

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**TRANSTAUKSKĀBJU IZPLATĪBA
LATVIJAS PRODUKTOS**

MAGISTRA DARBS

Autore: **Alena Kulesha**

Studenta apliecības Nr.: ak11176

Darba vadītājs: **Asoc.prof. Vadims Bartkevičs**

RĪGA

2018

ANOTĀCIJA

Transtaukskābju izplatība Latvijas produktos. Kulesha A., zinātniskais vadītājs Dr.chem.Vadims Bartkevičs, Kursa darbs, 72 lappuses, 53 attēli, 100 literatūras avoti. Latviešu valodā.

Transtaukskābes veidojas daļējas hidrogenēšanas procesā, kurā šķidrās augu eļļas pārvēršas margarīnā un augu kulinārajos taukos. Zinātniekiem visā pasaulē rodas bažas, ka šis process var izraisīt nelabvēlīgas sekas, jo dabīgas neizstājamās taukskābes pārveidojas, bet jaunie mākslīgie izomēri struktūras ziņā līdzinās piesātinātiem taukiem bez būtiskas sākotnējo savienojumu metaboliskās aktivitātes. Šī darba mērķis ir izpētīt taukskābju saturu saldās mīklas izstrādājumos, īpašu uzmanību pievēršot transtaukskābēm Latvijas tirgū. Produktu taukskābju saturs tika analizēts, izmantojot gāzes hromatogrāfiju (GH).

Atslēgvārdi: Transtaukskābes, Gāzes hromatogrāfija, smalkmaizīte, taukskābes.

ABSTRACT

Distribution of trans fatty acids in Latvian products. Kulesha A., Scientific advisor Dr.chem.Vadims Bartkevics, Course paper, 72 pages, 53 pictures, 100 sources of literature. On Latvian language.

Trans fatty acids are formed during the process of partial hydrogenation in which liquid vegetable oils are converted to margarine. Concerns have existed that this process may have adverse consequences because natural essential fatty acids are destroyed and the new artificial isomers are structurally similar to saturated fats, lack the essential metabolic activity of the parent compounds, and inhibit the enzymatic desaturation of linoleic and linolenic acid. The aim of this study was to investigate fatty acid composition in sweet bakery products, with emphasis on trans fatty acids, on the Latvian markets. Products- were analysed for fatty acid composition by using Gas Chromatography (GC).

Keywords: Trans fatty acids, Gas Chromatography, bun, fatty.

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

GC - gāzes hromatogrāfija

Ag-TLC - Plānslāņa hromatogrāfija ar sudrabu

HPLC - Augsti efektīva šķidrums hromatogrāfija

GLC - Gāzu-šķidrums hromatogrāfija

GH-LJD - Gāzu hromatogrāfs ar liesmas jonizācijas detektoru

LDL - Low-density lipoprotein

HDL - High-density lipoprotein

CLA - Konjugētās linolskābes preparāti

EPA - eikozapentaēnskābe

DHA - dokozaheksaēnskābe

IUPAC - Sistemātiska nomenklatūra

FDA - Pārtikas un zāļu pārvalde

PVO - Pasaules veselības organizācija

ACS - Augstas tīrības pakāpes

LH - nepiesātinātā lipīda

MFDS - Pārtikas un zāļu pārvaldes regulējums(MINISTRY OF FOOD AND DRUG SAFETY)

