



УДК 543.544

ГХ/МС анализ продуктов окисления метиловых эфиров жирных кислот подсолнечного масла

Леденева И.В.¹, Фалалеев А.В.¹, Картавец П.А.¹,
Перелыгина И.Э.¹, Ляпун Д.В.²

¹ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», Воронеж
²ОАО «ЭФКО», Белгородская область, Алексеевка

Поступила в редакцию 3.02.2015 г.

Исследованы возможности метода ГХ/МС при анализе продуктов окисления производных метиловых эфиров жирных кислот подсолнечного масла. Установлены основные компоненты исследуемой смеси и предложены пути распада их молекул под действием электронного удара.

Ключевые слова: газовая хроматография/масс-спектрометрия, метиловые эфиры жирных кислот подсолнечного масла, окисление, эпоксидирование.

GC/MS analysis of the oxidation products of fatty acids methyl esters of sunflower oil

Ledenyova I.V.¹, Falaleev A.V.¹, Kartavtsev P.A.¹,
Perelygina I.E.¹, Lyapun D.V.²

¹Voronezh State University, Voronezh
²«EFKO», Belgorod's region, Alexeevka

Oxidation of sunflower oil FAMES with hydrogen peroxide in the presence of formic acid may be used in the development of new technologies for production of valuable compounds from the renewable plant raw materials.

A mixture of the derivatives of the fatty acids methyl esters have been investigated by the GC/MS method using a capillary column. It has been revealed the presence of large numbers of compounds, with a prevalence of at least 24 components. 14 oxidation products have been identified by fragmentation from their individual mass spectra. The main components of the mixture of oxidation FAMES were methyl 9,10-epoxyoctadecanoate and methyl 9,10-dihydroxyoctadecanoate.

In summary, the proposed method has proved to be an excellent step to approach the quantitative analysis of oxidized fatty acids methyl esters of sunflower oil.

Keywords: gas chromatography/mass spectrometry, fatty acids methyl esters of sunflower oil, oxidation, epoxidation.

Введение

Природные масла и их производные являются важным сырьем в химической промышленности. Во многих случаях, их успешное применение в качестве возобновляемых материалов в органическом синтезе зависит от эффективности окислительного процесса в алкильной цепи. Окисление ненасыщенных жирных кислот и их

эфиров приводит к формированию кислородсодержащих функциональных групп (эпокси-, гидрокси-, карбонил- и др.), способных к дальнейшим превращениям. При этом, к перспективным продуктам окисления, с точки зрения народного хозяйства, относятся производные жирных кислот, содержащие оксирановый цикл в своей алифатической цепи.

Продукты, получаемые на основе эпоксицированных растительных масел и их эфиров, находят широкое применение в качестве моющих средств, пищевых добавок, а также как стабилизаторы и пластификаторы поливинилхлорида и других полимерных материалов [1, 2]. В то же время, дериватизация с использованием эпоксицирования – важный метод предотвращения прогоркания масел при их хранении [3, 4]. Кроме того, эпоксицированные жирных кислот и их эфиров являются перспективными биоразлагаемыми антиадгезионными агентами [5].

Верноловая (*цис*-12,13-эпоксиолеиновая) кислота – единственно известная биологически важная эпоксициклическая кислота, которая в больших количествах содержится в семенах масел *Vernonia anthelmintica*, *Vernonia galamensis*, *Stokesia laevis*, *Cephalocroton cirdofanus*, *Euphobia lagascae*, *Erlangea tomentosa*, *Crepis aura* и *Crepis biennis* [6]. Спрос на эпоксицированные производные удовлетворяется за счёт их промышленного производства из соевого и льняного масел. Получены и, в некоторой мере, исследованы, оксирановые производные других масел растительного происхождения – сафлорового, получаемого из семян сафлора красильного (*Carthamus tinctorius*), хлопкового, оливкового, рапсового и подсолнечного [7].

Состав эпоксицированных масел и их производных зависит от состава исходной субстанции, при этом часто предполагается, что процесс окисления проходит полностью, и в конечной смеси отсутствуют ненасыщенные связи. Так, из олеиновой, линолевой и линоленовой кислот или их эфиров получают соответственно моно-, ди- и три- эпоксицированные производные. В действительности же, присутствие остаточной ненасыщенности связей влияет на число продуктов реакции. Кроме того, в зависимости от выбранных условий проведения эпоксицирования (природа окислителя и катализатора, температурный и временной режим, присутствие высокополярных растворителей, соотношение реагентов) может протекать ряд побочных процессов.

