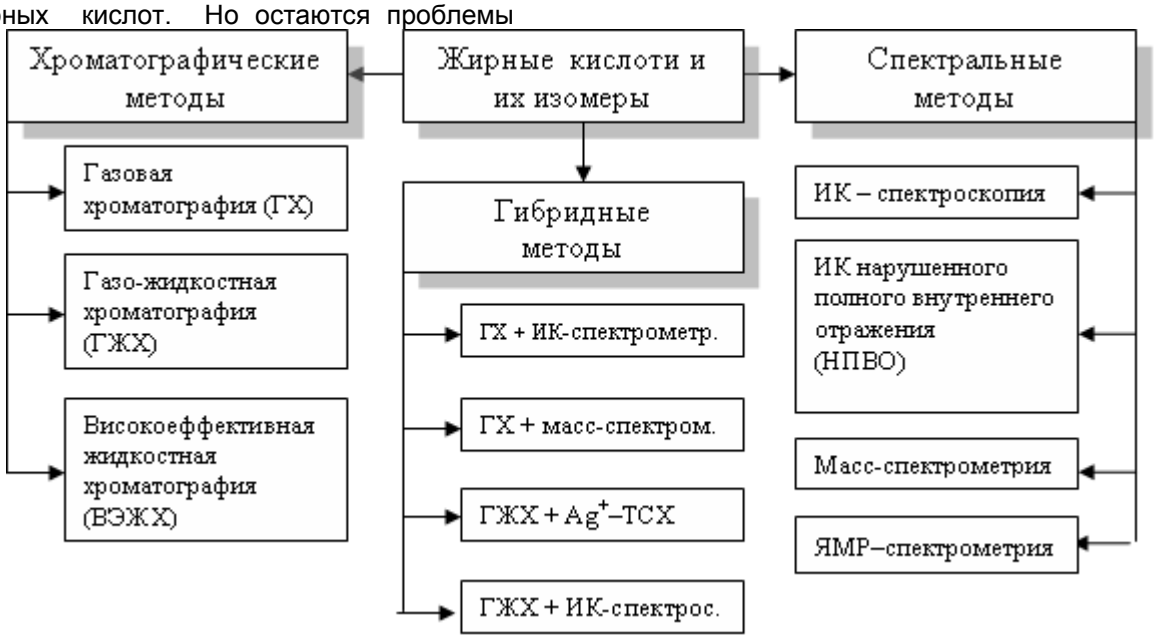

Рисунок 1. – Схема методов анализа жирных кислот и их изомеров.

Таблица 1 – Самые распространенные жирные кислоты и их изомеры, встречающиеся в пищевых продуктах

Условное обозначение жирных кислот	Название		Изомеры
	по Женевской (систематической) номенклатуре	по тривиальной номенклатуре	
$C_{16:0}$	гексадекановая	пальмитиновая	
$C_{16:1}$	гексадеценовая	пальмитоолеиновая	С16:1 – 9 цис
$C_{18:0}$	октадекановая	стеариновая	
$C_{18:1}$	октадеценовая	олеиновая	олеиновая С18:1 - 9 цис элаидиновая С18:1 - 9 транс изоолеиновые кислоты: петерозелиновая С18:1 - 6 цис вакценовая С18:1 - 11 транс

$C_{18:2}$	октадекадиеновая	линолевая	линолевая С18:2 – 6 (9цис-12транс) линолелаидиновая С18:2-6 (9транс-12цис)
$C_{18:3}$	октадекатриеновая	линоленовая	С18:3 - 9,12,15 (транс-цис-транс, цис-цис-транс, цис-транс-цис, транс-цис-цис) С18:3 - 6,9,12 (транс-цис-цис)
$C_{20:0}$	эйкозановая	арахиновая	
$C_{20:1}$	эйкозеновая	гадолеиновая гондоиновая	С20:1 - 9цис С20:1 -11цис
$C_{20:2}$	эйкозадиеновая	эйкозадиеновая	С20:2 – 11,14 цис
$C_{20:3}$	эйкозатриеновая	эйкозатриеновая	С20:3 - 8,11,14 цис С20:3 - 11,14,17 цис
$C_{20:4}$	эйкозатетраеновая	арахидоновая	С20:4 – 5,8,11,14
$C_{20:5}$	эйкозапентаеновая	эйкозапентаеновая	С20:5 – 5,8,11,14,17 цис
$C_{22:0}$	докозановая	бегеновая	
$C_{22:1}$	докозеновая	эруковая	С22:1 – 13 цис
$C_{22:2}$	докозадиеновая	докозадиеновая	С22:2 – 13,16 цис
$C_{22:6}$	докозагексаеновая	докозагексаеновая	С22:6 – 4,7,10,13,16,19 цис

Хроматографические методы определения ТИЖК

Наиболее перспективны хроматографические методы определения ТИЖК: капиллярная газожидкостная хроматография (ГЖХ) [3,6,20-24], высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и ион-серебряная ВЭЖХ [25-28], потому что любые гибридные методы стоят значительно дороже.

В настоящий момент, удовлетворительные результаты анализов для кислот жиров, содержащих транс-жирные кислоты, получает газовая хроматография (ГХ), используя капиллярные колонки с чрезвычайно полярной цианосиликоновой неподвижной фазой. В методах капиллярной газовой хроматографии ключевым ограничением было неполное отделение изомеров транс- от ее цис- кислоты; однако усовершенствования в разделении достижимы с применением 100-метровых колонок. Эти колонки, позволяют добиваться незначительных перекрытий цис- и транс- изомеров.

Транс-жирные кислоты в пище часто анализируют газо-жидкостной хроматографией (ГЖХ) в виде метиловых эфиров [3,6,20] . Однако, этот метод чреват искажением результатов из-за недостаточного отделения цис- и транс-изомеров. Отделение может оптимизировать предшествующая Ag+ тонкослойная хроматография (Ag-ТСХ), но это длительно. Был разработан эффективный метод для отделения 18-углеродных транс-изомеров жирных кислот, объединяя ГЖХ метиловых эфиров ЖК с ГЖХ жирных кислот производных 4,4-диметилоксазолиновых соединений. Комбинация ГЖХ определений производных метиловых эфиров и производных 4,4-диметилоксазолиновых соединений жирных кислот улучшает количественную оценку 18-углеродных изомеров жирных кислот и, возможно, замещает трудную и отнимающую много времени Ag-ТСХ [21,22].