FAME - Saliktie taukskābju ēteri

GH –gāzu hromatogrāfija

DMOX-4,4-dimetiloksazolīns

IEVADS	5-6
1. LITERATŪRAS APSKATS	7-8
1.1. Transtaukskābju raksturojums.....	9-10
1.2. Taukskābes	10-14
1.3. Transtaukskābes	14
1.3.1. Dabiskas izcelsmes transtaukskābes	14-15
1.3.2. Saražotās transtaukskābes	16-17
1.3.3. Hidrogenēšanas	17-18
1.3.4. Taukskābju nosaukumi (nomenklatūra).....	19-21
1.3.5. Transtaukskābju marķēšana	21
1.3.6. Alternatīva pieeja transtaukskābēm	21-22
1.3.7. Hidrogenēšanas procesa modifikācija.....	22
1.3.8. Pāresterifikācijas izmantošana	22
1.3.9. Frakciju ar augstu cietu vielu no dabīgajām eļļām saturu izmantošana	22-23
1.3.10. Eļļu ar uzlabotiem raksturojumiem izmantošana	23
1.4. Analītiskās metodes cis- un transtaukskābju noteikšanai.....	24
1.4.1. Infrasarkanā spektroskopija.....	24
1.4.2. Plānslāņa hromatogrāfija ar sudrabu (Ag-TLC).....	24-25
1.4.3. Augsti efektīva šķidrums hromatogrāfija (HPLC).....	25
1.4.4. Gāzu hromatogrāfija (GH)	25-26
1.4.5. Lipīdu ekstrakcija.....	26-27
1.4.6. Taukskābju C18:1 cis- un transizomēru analīze, apvienojot 4,4-dimetiloksazolīna un metilēteru atvasinājumu	27-30
1.4.7. Taukskābju profila noteikšana, izmantojot gāzes hromatogrāfiju apvienojumā ar liesmas jonizācijas detektoru.....	30-31
1.4.8. Paraugu apstrāde un lipīdu analīze.....	31-32
1.5. Gāzes hromatogrāfija, kolonnu izvēle.....	32-33
1.5.1. Eluēšanas profili.....	33-35
1.5.2. Hromatogrāfiskā pārklāšana, augsti efektīvas šķidrums hromatogrāfijas frakcijas	36-
1.5.3. Kolonnas efektivitāte.....	37-38

1.5.4. Apkopotie rezultāti.....	38-39
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	40
2.1. Analīzes princips un pielietošanas sfēra.....	40
2.2. Reāģenti.....	40
2.3. Šķīdumu pagatavošana	40
2.4. Standartvielas un standartšķīdumi.....	40
2.5. Aparatūra un trauki.....	40
2.6. GH-LJD	41
2.7. Analīzes veikšana	41
2.8. GH-LJD analīze.....	41-42
2.9. Paraugi.....	42
3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA	43-61
SECINĀJUMI	62
LITERATŪRAS SARAKSTS	63-71
DOKUMENTĀRĀ LAPA	72

IEVADS

Hidrogenētus augu taukus pārtikā izmanto jau vairāk nekā simts gadu. Vēsturiski tieši hidrogenēti augu tauki tika saukti par margarīnu. Hidrogenēti augu tauki jeb hidrogenēta augu eļļa ir mākslīgas izcelsmes taukvielas, ko iegūst ķīmiski apstrādājot eļļas, lai iegūtu cietos taukus, ko izmanto daudzu pārtikas produktu ražošanā. Daļa cis- saišu var pārgrupēties par trans- -saitēm, veidojot tā saucamās transtaukskābes. Tā var notikt, bet, izmantojot jaunākās tehnoloģijas ar moderniem katalizatoriem, var panākt, ka transtaukskābes praktiski neveidojas. Mākslīgi iegūtās, hidrogenētās augu eļļas vairs nesauc par margarīnu, mūsdienās tiek lietots jēdziens – hidrogenēti augu tauki. Margarīnu ražo pēc vairākām tehnoloģijām. Transtaukskābes var rasties, bet var arī nerasties, tikai tajos margarīnos, ko iegūst hidrogenējot augu taukus (eļļas). Uz pārtikas produktu iepakojuma nav jānorāda transtaukskābju saturs un to var darīt brīvprātīgi. Hidrogenētos augu taukos (eļļās) transtaukskābju daudzveidība ir praktiski neierobežota, un tieši tāpēc nosaka šo savienojumu summu, nevis identificē atsevišķas taukskābes. Transtaukskābju pieļaujamo saturu vajadzētu noteikt tikai produkta izejvielā – hidrogenētā augu eļļā. Latvijā likumdošanas iestādes izstrādās nacionālu politiku šajā jautājumā, nosakot, ka taukskābju minimālais saturs nedrīkst pārsniegt kaut kādu noteiktu līmeni. No vienas puses – ir zināms, ka trans taukskābes ir kaitīgas; ir noskaidroti potenciālie produkti, kuros visbiežāk ir atrastas transtaukskābes: margarīns, konditorejas izstrādājumi (cepumi, tortes, smalkmaizītes, vafeles u.c.), konfektes, šokolāde, popkorns un frī kartupeļi ātrās apkalpošanas ēstuvēs. No otras puses – nebūtu korekti ierobežot šo produktu patēriņu. Piemēram, margarīnu, jo tas var saturēt un tikpat labi tas var nesaturēt transtaukskābes.