Эксперимент

Окисление метиловых эфиров ЖК подсолнечного масла проводили согласно методике, описанной в работе [8]. Анализ смесей осуществляли на газохроматографическом комплексе Agilent 7890B с масс-селективным детектором Agilent 5977A MSD. Разделение проводили на капиллярной колонке HP-5ms UI (Agilent, Cat. N 19091S-433UI) с неподвижной фазой – 5%-фенил-, 95%- метилполисилоксан. Длина колонки – 30 м, внутренний диаметр – 0.25 мм, толщина неподвижной фазы – 0.25 мкм. Газ-носитель – гелий, расход через колонку постоянный, 1 см³/мин. Температурный режим колонки – градиент, начальная температура 80°C, изотерма 2.0 мин, нагрев 5°/мин., до 280°C. Испаритель: деление потока 20:1, температура 280°C, объем вводимой пробы 1 мкл. Температура интерфейса детектора 280°C. Детектор: масс-спектрометрический квадрупольный Agilent 5977B, тип ионизации: электронный удар (70 эВ), температура ионного источника 230°C, масс-фильтра – 150°C. Спектр регистрировали в диапазоне 30-650 *m/z*. Программное обеспечение, применяемое для обработки результатов хромато-масс-спектрометрической информации: MassHunter Qualitative Analysis Ver., B.06.00, Agilent Tech., NIST MS Search 2.0 и библиотека масс-спектров – NIST11 от 19 мая 2011 года.

Обсуждение результатов

В продолжение исследований [5-7, 9-13], нами проведены реакции эпексидирования метиловых эфиров жирных кислот (ЖК) подсолнечного масла с целью выявления и количественного определения продуктов окисления в смеси методом ГХ/МС.

Синтез эпексидированных производных метиловых эфиров ЖК подсолнечного масла проводили в водно-масляной эмульсии при комнатной температуре с использованием мягкого окисляющего агента – пермуравьиной кислоты, генерируемой *in situ* [8] (Схема 1).

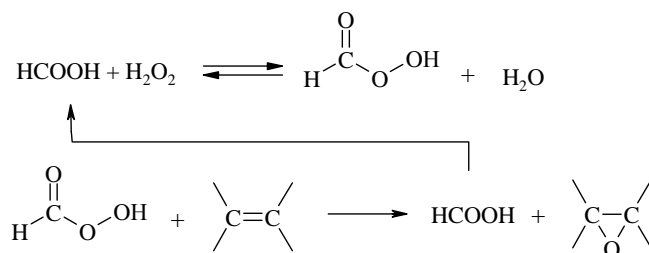


Схема 1. Целевая реакция процесса эпексидирования

В реакцию вводили смесь метиловых эфиров жирных кислот подсолнечного масла с массовой долей линолевой кислоты 26-81% (согласно ГОСТ 30623-98).

С помощью газохроматографического анализа было выявлено присутствие большого числа соединений, с превалярованием, как минимум 24-х компонентов (содержащихся от 0,5%, в пересчете на площадь наибольшего пика, принятого за 100%). Среди них: исходные эфиры насыщенных жирных кислот, такие как метилпальмитат, метилстеарат и т.д. (22% от общей площади всех интегрируемых пиков) и продукты окисления эфиров ненасыщенных жирных кислот (рис. 1).