Ион-серебряная ВЭЖХ обычно используется для разделения и определения транс 18:1 изомеров в частично гидрированных маслах и молочных жирах [25,26]. Рассмотрено применения ВЭЖХ с ионами Ag^+ для разделения изомеров ненасыщенных моноеновых и полиеновых жирных кислот. Обсуждено влияние типа химической дериватизации ЖК на эффективность их разделения и отмечено, что наиболее оптимальными для анализа являются специфические ароматические производные ЖК. Описаны достижения Ag-ВЭЖХ для определения октадеценоатов и октадекадиеноатов с конъюгированными тройными связями в частично гидрогенизированных маслах и молочном жире [27-28]. В таблице 2 приведены примеры наиболее применяемых хроматографических методов определения ТИЖК.

© Ф.А. Чмиленко, Л.П. Сидорова, Н.П. Минаева

Таблица 2. – Примеры наиболее применяемых хроматографических методов

<table>
<tr><th>Метод и предел определения</th><th>Объект анализа и ссылка на литературу</th><th>Условия определения</th></tr>
<tr><td>Капиллярная газовая хроматография

(2 – 45г/ 100г)</td><td>Пищевые масла (соевое, рапсовое), жиры (говяжий, свинной и их гидрированные формы)

[10 – 12]</td><td>1. Газовый хроматограф HP6890 с плазменно-ионизационным детектором (ПИД)
2. Пентадеканоат (С 17:0) в качестве внутреннего стандарта
3.
<table>
<tr><td>колонка</td><td colspan="2">ТС – 70</td><td>SP – 2560</td></tr>
<tr><td>неподвижная жидкая фаза</td><td colspan="2">бис(цианопропилсилоксан)полисилфенилен</td><td>бис(цианопропил)полисилоксан</td></tr>
<tr><td>длина</td><td>30 м</td><td>60 м</td><td>100 м</td></tr>
<tr><td>внутренний диаметр</td><td colspan="2">0,25 мм</td><td>0,25 мм</td></tr>
<tr><td>толщина пленки фазы</td><td colspan="2">0,25 мкм</td><td>0,20 мкм</td></tr>
<tr><td>температура</td><td colspan="2">190^{0}C</td><td>180^{0}C(60 мин)-(10^{0}C/мин)-220^{0}C(10 мин)</td></tr>
<tr><td>температура инжектора/детектора</td><td colspan="2">250^{0}C/260^{0}C</td><td>250^{0}C/250^{0}C</td></tr>
<tr><td>газ-носитель</td><td colspan="2">1 мл/мин (гелий)</td><td>1 мл/мин (гелий)</td></tr>
<tr><td>вводимый объем</td><td colspan="2">1 мкл</td><td>1 мкл</td></tr>
<tr><td>время анализа</td><td>18 мин</td><td>40 мин</td><td>72 мин</td></tr>
</table>
4. Идентификации пиков с помощью $AgNO_3$-ТСХ (соевое масло), ГХ+масс системы HP5973 MSD или ГХ+ИК системы</td></tr>
<tr><td>Капиллярная газовая хроматография

(2 – 50 г/100г)</td><td>Сливочное масло

[15 – 18]</td><td>1. Газовый хроматограф VARIAN 3400 с ПИД
2. Капиллярная колонка фирмы Chrompack CP-Sil 88 for Fames (100 м, 0,25 мм, 0,2 мкм) или капиллярная колонка DB-WAX (30 м, 0.25 мм, 0.25 мкм) с фазой ПЭГ
3. Газ-носитель – азот
4. Обработка хроматограмм проводилась с использованием программного обеспечения VARIAN STAR 5.3 методом внутренней нормализации</td></tr>
<tr><td>Газовая хроматография + масс-спектрометрия (283,6±18,2 мг/г или 28,36±1,82г/ 100г)</td><td>Пищевые образцы
[20 – 22]</td><td>Газовый хроматограф, оборудованный масс-спектрометром и Alltech AT-Silar-90 капиллярной колонкой</td></tr>
<tr><td>Газо-жидкостная хроматография</td><td>Жиры жвачных животных, гидрированные рыбьи жиры, частично гидрированные растительные масла
[23]</td><td>1. Разделение может быть оптимизировано предшествующей Ag^+ – ТСХ (что оказалось весьма затруднительно)
2. Разделение С 18 транс-жирных кислот при помощи комбинирования ГЖХ метиловых эфиров жирных кислот и ГЖХ жирных кислот, производных 4,4-диметилоксазолина</td></tr>
</table>