Darba mērķis: Iegūt praktiskās iemaņas transtaukskābes daudzuma noteikšanā konditorejas produktos un kartupelās frī, un pēc pētījuma rezultātiem sniegt izstrādājumu produktu kvalitātes un nekaitīguma novērtējumu.

Pētījuma uzdevumi:

1. Sagatavot literatūras apskatu par transtaukskābes un taukskābes īpašībām.
2. Noteikt transtaukskābes esamību pārtikas produkcijā, pielietojot gāzu hromatogrāfijas metodi.

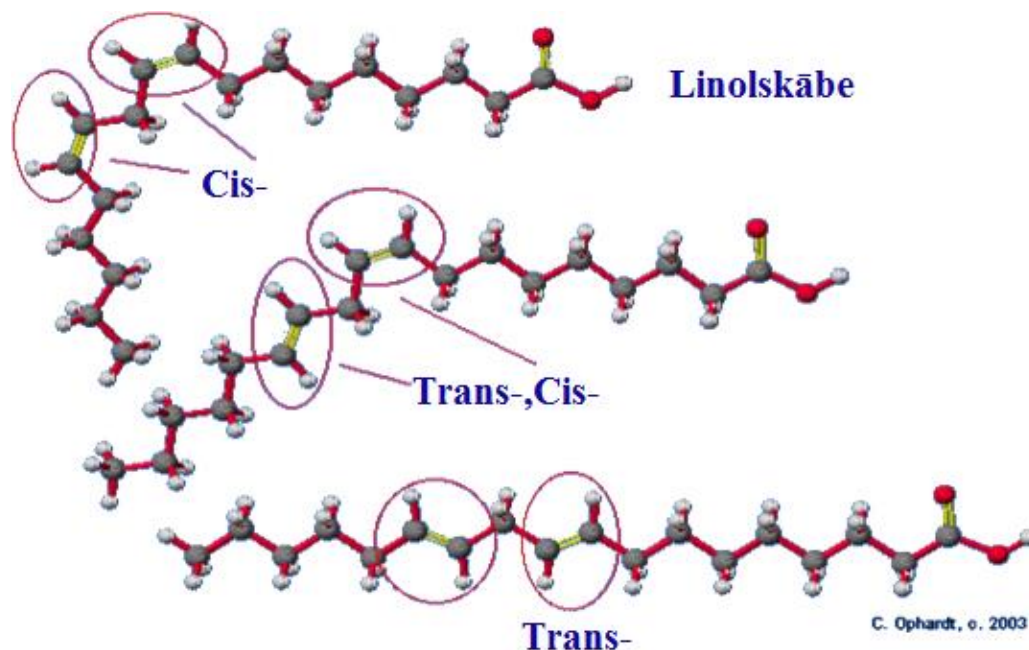
Darbs izpildīts LU Ķīmijas fakultātē. Kulināri pagatavotas maizītes atlasītas no dažādiem Rīgas veikaliem. GC-LJD analīzes tika veiktas izmantots Institutā „BIOR”.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Transtaukskābju raksturojums

Transtaukskābes veidojas no augu eļļām hidrogenēšanas ceļā: augstā temperatūrā šķidrās augu eļļas piesātina ar ūdeņradi, rezultātā veidojas taukskābju transizomēri, vienkāršāk, runājot, nepiesātinātās taukskābes ar izmainītu molekulāro struktūru. Pēc mākslīgas augu eļļas apstrādes aptuveni 30% tās molekulu kļūst par transizomēriem. Nokļūstot organismā, „izkropļotās” molekulas izspiež no šūnu membrānām veselīgās taukskābes, bloķē fermentus, traucējot pilnvērtīgu šūnu barošanu un atbrīvošanos no metabolisma produktiem. Rezultātā tiek traucēti vielmaiņas procesi šūnās, bet tas agri vai vēlu izraisa nopietnas patoloģijas.[1]