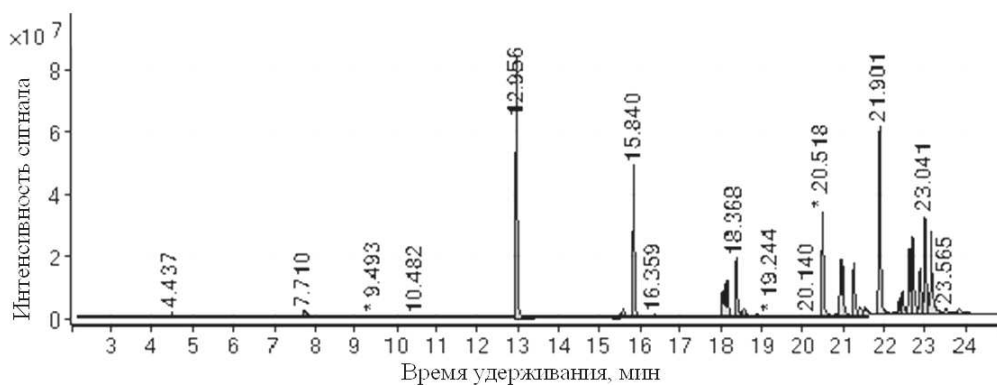
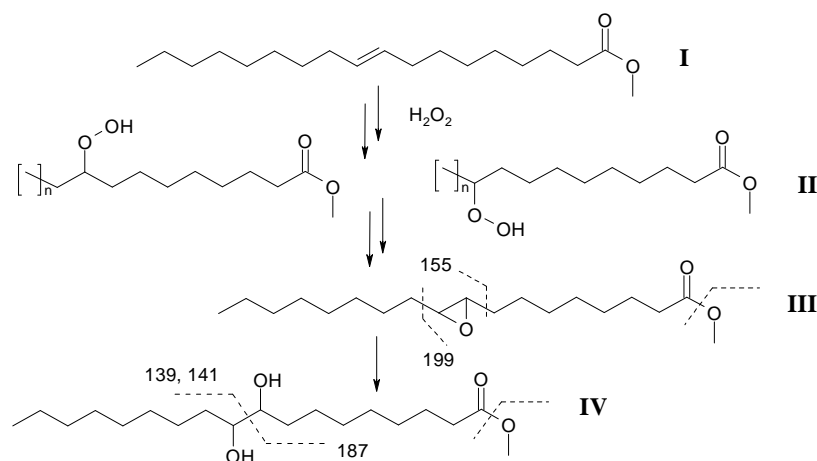


Рис. 1. Интегрированная хроматограмма продуктов окисления метиловых эфиров ЖК подсолнечного масла с 3 по 25 мин. сканирования

К сожалению, большинство соединений данного ряда не образует в условиях жёсткой ионизации методом электронного «удара», достаточно устойчивых молекулярных ионов, а интерпретация масс-спектров, встречающаяся в литературе, носит, в основном, предположительный и, во многом, противоречивый, характер. Тем не менее, основные направления окисления, а также и механизм предполагаемой фрагментации образующих продуктов, на примере метил олеата, можно представить следующим образом:



Анализируя масс-спектры компонентов можно предположить, что одним из направлений фрагментации является отщепление метоксильного радикала в составе спиртовой цепи. Также следует отметить, что для ряда пиков на хроматограмме недериватизированных продуктов, характеристическим следует считать наличие сигнала с m/z 74, соответствующего карбокатиону, получаемому в ходе перегруппировки МакЛафферти по кислотной цепи.

По-видимому, на первой стадии окисления образуются гидроксипероксиды II, основным признаком которых является нестабильный молекулярный ион, а характеристическим сигналом можно считать малоинтенсивный с m/z 295, соответствующий иону $[M+H-H_2O_2]^+$ [14, 15].

Дальнейшая дегидратация гидроксипероксидов приводит к образованию эпоксидных производных III. Так, фрагмент с m/z 199 соответствует карбоксилат-содержащему иону, который образуется при разрыве C₁₀-C₁₁ связи 9,10-эпоксиоктадеcanoата, а фрагмент с m/z 155 отвечает, вероятно, насыщенному углеводородному осколку $[C_{10}H_{19}O]^+$, содержащему оксирановый цикл [16-18] (рис. 2).

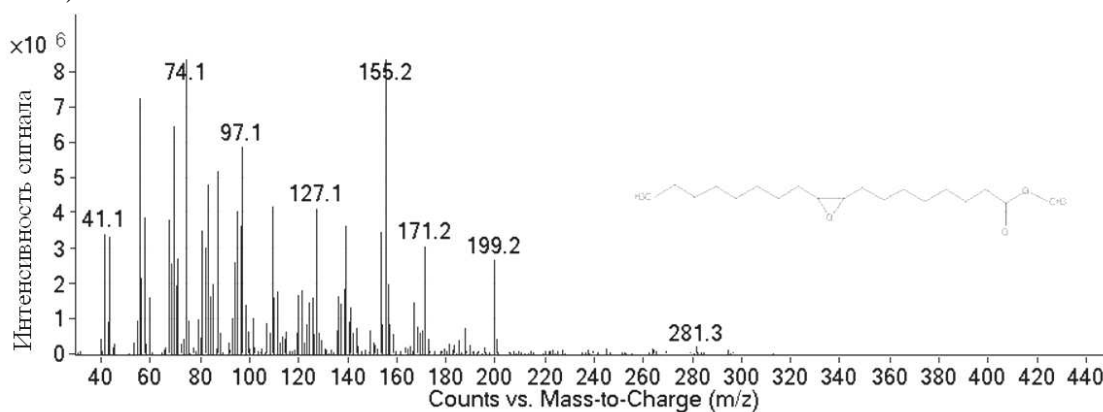


Рис. 2. Масс-спектр метил 9,10-эпоксиоктадеcanoата ($t_R = 18.368$ мин)