<table>
<tr>
<td>Газо-жидкостная хроматография (1 – 30 г/ 100г)</td>
<td>Коровий, овечий и козий сыр [24]</td>
<td>1. Предварительное разделение метиловых эфиров жирны кислот с помощью Ag^+ – ТСХ (силикагелевые пластинки)
2. Хроматограф CP9001 (Chrompack) с ПИД
Колонка CP-Wax 58CB (25 м× 0,25 мм × 0,20 мкм толщина пленки фазы)
Газ-носитель водород
Давление 40 кПа
Температура инжектора и детектора 265^{0}C
Температура: 50^{0}C (1 мин) – (5^{0}C/мин) до 225^{0}C, изотермический режим (15 мин), (5^{0}C/мин) до 260^{0}C
3. Хроматограф CP9000 (Chrompack) с ПИД
Колонка CP-Sil88 (100 м× 0,25 мм × 0,20 мкм толщина пленки фазы)
Газ-носитель водород
Температура инжектора 255^{0}C и детектора 280^{0}C</td>
</tr>
<tr>
<td>Ag+ - газо-жидкостная хроматография 1 – 30 г/ 100г</td>
<td>Частично гидрированные растительные масла [14,15]</td>
<td>1. Высокополярная неподвижная фаза
2. Колонка SP2340 100 м
3. Изолирование транс-жирных кислот с помощью Ag^+ - жидкостной хроматографии, а оставшиеся – с помощью Ag^+ – ТСХ</td>
</tr>
<tr>
<td>Капиллярная газо-жидкостная хроматография 12 – 50 г/ 100г</td>
<td>Гидрированные и рафинированные растительные масла [20]</td>
<td>1. Хроматограф Chrompack CP9000, оборудованный Chrompack Autosampler – M911, ПИД
2.
<table>
<tr><td>колонка</td><td colspan="2">SP2340</td><td>CP – Sil88</td><td>BPX – 70</td></tr>
<tr><td>неподвижная жидка фаза</td><td colspan="4">бис(цианопропил)полисилоксан</td></tr>
<tr><td>длина</td><td colspan="2">60 м</td><td>50 м</td><td>50 м</td></tr>
<tr><td>внутренний диаметр</td><td colspan="2">0,25 мм</td><td>0,25 мм</td><td>0,22 мм</td></tr>
<tr><td>толщина пленки фазы</td><td colspan="2">0,2 мкм</td><td>0,2 мкм</td><td>0,25 мкм</td></tr>
<tr><td>температура</td><td>150^{0}C-(1,3^{0}C/мин)-200^{0}C(10 мин)</td><td>Изотерма 192^{0}C</td><td>Изотерма 175^{0}C</td><td>Изотерма 198^{0}C</td></tr>
<tr><td>давление, кПа</td><td>125</td><td>125</td><td>130</td><td>155</td></tr>
<tr><td>скорость газа-носителя (гелий)</td><td>16 см/с</td><td>15 см/с</td><td>19 см/с</td><td>17 см/с</td></tr>
<tr><td>температура инжектора/детектора</td><td>250^{0}C/250^{0}C</td><td>250^{0}C/250^{0}C</td><td>250^{0}C/250^{0}C</td><td>250^{0}C/250^{0}C</td></tr>
</table>
3. Ag^+ - ионообменная колонка (250 × 4,6 мм) для разделения смеси метиловых эфиров жирных кислот</td>
</tr>
<tr>
<td>ВЭЖХ

)</td>
<td>Животных и растительные жиры и масла,</td>
<td>1. Хроматограф жидкостный «Стайер» с детектором светорассеяния низкотемпературным испарительным 75
2. Персональный компьютер с установленным программным обеспечением «МультиХром для Windows XP» версии 1.5 или 2х.
3. Изократический режим</td>
</tr>
<tr>
<td>5 – 50 г/ 100г (линолевая, кислота пальмитино-вая, олеиновая, стеариновая кислоты) 12 – 96 г/ 100г(лауриновая</td>
<td>маргарины, жирах для кулинарии, кондитерской и хлебопекарной промышленности

[25-28]</td>
<td>4. Колонка: «Synergi Fusion-RP» 250x4,6 мм 4 мкм (Phenomenex)
5. Защитная колонка: «Synergi Fusion-RP» 4x3,0 мм (Phenomenex)
6. Подвижная фаза: раствор ацетонитрил–вода–CH_3COOH (110:12:3 об.ч.)
7. Скорость потока: 0,9 мл/мин
8. Температура: 20°C
9. Объем петлевого дозатора: 10 мкл;
10. Детектирование: по светорассеянию; температура испарительной трубки +40°C; давление газа на входе в детектор 3,0 бар; коэффициент усиления выходного сигнала: 1,0.</td>
</tr>
</table>

© Ф.А. Чмиленко, Л.П. Сидорова, Н.П. Минаева

Спектроскопические методы определения ТИЖК

Большое количество работ посвящено идентификации и определению ТИЖК спектральными методами: ИК-спектроскопия, ИК-Фурье-спектроскопия, метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) инфракрасной спектроскопии.

Известно определение массовой доли изолированных транс-изомеров жирных кислот методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) [6,38]. Метод предназначен для экспрессного (около 5 мин) определения массовой доли изолированных транс-изомеров в жировых продуктах с уровнем транс-изомеров 1% и более. Метод не применим к продуктам: содержащим высокие уровни (более 5%) сопряженных ненасыщенных связей (например, тунговое масло); содержащим функциональные группы, которые изменяют интенсивность С-Н деформационной двойной связи в транс-конфигурации (например, касторовое масло, содержащее рицинолевую кислоту или ее геометрический изомер, рицинэлаидиновую кислоту (12-гидрокси-9-октадеценовая кислота)); представляющим собой смешанные триглицериды, имеющие длинно- и короткоцепочечные радикалы (типа диацетостеарина); любым другим, содержащим компоненты, имеющие функциональные группы, которые дают полосы поглощения достаточно близко к полосе С-Н деформационной изолированной двойной связи в транс-конфигурации с частотой (волновым числом) 966—968 $см^{-1}$.

Метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) инфракрасной спектроскопии использовался для количественно определения содержания общих транс жирных кислот производных соединений метиловых эфиров (ПСМЭ) в беспримесных (без растворителя) исследуемых образцах, изолированных от жировой ткани. Эта процедура не требует никакого взвешивания лабораторного образца. Однолучевой спектр транс-содержащих ПСМЭ был соотнесен как справочный материал, имеющий только условные двойные цис- связи для получения симметричного поглотительного диапазона при 966 $см^{-1}$ на горизонтальном фоне. Использовалась единственная отражательная ячейка алмаза (ОЯА), которая требует только около 1 мл беспримесной ПСМЭ. Средний уровень транс-жирных кислот в анализируемой жировой ткани, определенный при помощи ОЯА (3,07±0.27%), был, в общем более высок, чем полученный при помощи газовой хроматографии (2,59±0.20%). Причины для такой разницы обсуждаются [52]

Этот метод совместно изучался пятью лабораториями для количественного определения общих уровней транс-жирных кислот гидрированного растительного масла (без растворителя), взвешенные как триацилглицеролы в одном исследовании, и как метиловые эфиры жирных кислот - в другом. В отличие от метиловых эфиров жирных кислот, триацилглицеролы не требуют никакой последующей пробоподготовки и плавятся до измерения. Чтобы получить симметричный поглотительный диапазон в 966 $см^{-1}$ был снят однолучевой спектр транс-содержащих жиров.