Раскрытие эпоксидного цикла приводит к метил 9,10-дигидроксистеарату IV, в масс-спектре которого наблюдаются интенсивные сигналы осколков с m/z 155, 187 образующиеся при разрыве C₉-C₁₀ связи, а также малоинтенсивные с m/z 354/355. Сигнал иона с m/z 355 соответствует фрагменту, формирующемуся при перегруппировке и циклизации гидроксистеариновой кислоты.

Интенсивные пики, наблюдаемые при m/z 139, 141 (фрагмент $CH_3-(CH_2)_7-C=O$), также образуются при разрыве C₉-C₁₀ связи 9,10-гидроксипроизводных. Интересно отметить, что оксипроизводных эфиров ЖК в продуктах обнаружено не было.

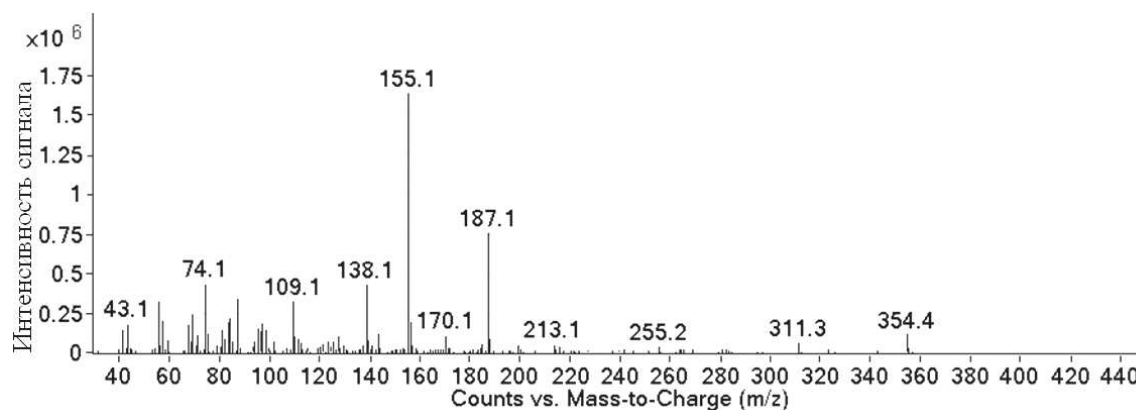
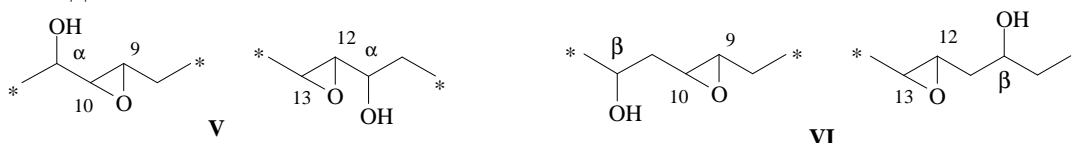
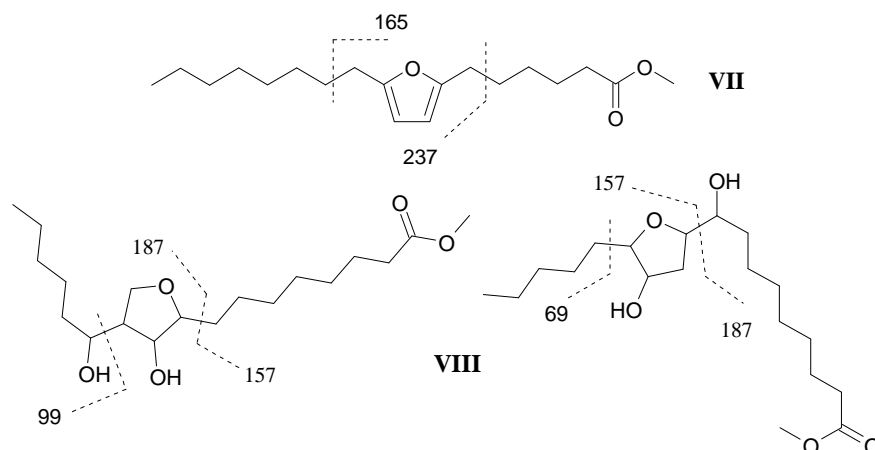