Для метиловых эфиров жирных кислот, средние квадратичные отклонения воспроизводимости были в интервале от 0,90 до 18,46%. Шесть пар триацилглицеролов показали высокую точность в ряде 0,53-40,69% транс- и составили в среднем низкую погрешность измерения 1,3%. Эти статистические результаты анализа были сравнены с совместно полученными недавно принятыми инфракрасными официальными методами [37]

Был разработан, совместно изучен и применен к пищевой продукции. содержащей 1–50% транс жиров (как процент полного жира) новый и быстрый (5 мин) метод Фурье – ИК спектроскопии для определения общих изолированных транс-жирных кислот, которые поглощают при 966 $см^{-1}$.

Попытка применения этого метода к биологическим матрицам с низким содержанием транс жира и/или низким общим содержанием жира, также к молочной и другой продукции не была удовлетворительна благодаря помехе ИК абсорбции в области транса. Одной группой мешающих соединений с поглотительными диапазонами около 985 и 948 $см^{-1}$ был *цис-транс* позиционный изомер сопряженной линолевой кислоты (СЛК) найденный в молочной и мясной продукции от жвачных животных на уровнях <1% (как процент полного жира). В данном исследовании был модифицирован метод для преодоления матричных помех. Эта модификация, которая состоит из применения стандартной дополнительной методики к определению, была также применена к нескольким пищевым продуктам, а именно, к молочной продукции.

Присутствие <1% СЛК в двух маслах и двух сырных продуктах, содержащих 6,8, 7,5, 8,5, и 10,4% (как процент полного жира) транс-жирной кислоты привели бы к ошибкам 11,6, 10,4, 17,6 и 34,6%, соответственно, в измерениях *транс*- жира по стандартной методики без дополнения [32,40]

Транс-жирные кислоты и сопряженные линолевые кислоты (СЛК) в пищевых маслах и жирах были впервые количественно определены одновременно, используя инфракрасную спектроскопию и хемометрику. Задача была достигнута установле-

нием калиброванных моделей, используя инфракрасные спектральные профили смесей *транс*- и СЛК жирных кислот в сыром оливковом масле, свободном от *транс*- и СЛК. Инфракрасные профили были просмотрены в области 1000–850 $см^{-1}$, где С-Н согнутые колебания транс- жирных кислот и деформационные колебания С-Н СЛК совпадают. Были установлены две калиброванные модели, одна для *транс*- и/или СЛК в ряду 1–2,5% в оливковом масле и вторая для *транс*- и/или СЛК в ряду 0,1–30% в оливковом масле.

Методика частично-наименьших квадратов использовалась в установлении калиброванных моделей с процедурой перекрестного утверждения. Эти образцы затем использовались в анализе некоторых подготовленных лабораторией образцов и в говяжьем жире для определения в них *транс*- и СЛК содержания. Модель, установленная для низшего концентрационного ряда, предсказывает *транс*- и СЛК содержание с ошибочным пределом ±0,1% и в то же время модель, установленная для высокого концентрационного ряда, предсказывает *транс*- и СЛК содержание с ошибочными пределами ±0,9 и ±0,5%, соответственно. Предсказанные величины в говяжем жире находятся в пределах описанных в литературе и кроме того подтверждены методом добавок [35].

Количественная и качественная оценка изомеров транс-жирных кислот сложна из-за широкого ряда позиционных моно-, ди- и триеновых изомеров жирных кислот, что присутствует в гидрогенизированных маслах.

Показана возможность использования метода ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье для быстрого одновременного определения цис-и транс-изомеров, йодного числа и числа омыления пищевых масел. Измерения осуществляли в ближней области ИК-спектра 10000-4000 $см^{-1}$ с обработкой полученных данных с помощью пакета прикладных программ. С использованием метода наименьших квадратов получено 2 калибровочных графика – для гидрогенизированных соевых масел и для масел различного типа. Метод рекомендован для широкого применения на предприятиях пищевой промышленности [41].

Исследована возможность применения специальной полиэтиленовой ИК-карточки в качестве носителя пробы для определения содержания транс-изомеров жирных кислот в жирах, маслах и маргаринах методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье. Показано, что результаты определений содержания транс-изомеров жирных кислот, полученные с помощью ИК-карточек, хорошо сходятся с данными, полученными методом ИК-спектроскопии при использовании стандартных ячеек для пробы. Применение ИК-карточек позволяет проводить прямой анализ проб маргарина, который расплавляется перед анализом, т. к. содержащаяся в этом продукте влага не адсорбируется на поверхности ИК-карточки и не мешает определению [33,39].

Представлены результаты метода определения содержания транс-изомеров в жирах с помощью Фурье-трансформированной ИК-спектроскопии. Метод предложен American Oil Chemists Society в 1999 г. и апробирован в 12 лабораториях. Метод характеризуется высокой точностью и быстротой и дает возможность определения транс-изомеров жиров в пищевых продуктах в интервале концентраций 1-40% (от общего содержания жиров) [37].

В таблице 3 приведены примеры наиболее применяемых спектроскопических методов определения ТИЖК.

Гибридные и комбинированные методы определения ТИЖК

Новая группа перспективных методов анализа – гибридные и комбинированные методы, которые позволяют снизить пределы определения, повысить селективность, расширить область применения.

Применяются гибридные методы: метод газовой хроматографии в сочетании с методами тонкослойной хроматографии [44,45,50,54] с масс-спектрометрическим детектированием после предварительной метильной трансэтерификации жирных кислот [54-59].

Более точные анализы транс- жирных кислот могут быть получены при помощи гибридных методов: газовой хроматографии с серебряной тонкослойной хроматографией или жидкостной и газохроматографической масс-спектроскопией [26,28,54-59].

Ag-ТСХ и Ag-ЖХ является эквивалентными методами для отгона легких фракций транс-октадециленовых кислот. Было доказано, что написанные через дефис методы чрезвычайно точные для определения транс октадециленовых кислот в частично гидрируемых растительных жирах. Процедурные вариации стадии Ag+ - хроматографического отгона легких фракций (метод разделения, мобильная фаза, системы обнаружения) значительно не повлияли на результаты испытания.

Поэтому, Ag+- хроматография – метод, которому не нужна строгая стандартизация, чтобы достичь высокой точности экспериментальных результатов. Более того, преимуществом метода является и то, что может использоваться любой вид эффективной полярной капиллярной колонки. [26,28]

© Ф.А. Чмиленко, Л.П. Сидорова, Н.П. Минаева

Таблица 3. – Примеры наиболее применяемых спектроскопических методов

Метод и предел определения	**Объект анализа и литература**	**Условия определения**
ИК – Фурье спектроскопия до 15 г/ 100г	Пищевые жиры и масла [38]	Система калибруется для определения содержания (в %) цис- и транс-жирных кислот при помощи чистых триглицеридов в качестве стандартов Время анализа менее 2 мин.
Метод однократно нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО)	Пищевые гидрированные растительные масла, животные жиры [6,36]	Используется анализатор пищевых жиров на базе ИК-спектрометра Varian 640-IR. После регистрации ИК спектра расплава жира с помощью нагреваемой приставки НПВО на одно отражение проводится расчет содержания транс-изомеров на основании анализа площади полосы поглощения изолированных двойных связей транс-изомеров с положением 966 $см^{-1}$. Калибровка анализатора проводится по смеси триолеина и триэлаидина. Объем исследуемого образца составляет 50 мкг, при этом необходимость взвешивания образца и его растворения в любых растворителях отпадают, что значительно повышает воспроизводимость получаемых результатов и скорость проведения анализа. Время, требующееся на проведение анализа одного образца, составляет 5 минут.
ИК – Фурье спектроскопия 1 – 50 г/ 100г	Жиры, масла, маргарины [30-32]	1. Bomem FTIR спектрометр и Nicolet Magna 550-mid FTIR спектрометр 2. Полиэтиленовая ИК-карточка в качестве носителя пробы [6] 3. Bomem MB155S или FTS-60A FTIR спектрометр, оснащенный дейтерированным триглицин сульфат детектором 4. Специально приготовленное обесцвеченное соевое масло служит в качестве фона [4, 5]

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) стала одним из перспективных методов определения органических структур, обеспечивая аналитическую информацию в анализе жирнокислотного состава пищевых масел. Главным преимуществом ЯМР является то, что идентификация каждой жирной кислоты осуществляется при помощи определения специфических сигналов. Жирнокислотный состав идентифицируют при помощи ГХ, транс-жирные кислоты идентифицирует ^{13}C ЯМР спектроскопия. Результаты, полученные ^{13}C ЯМР методом, были достаточно близки к полученным ГХ [45].

Комбинация Ag - ТСХ с высокоэффективной газовой хроматографией позволяет количественно определять 10 транс- и 9 цис-октадеценовых кислотных пиков. Этот метод может быть применен к гидрируемым растительным жирам также как и к животным жирам различных разновидностей.

Сопряженные линолевые кислоты - октадекадиеновые кислоты (18:2) имеют сопряженную систему двойных связей. Химия сопряженных жирных кислот, особенно октадекадиеновых кислот (18:2), вызвала интерес аналитиков из-за их уникальных физических свойств и множества возможных позиционных и геометрических изомеров. После того, как в пробоподготовке была преодолена задача устойчивости кислотных свойств, стало очевидным, что натуральная продукция, особо молочные жиры, содержат одну доминанту (c9,t11-СЛК), 3 промежуточных звена (t7,c9-, t9,c11-, и t11,c13-СЛК), и вплоть до еще 20 незначительных изомеров СЛК. На сегодняшний день, 6 позиционных изомеров СЛК были найдены в молочных жирах, каждый встречается в 4 геометрических формах (цис, транс; транс, цис; цис, цис; и транс, транс), т.е. всего 24 изомера. Лучшие аналитические методы включают комбинацию газовой хроматографии, которая использует стометровые чрезвычайно полярные капиллярные колонки, с Ag–ВЭЖХ, и комбинацию Ag–тонкослойной хроматографии и газовой хроматографии, чтобы проанализировать СЛК и транс 18:1 изомер. Т.о., известны методы анализа сопряженных линолевых

кислот и транс-18:1 изомеров в молочных жирах, используя комбинацию газовой хроматографии, Ag+-тонкослойной хроматографии или газовой хроматографии и Ag+ - жидкостной хроматографии [45, 52].

Вклад транс-октадециленовых кислот составляет приблизительно 80-90% из общего содержания ТЖК в пищевых продуктах. Поэтому транс-изомеры жирных кислот С18:1, С18:2 и С18:3 наиболее изучены и чаще всего в литературе рассматриваются методы их определения. Количественно, транс-16:1 изомеры представляют только 5% из суммы транс-16:1 и транс-18:1 изомеров. Предполагается что транс-16:1 изомеры молочных жиров не менее важны, по сравнению с изомерными транс-18:1 кислотами. Относительно транс-18:1 изомеров, комбинирование Ag-ТСХ/ГЖХ - необходимая процедура, чтобы количественно точно и надежно определить транс-16:1 кислоты. Ag-ТСХ позволяет удаление влияния разветвленных 17:0 кислот и цис-16:1 кислоты, и низкотемпературный ГЖХ разрешает точное измерение всех индивидуальных изомеров [20]. Известна идентификация и количественная оценка цис/транс позиционных изомеров С16:1 и С17:1 жирных кислот в молочных жирах тонкослойной хроматографией и газовой хромато-масс-спектрометрией [56].

Структурное определение полиненасыщенных жирных кислот газовой хромато-масс-спектрометрией (ГХ–МС) требует в настоящий момент использования N-содержащих производных таких, как например пиколиновые сложные эфиры, 4,4-диметилоксазолин или пиролидиновые производные. Извлечение требуется в большинстве случаев, чтобы получить низкую фрагментацию энергии, которая позволяет получить точное расположение двойных связей [52,57].

Транс-изомеры в рафинированных маслах отличны по типу и уровню от изомеров в частично гидрируемых маслах. Условия ГЖХ для гидрируемых образцов часто не подходят для рафинированных масел из-за проблем перекрытия. С аналогичными проблемами приходится сталкиваться и для других образцов. Предлагаются различные комбинированные методы позволяющие решать эти проблемы.