Рис. 3. Масс-спектр метил 9,10-дигидрооктадеканата ($t_R = 21.901$ мин)

Процесс окисления метил линолеата, очевидно, также протекает по указанным выше направлениям, однако из-за наличия дополнительной кратной связи число продуктов и число побочных реакций увеличивается. Значительную долю окисленных производных метил 9,11-октадекадиеноата представляют α - и β - гидроксиды V и VI соответственно. В масс-спектрах последних появляются ионы $[M+H]^+$ с m/z 329, $[M+H-H_2O]^+$ с m/z 311, $[M+H-H_2O]^+$ с m/z 293 и $[M+H-H_2O-CH_3OH]^+$ с m/z 279. Характеристическими для α -гидроксиоксирановых производных можно считать только сигналы с m/z 201, 187 и 173. Основным отличием указанных изомеров являются пики с m/z 197 и 165, наблюдаемые исключительно в масс-спектрах β -производных.



Осколок с m/z 165 в масс-спектре 8-(5-гексил-2-фурил)октаноата VII, минорного (0,11%) побочного продукта окислительной циклизации метил линолеата, появляется при разрыве C₇-C₈ связи. При аналогичном β -разрыве с другой стороны от фуранового цикла в спектре наблюдается сигнал с m/z 237. Ион с m/z 95 соответствует осколку, содержащему фурановый цикл с двумя смежными одноуглеродными фрагментами:



Кроме того, внутримолекулярная гетероциклизация метил 9,10,12,13-тетрагидроксистеарата, образующегося при полном гидролизе диэпоксидов, может приводить к изомерным ТГФ-диолам VIII [19], трудно различимым по фрагментации в масс-спектрах нативных компонентов смеси.

Таким образом, ГХ/МС анализ окисленных производных метиловых эфиров ЖК подсолнечного масла дает информацию об основных направлениях протекания процесса, в то же время, для точной идентификации каждого компонента смеси требуется дополнительное исследование.

Заключение

В настоящее время газовая хроматография/масс-спектрометрия является селективным высокочувствительным методом для определения различных типов соединений в пробах, как правило, являющихся сложными смесями. Это позволяет использовать ГХ/МС для идентификации основных продуктов окисления производных метиловых эфиров ЖК подсолнечного масла и их аналогов без препаративного выделения.

Так, хромато-масс-спектрометрический анализ эпокси- и гидроксидных производных сложных эфиров дает представление о местоположении многих крупных осколков, образующихся при отщеплении метанола, метокси-аниона и воды, а также при разрыве оксирановых циклов. В то же время, идентификация некоторых побочных продуктов затруднительна в связи со сложной картиной фрагментации в их масс-спектрах.

Результаты получены в рамках выполнения работ по Постановлению Правительства РФ № 218 договор N 02.G25.31.0007 при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации

Список литературы

1. Gan L. H., Ooi K. S., Gan L. M. et al. Effects of epoxidation on the thermal oxidative stabilities of fatty acid esters derived from palm olein // *JAOCS*. 1995. Vol. 72. No 4. pp. 439-442.
2. Litz J.T. in: *Encyclopedia of Chemical Technology*, Wallace, J.G. (Ed.), 3rd ed. John Wiley: New York. 1978. pp. 251-261.
3. Pignitter M., Somoza V. Critical Evaluation of Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils // *Journal of Food and Drug Analysis*. 2012. Vol. 20. No 4. pp. 772-777.
4. Dobarganes C., Marquez-Ruiz G. Oxidized fats in foods // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2003. Vol. 6. pp. 157-163.
5. Salimon J., Saliha N., Yousif E. Chemically modified biolubricant basestocks from epoxidized oleic acid: Improved low temperature properties and oxidative stability // *Journal of Saudi Chemical Society*. 2011. Vol. 15. pp. 195-201.
6. Gunstone D. The study of natural epoxy oils and epoxidized vegetable oils by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy // *JAOCS*. 1993. Vol. 70. No 11. pp.1139-1144.
7. Akintayo E.T. Ziegler T., Onipede A. Chromatographic and spectroscopic analysis of epoxidised canola oil // *Bull. Chem. Soc. Ethiop*. 2006. Vol. 20. pp. 75-81.
8. Campanella A., Fontanini C., Baltanás M.A. High yield epoxidation of fatty acid methyl esters with performic acid generated in situ // *Chemical Engineering Journal*. 2008. Vol. 144. pp. 466-475.
9. Kleiman R., Spencer G.F. Gas Chromatography-Mass Spectrometry of Methyl Esters of Unsaturated Oxygenated Fatty Acids // *JAOCS*. 1973. Vol. 50. pp. 31-38.
10. LaScala J., Wool R.P. Effect of FA Composition on Epoxidation Kinetics of TAG, *JAOCS*, 2002, Vol. 79, pp. 373-377.
11. Marmesat S., Velasco J., Dobarganes M.C. Quantitative determination of epoxy acids, keto acids and hydroxy acids formed in fats and oils at frying temperatures // *Journal of Chromatography A*. 2008. Vol. 1211. pp. 129-134.
12. Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Дычко К.А. и др. Состав жирных кислот и стероидов растительных масел // *Химия растительного сырья*. 2006. № 3. С. 27–31.

13. Фалалеев А.В., Воронюк И.В., Кружилин А.А. и др. ГХ-МС анализ N,N-диметиламинопропиламидов жир-ных кислот растительных масел // Сорбционные и хроматографические процессы. 2014. Т. 14. Вып. 3. С. 494-501.
14. Plattner R.D., Gardner H.W. Mass Spectrometry of Isomeric Fatty Acid Hydroperoxides by Chemical Ionization via Direct Exposure Probe // *Lipids*. 1985. Vol. 20. No 2. pp. 126-131.
15. Mochida Y., Yokoyama Yu., Kawai T. et al. Liquid Ionization Mass Spectrometry of Methyl Hydroperoxyoleates and Their Related Compounds // *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.* 1994. Vol. 42. No 3. pp. 207-215.
16. Sharma B. K., Doll K. M., Erhana S. Z. Oxidation, friction reducing, and low temperature properties of epoxy fatty acid methyl esters // *Green Chem.* 2007. Vol. 9. pp. 469-474.
17. Wilson R., Lyall K. Simultaneous Determination by GC-MS of Epoxy and Hydroxy FA as Their Methoxy Derivatives // *Lipids*. 2002. Vol. 37. No 9. pp. 917-924.
18. Newman J.W., Hammock B.D. Optimized thiol derivatizing reagent for the mass spectral analysis of disubstituted epoxy fatty acids // *Journal of Chromatography A*. 2001. Vol. 925. pp. 223-240.
19. Halarnkar P.P., Nourooz-Zadeh J., Kuwano E. et al. Formation of Cyclic Products from the Diepoxide of Long-Chain Fatty Esters by Cytosolic Epoxide Hydrolase // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1992. Vol. 294. No 2. pp. 586-593.