Для количественной оценки цис- и транс- изомеров жирных кислот используются методы инфракрасной (ИК) спектроскопии, газо - жидкостная хроматография на чрезвычайно полярных неподвижных фазах или комбинации ГЖХ-ИК. Метод определения ТИЖК – ИК-спектроскопия с Фурье-преобразованием, который основан на свойстве ненасыщенных соединений с изолированной транс-этиленовой связью давать в ИК-спектрах полосы поглощения в области 960 – 990 $см^{-1}$ и позволяет установить суммарное содержание ТИ [52,53]. ИК предлагает преимущество простоты и скорости, но низкий предел обнаружения - 5% и отсутствие детальной информации ограничивают его использование. Требуемую детальную информацию о жирных кислотах получают методами ГЖХ, но определяемое количество транс-изомеров может быть занижено в результате С18:1 позиционного перекрытия. Комбинируемый ГЖХ-ИК метод решает эту проблему.

Были сравнены между собой четыре метода: газо-жидкостная хроматография, газо-жидкостная хроматография + тонкослойная хроматография, и два спектроскопических метода: Фурье - ИК спектроскопия и вариант открытой фотозвукопоглощающей ячейки для определения их потенциала обнаружения общего содержания транс-жирной кислоты в маргарине. Значения общих транс жирных кислот, полученные различными методами, показывают хорошее взаимное соглашение [44].

Для избирательного определения изомерных высших жирных гидроксикислот (ВЖГК) использовали тандемную масс-спектрометрию с электроспреевой ионизацией с предварительным превращением аналитов в йодиды ацетилтриметиламиноэтиловых эфиров. Масс-спектры производных 2-, 3, 12- и 16-гидроксипальмитиновых кислот имели существенные различия. Дальнейшая дифференциация изомеров стала возможной после ацилирования [57].

В методе ВЭЖХ используют две обращенно-фазовые колонки. Изомеры цис- и транс-18:1 жирных кислот в виде метиловых эфиров элюируются как две отдельные фракции. Собранные фракции анализировали методом газовой хроматографии. Чистоту двух фракций определяли с помощью сочетания методов ГХ - масс-спектрометрия и ГХ — ИК-Фурье-спектроскопия [25].

Примером такого определения является оригинальная методика идентификации и контроля содержания ТИЖК в масложировых продуктах [59].

Методика предусматривает выделение жира из пробы молочных продуктов с низким содержанием жира (менее 50%), щелочной гидролиз триглицеридов до свободных жирных кислот с последующим получением реакцией этерификации метиловых эфиров жирных кислот с помощью метилата натрия, и проведении хроматографического исследования. Определение ТИЖК проводится методом газовой хроматографии с разделением на капиллярной колонке в изотермическом режиме с пламенно-ионизационным детектированием

© Ф.А. Чмиленко, Л.П. Сидорова, Н.П. Минаева

Выводы

Хроматографические и спектральные – это наиболее распространенные современные методы выявления фальсификации и определения транс-изомеров жирных кислот в масложировой продукции.

Вклад транс-октадециленовых кислот составляет приблизительно 80-90% из общего содержания ТЖК в пищевых продуктах. Поэтому транс-изомеры жирных кислот С18:1, С18:2 и С18:3 наиболее изучены и чаще всего в литературе рассматриваются методы их определения, чего нельзя сказать об остальных ТИЖК.

Существуют проблемы связанные с перекрытием хроматографических пиков цис- и транс-изомеров, т.е. неполным отделением цис-изомеров от транс-кислоты. Так же пока нет универсальных методов определения для всех образцов масложировой продукции.

Новая группа перспективных методов анализа – гибридные и комбинированные методы, которые позволяют снизить пределы определения, повысить селективность, расширить область применения.

Но все еще остаются нерешенными проблемы связанные с широким рядом моно-, ди- и триеновых изомеров жирних кислот, что присутствуют в масложировой продукции и их разделением.

Литература

1. *Павлова, И.В. Получение и применение заменителей молочного жира / И.В. Павлова, Н.В.Долганова // Молочная промышленность. – 2006. – № 2. – С. 54–55.*

2. *Об умеренности потребления маргарина // Вопросы питания. –1998. –№1. – С. 48.*

3. *ГОСТ Р 51483-99. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме.*

4. *ДСТУ ISO 5508-2001 "Жири та олії тваринні і рослинні. Аналізування методом газової хроматографії метилових ефірів жирних кислот".*

5. *ISO 15304 2002 (E) Animal and vegetable fats and oils – Determination of the content of trans fatty acid isomers of vegetable fats and oils – Gas chromatographic method.*

6. *ГОСТ Р 52677-2006. Масла растительные и жиры животные и продукты их переработки. Методы определения массовой доли транс-изомеров жирных кислот.*

7. *Determination of fatty acids and some undesirable fatty acid isomers in selected Turkish margarines / Mehmet Cetin , Ayhan Yldrm , A. Metinahin // European Journal of Lipid Science and Technology. – 2003. – vol. 105(11). – P. 683-687.*

8. *Optimized analysis of trans -octadecenoic acids in edible fats / J. Molkentin, D. Precht // Chromatographia. – 1995. – vol. 41(5). – P. 267-272.*

9. *Overestimation of linoleic acid and trans-C18:2 isomers in milk fats with emphasis on trans Δ9,trans Δ12-octadecadienoic acid/ Precht D., Molkentin J.// Milchwissenschaft. – 2003. – vol. 58(2). P. 30-34.*

10. *Evaluation of gas chromatographic methods for the determination of trans fat / Delmonte P, RaderJ.I. // Anal Bioanal Chem. – 2007. vol. 389(1). – P. 77-85.*

11. *Evaluating the conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in milk fat of dairy cows fed increasing amouts of sunflower oil and constant level of fish oil / C.Cruz-Hernandez, J.K.G.Kramer, J.J.Kennelly and others // J. Dairy Sci. – 2007. – vol. 90. – P. 3786-3801.*

12. *Analysis of conjugated linoleic acid and trans 18:1 isomers in synthetic and animal products /John KG Kramer, Cristina Cruz-Hernandez, Zeyuan Deng and others // American Journal of Clinical Nutrition. – 2004. – vol. 79(6). – P. 1137-1145.*

13. *Quantitative determination of trans-fatty acids in oils and fats by capillary gas chromatography: results of a JOCS collaborative study / Shirasawa S, Shiota M, Arakawa H. // J Oleo Sci. – 2007. – vol. 56(8). – P. 405-415.*

14. *Analisis of trans fatty acids / Christie, W.W. // Lipid Technology. – 2003. – vol. 7(3). – P. 113-115.*

15. *Accurate determination of trans- 18:1 isomers by capillary gas-liquid chromatography on cyanoalkyl polysiloxane stationary phases / Wolff R. L., Combe N.A., Precht D. and others // OCL: Oleagineux, Corps Gras, Lipides. – 1998. – 5, №4. – P. 295-300.*

16. *Determination of trans fatty acids and fatty acid profiles in margarines marketed in Spain. / Alonso L. , Fraga M. J., Juarez M. // (Instituto de Productos Lacteos de Asturias (CSIC), Asturias, Spain). J. Amer. Oil Chem. Soc. 2000. 77, №2, P. 131-136.*

17. *Influence of milk for presence on the determination of trans fatty acids in fats used for infant formulae/ Dionici F., Golay P.A., Fay L.B.// Anal. Chim. Acta. – 2002. – vol. 465, № 1-2, P. 395-407.*

18. *Голба И.И., Кулакова А.Н. Определение жирнокислотного состава продуктов питания// Материалы международной конференции студентов и аспирантов по фундаментальным наукам «Ломоносов-2005». Москва. – 2005. – С. 24.*

19. *Транс-жирные кислоты в маслах и методы их определения/ Dong-xian S., Li-xia Z., Ling Xu, Yan-lan Bi // Zhonggm youzhi – China Oils and Fats.*

– 2005. – V. 30, №3. – P. 45 – 48. Цитировано из РЖХ: № 06.08-19P1.235; 2006 г.

20. Study of individual trans- and cis-16:1 isomers in cow, goat, and ewe cheese fats by gas-liquid chromatography with emphasis on the trans-delta3 isomer / Destaillats F, Wolff RL, Precht D, Molkentin J. // Lipids. – 2000. – vol. 35(9). – P. 1027-1032.

21. Rapid analysis of the isomers of trans-octadecenoic acid in milk fat / Dietz Prechta, Joachim Molkentina // International Dairy Journal. – 1996. – vol. 6(8). – P. 791-809.

22. Determination of trans octadecenoic acids by silver-ion chromatography-gas liquid chromatography: an intercomparison of methods/Buchgraber, M : Ulberth, F // J. Amer Oil Chem. Soc. Int. – 2001. – vol. 84(5). – P. 1490-1498.

23. Precision of low trans fatty acid level determination in refined oils. Results of a collaborative capillary gas-liquid chromatography study / Bruggen, P., Duchateau, G., Mooren, M., Oosten, H. // J. Amer Oil Chem. Soc. – 1998. – vol. 75(4). – P. 483-488.

24. Analisis of cis- and trans- fatty acid isomers in hydrogenated aand refined vegetable oils by capillary gas-liquid chromatography / G. S. M. J. E.Duchateau, H. J. van Oosten, M. A. Vasconcellos // J. Amer Oil Chem. Soc. – 1996. – vol. 73(3). – P. 275-282.

25. Utilisation of reversed-phase high-performance liquid chromatography as an alternative to silver-ion chromatography for the separation of cis- and trans-C18:1 fatty acid isomers / Pierre Juanéda // Journal of Chromatography A. – 2002. – vol. 954(2). – P. 285-289.

26. Trans-free margarine from highly Saturated Soybean Oil / Li Lee Kok, Walter R. Fehr, Earl G. Hammond and others // J. Amer Oil Chem. Soc. – 1999. – vol. 76(10). – P. 1175-1180.

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

28. Wolff, R.L. Content and Distribution of trans-18:1 Acids in Ruminant Milk and Meat Fats. Their importance in European Diets and Their Effect on Human Milk // J. Amer. Oil. Chem. Soc. – 1995. – vol. 72(3). – P. 259–272..

29. Determination of trans-fatty-acids in hydrogenated vegetable-oils by attenuated total-reflection infrared- spectroscopy – 2 limited collaborative studies /M Adam, M Chew, A Mccollum and others]// J. Amer Oil Chem. Soc. – 1998. – vol. 75(3). – P. 00353-00358.

30. Trans determination of edible oils by fourier transform near-infrared spectroscopy / Hui Li, F. R. van de Voort , A. A. Ismail and others// J. Amer. Oil. Chem. Soc. – 2000. – vol. 77(10). – P. 1061-1067.

31. Application of standard addition to eliminate conjugated linoleic acid and other interferences in the determination of total Trans fatty acids in selected food products by infrared spectroscopy / M. M. Mossoba , K. G. Kramer, M.P. Fritsche and others // J. Amer. Oil. Chem. Soc. – 2001. – vol. 78(6). – P. 631-634.

32. Trans fatty and determination in fats and margarine by Fourier transform infrared spectroscopy using a disposable infrared card / Kangming Ma, F. R. van de Voort , J. Sedman and others// J. Amer. Oil. Chem. Soc. – 1999. – vol. 76(12). – P. 1399-1404.

33. Determination of total trans fats and oils by infrared spectroscopy for regulatory compliance / M. M. Mossoba , V. Milosevic, M. Milosevic and others // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2007. – vol. 389(1). – P. 87-92.

34. Simultaneous quantitative determination of isolated trans fatty acids and conjugated linoleic acids in oils and fats by chemometric analysis of the infrared profiles / Alfred A. Christy, Per K. Egeberg, Eilif T. Ostensen // Vibrational Spectroscopy. – 2003. – vol. 33(1). – P. 37-48.

35. Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy / D. Cozzolinoa, I. Murraya, A. Chreeb and others // LWT - Food Science and Technology. – 2005. – vol. 38(8). – P. 821-828.

36. Rapid determination of total trans fat content by attenuated total reflection infrared spectroscopy: An international collaborative study / Adam Michae, Mossoba Magdi M., Lee Theresa // J. Amer. Oil. Chem. Soc. – 2000. – vol. 77(5). P. 457-462.

37. Quantification of trans fatty acids in food products by GC, ATR-FTIR and FT-NIR methods / Hormoz Azizian, John K.G. Kramer, Anthony R. Kamalian and others // Lipid Technology. – 2004. – vol. 16(10). – P. 229-231.

38. Fourier transform near infrared spectroscopy: a newly developed, non-Invasive method to measure body fat : non-invasive body fat content measurement using FT-NIR / Azizian H.// Lipids. - 2007. – vol. 6. – P. 154-160.