References

1. Gan L. H., Ooi K. S., Gan L. M. et al. Effects of epoxidation on the thermal oxidative stabilities of fatty acid esters derived from palm olein, *JAOCS*, 1995, Vol. 72, No 4, pp. 439-442.
2. Litz J.T. in: *Encyclopedia of Chemical Technology*, Wallace, J.G. (Ed.), 3rd ed., John Wiley: New York, 1978, pp. 251-261.
3. Pignitter M., Somoza V. Critical Evaluation of Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils, *Journal of Food and Drug Analysis*, 2012, Vol. 20, No 4, pp. 772-777.
4. Dobarganes C., Marquez-Ruiz G. Oxidized fats in foods, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2003, Vol. 6., pp. 157-163.
5. Salimon J., Saliha N., Yousif E. Chemically modified biolubricant basestocks from epoxidized oleic acid: Improved low temperature properties and oxidative stability, *Journal of Saudi Chemical Society*, 2011, Vol. 15, pp. 195-201.
6. Gunstone D. The study of natural epoxy oils and epoxidized vegetable oils by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy, *JAOCS*, 1993, Vol. 70, No 11, pp.1139-1144.
7. Akintayo E.T. Ziegler T., Onipede A. Chromatographic and spectroscopic analysis of epoxidised canola oil, *Bull. Chem. Soc. Ethiop*, 2006, Vol. 20, pp. 75-81.
8. Campanella A., Fontanini C., Baltanás M.A. High yield epoxidation of fatty acid methyl esters with performic acid generated in situ // *Chemical Engineering Journal*, 2008, Vol. 144, pp. 466-475.
9. Kleiman R., Spencer G.F. Gas Chromatography-Mass Spectrometry of Methyl Esters of Unsaturated Oxygenated Fatty Acids, *JAOCS*, 1973, Vol. 50, pp. 31-38.
10. LaScala J., Wool R.P. Effect of FA Composition on Epoxidation Kinetics of TAG, *JAOCS*, 2002, Vol. 79, pp. 373-377.
11. Marmesat S., Velasco J., Dobarganes M.C. Quantitative determination of epoxy acids, keto acids and hydroxy acids formed in fats and oils at frying temperatures, *Journal of Chromatography A*, 2008, Vol. 1211, pp. 129-134.
12. Hasanov V.V., Ryzhova G.L., Dychko K.A. et al. Sostav zhirnyh kislot i steroidov rastitel'nyh masel, *Himija rastitel'nogo syr'ja*, 2006, No 3, pp. 27-31.
13. Falaleev A.V., Voronjuk I.V., Kruzhilin A.A. et al. GH-MS analiz N,N-dimetilaminopropilamidov zhir-nyh kislot rastitel'nyh masel, *Sorbcionnye i hromatograficheskie processy*, 2014, Vol. 14, No 3. pp. 494-501.
14. Plattner R.D., Gardner H.W. Mass Spectrometry of Isomeric Fatty Acid Hydroperoxides by Chemical Ionization via Direct Exposure Probe, *Lipids*, 1985, Vol. 20, No 2, pp. 126-131.
15. Mochida Y., Yokoyama Yu., Kawai T. et al. Liquid Ionization Mass Spectrometry of Methyl Hydroperoxyoleates and Their Related

Compounds, J. Mass Spectrom. Soc. Jpn, 1994, Vol. 42, No 3, pp. 207-215.

16. Sharma B.K., Doll K.M., Erhana S.Z. Oxidation, friction reducing, and low temperature properties of epoxy fatty acid methyl esters, Green Chem, 2007, Vol. 9, pp. 469-474.

17. Wilson R., Lyall K. Simultaneous Determination by GC-MS of Epoxy and Hydroxy FA as Their Methoxy Derivatives, Lipids, 2002, Vol. 37, No 9, pp. 917-924.

18. Newman J. W., Hammock B. D. Optimized thiol derivatizing reagent for the mass spectral analysis of disubstituted epoxy fatty acids, Journal of Chromatography A, 2001, Vol. 925, pp. 223-240.

19. Halarnkar P.P., Nourooz-Zadeh J., Kuwano E. et al. Formation of Cyclic Products from the Diepoxide of Long-Chain Fatty Esters by Cytosolic Epoxide Hydrolase, Archives of Biochemistry and Biophysics, 1992, Vol. 294, No 2, pp. 586-593.

Леденева Ирина Владимировна – к.х.н., старший научный сотрудник кафедры органической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Фалалеев Александр Владимирович – к.х.н., старший научный сотрудник Воронежского государственного университета, Воронеж

Картавец Павел Александрович - аспирант кафедры органической химии Воронежского государственного университета, Воронеж

Перелыгина Инна Эльгуджевна – аспирант кафедры органической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж,

Ляпун Денис Викторович – начальник бюро разработок инновационных продуктов обособленного подразделения пос. Малобыково ОАО «ЭФКО», Белгородская область, Алексеевка

Ledenyova Irina V. – Ph. D., Senior Researcher, Organic Chemistry Department, Voronezh State University, Voronezh, e-mail: irairachem@yandex.ru

Falaleev Alexander V. - Ph. D., Senior Researcher, Voronezh State University, Voronezh

Kartavtsev Pavel A. – Ph. D. student, Organic Chemistry Department, Voronezh State University, Voronezh

Perelygina Inna E. – Ph. D. student, Organic Chemistry Department, Voronezh State University, Voronezh

Lyapun Denis V. – chief of the Bureau of the development of innovation products of the separate subdivision Malobykovo village «EFKO», Belgorod's region, Alexeevka