39. Overview of Infrared methodologies for trans fat determination / Magdi M. Mossoba, Martin P. Yurawecz, Pierluigi Delmonte and others // J. Amer. Oil. Chem. Soc. International. – 2004. – vol. 87(2). – P. 540-544.

40. Rapid determination of cis and trans content, iodine value, and saponification number of edible oils by Fourier transform near-infrared spectroscopy / Li H., Van der Voort F. R., Sedman J., Ismail A.A. // J. Amer. Oil. Chem. Soc. – 1999. – 76, № 4. – P. 491-497.

© Ф.А. Чмиленко, Л.П. Сидорова, Н.П. Минаева

41. Simultaneous determination of iodine value and trans content of fats and oils by single-bounce horizontal attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy / Sedman J., Van de Voort F. R., Ismail A. A. //J. Amer. Oil Chem. Soc. 2000. 77, № 4, P. 399-403.

42. Elaidic acid in rat liver identified by gas chromatography and nuclear magnetic resonance spectroscopy / Céphora Maria Sabarense , Maria Inês de Almeida Gonçalves , Jorge Mancini Filho // European Journal of Lipid Science and Technology. – 2006. – vol. 108(5). – P. 404-410.

43. Overview of methods for the determination of trans fatty acids by gas chromatography, silver–ion thin-layer chromatography, silver–ion liquid chromatography, and gas chromatography/mass spectrometry / W.M. Nimal Ratnayake // J. Amer. Oil. Chem. Soc. international. – 2004. – vol. 87(2). – P. 523-539.

44. Methods for analysis of conjugated linoleic acids and trans-18:1 isomers in dairy fats by using a combination of gas chromatography, silver-ion thin-layer chromatography/gas chromatography, and silver-ion liquid chromatography / Cruz-Hernandez Cristina, Zeyuan Deng, Jianqiang Zhou and others// J. Amer. Oil. Chem. Soc. International. – 2004. – vol. 87(2). – P. 545-562.

45. Quantification of trans fatty acids in food products by GC, ATR-FTIR and FT-NIR methods / Hormoz Azizian, John K.G. Kramer, Anthony R. Kamalian and others // Lipid Technology. – 2004. – vol. 16(10). – P. 229-231.

46. A rapid method for trans-fatty acid determination using a single capillary GC / Seiichi Shirasawa, Akiko Sasaki1, Yasue Saida and others // Journal of Oleo Science. – 2007. – vol. 56(2). – P. 53-58.

47. Temperature-sensitive resolution of cis- and trans-fatty acid isomers of partially hydrogenated vegetable oils on SP-2560 and CP-Sil 88 capillary columns / W.M. Nimal Ratnayake, Louise J. Plouffe, Elodie Pasquier// J. Amer. Oil. Chem. Soc. International. – 2002. – vol. 85(5). – P. 1112-1118.

48. Determination of the trans fatty acid content of edible fats/oils by lightpipe GC-IR / Johnson C. // Pittsburgh Conf. Anal. Chem. and Appl. Spectrosc, Orlando, Fla, March 7-12, 1999: PITTCON'99: Book Abstr – Orlando (Fla), 1999. – P. 781.

49. Rapid-determination of trans-fatty-acids in human adipose-tissue – comparison of attenuatedtotal-reflection infrared-spectroscopy and gas-chromatography / J. Fritsche, T. Ku, M.M. Mossova and others // Journal of chromatography B-Blomedical aplications. – 1988. - vol.705(2).- P. 00177-00182.

50. Detection of trans-fatty-acids content in margarine – an intercomparison study of GLC,GLC+TLC,FT-IR, and optothermal window / D Bicanic, M Chirtoc, Jp Favier and others // Analytical Chemistry. – 1999. – vol. 68(5). – P. 00729-00733.

51. Analysis of C18:1 cis and trans fatty acid isomers by the combination of gas-liquid chromatography of 4,4-dimethyloxazoline derivatives and methyl esters / Aro A., Kosmeijer-Schuil T., De Bovenkamp P.V. and others // J. Amer. Oil. Chem. Soc. – 1998. – vol. 75(8). P. 977-985.

52. Trans FA in sunflower oil at different steps of refining / Trasan Murat, Demirci Mehmet // JAOCS: J.Amer. Oil Chem. Soc. 2003, 80, № 8, P. 825-828.

53 Identification and quantitation of cis-trans C16:1 and C17:1 fatty acid positional isomers in German human milk lipids by thin-layer chromatography and gas chromatography,mass spectrometry / Dietz Precht , Joachim Molkentin // European Journal of Lipid Science and Technology. - 2000. - vol. 102(2). – P. 102-113.

54 Trans fatty acids (TFA): analysis, occurrence, intake and clinical relevance/ Steinhart H, Rickert R, Winkler K. // Eur J Med Res. – 2003. – vol. 8(8). – P. 358-362.

55 Gas chromatography–mass spectrometry determination of metabolites of conjugated cis-9, trans-11,cis-15 18:3 fatty acid / Frédéric Destaillatsa, Jean-Louis Sébédiob, Olivier Berdeauxb and others // Journal of Chromatography B. – 2005. – vol. 820(1). – P. 15-22.

56 A simple method for the analysis of trans fatty acid with GC–MS and AT™-Silar-90 capillary column / Zhiliang Huanga, Baowu Wang, Aneesha A. Crenshawa // Food Chemistry. – 2006. – vol. 98(4). – P. 593-598.

57 Recent developments in instrumental analysis for food quality/ Muller Andre, SteinharM Hans //Food Chem. 2007. 101, № 3, P. 1136-1144.

58 Analysis of isomeric long-chain hydroxy fatty acids by tandem mass spectromery Application to the diagnosis of long-chain 3-hydroxyacvl CoA dehydrogenase deficiency. / Johnson D. W., Trinh M.U. //Rapid Commun. Mass. Spectrom. 2003. 17, № 2, P. 171-175.

59 Встановлення фальсифікації молока жирами рослинного походження/Чмиленко Ф.О., Мінаєва Н.П., Сандомирський О.В., Сидорова Л.П.// Харчова промисловість. 2008, № 7, С. 20-23.