Svarīgākā veselības problēma hidrogenēšanas procesā ir taukskābju ražošana. Transtaukskābes ir hidrogenēšanas ar katalizatoru procesa blakus reakcijas rezultāts. Tas ir nepiesātināto tauku transformācijas rezultāts, kurš parasti tiek konstatēts kā cis-izomērs, kurš pārvēršas nepiesātināto tauku trans-izomērā (skat. *1.1.att.*). Izomēri ir molekulas, kurām ir viena un tā pati molekulārā formula, bet kuras ir dažādi saistītas savā starpā.[2] Fokussējoties uz divkāršiem saistītiem oglekļa atomiem sp^2 , cis-izomēram ir ūdeņraži vienā un tajā pašā pusē. Pateicoties hidrogenēšanas procesa pievienotajai enerģijai, tiek sasniegta aktivācijas enerģija, lai nepiesātināto tauku cis-izomērus pārvērstu nepiesātināto tauku trans-izomērā. Efekts ir tajā, ka viens no ūdeņraža atomiem atrodas pretējā viena no oglekļa atoma pusē. Tas izraisa divkāršu saistītu oglekļa atomu trans-konfigurāciju.[3]



1.1.att. Cis-Trans- transtaukskābe [C.Ophardt, o. 2003]

Lai gan transtaukskābes ir ķīmiski „mononepiesātinātas” vai „polinepiesātinātas”, tās tiek uzskatītas par tik atšķirīgām no cis-mononepiesātinātām vai polinepiesātinātām taukskābēm, ka tās nevar apzīmēt kā nepiesātinātas ar marķēšanas mērķi. Vairākums transtaukskābju (lai gan ķīmiski vēl joprojām nepiesātinātu), kas tiek iegūtas daļējas hidrogenēšanas procesā, tagad tiek klasificētas vienā kategorijā ar piesātinātajiem taukiem.[4]

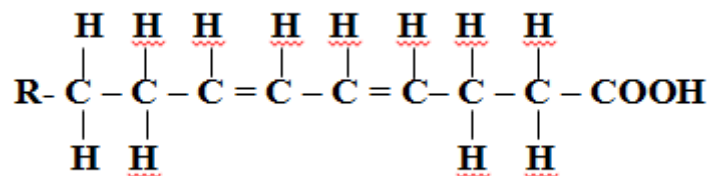
Svarīgākais trūkums ir tas, ka transtaukskābēm ir tendence paaugstināt „sliktā” LDL holesterīna saturu un pazemināt „labā” HDL holesterīna saturu, lai gan ne tik spēcīgi, kā piesātinātajiem taukiem. Transtaukskābus satur margarīns, mīklas izstrādājumi, tādi kā virtuļi un izstrādājumi no rauga kārtainās mīklas, grilēti produkti, tādi kā vista un kartupeļi frī, čipsu uzkodas un konditorejas tauki.[5]

1.2. Taukskābes

Taukskābes ir apjomīga un daudzveidīga dabā sastopamu organisko savienojumu grupa, kas šķīst napolāros organiskajos šķīdinātājos (piemēram, hloroforms, ēters, acetons un benzols) un parasti nešķīst ūdenī. Taukskābes, kurās oglekļa atomu skaits nepārsniedz sešus, tiek uzskatītas par īso ķēžu taukskābēm.[6] Tās labāk šķīst ūdenī, nekā taukskābes ar garāku ķēdi, tāpēc tiek vieglāk uzsūktas. Turklāt, tās neuzvedas fizioloģiski, kā taukskābes ar garāku ķēdi, jo tās tiek vieglāk uzņemtas un uzsūktas

zarnu traktā. Bioķīmiski tās ir ciešāk saistītas ar oglekļahidrātiem, nekā ar taukiem. Taukskābes, kurās ir 8-10 oglekļa atomi, sauc par vidējo ķēžu taukskābēm.[7] Attiecībā uz īso ķēžu taukskābēm pētījumi parādīja, ka to vidējo ķēžu taukskābju lietošana var palielināt enerģijas patēriņu ātrās sagremošanas dēļ. Turklāt, zināms, ka tās atvieglo svara kontroli, iekļaujot uzturā kā garo ķēžu taukskābju aizstājēju. [8] Taukskābes, kurās ir 14 un vairāk oglekļa atomi, tiek uzskatītas par garo ķēžu taukskābēm.

Vairākumu lipīdu veido taukskābes, kuras ir nepieciešamas normālai šūnu funkcionēšanai un veselības saglabāšanai. Tās sastāv no metilēna grupu ķēdes ar karboksilu funkcionālo grupu vienā galā. Metilēna grupu ķēde ir tauku daļa, bet karboksilu grupa – skābe. Taukskābes var būt piesātinātas: visiem oglekļa atomiem ir maksimāls ūdeņraža atomu skaits un struktūra ar taisnu ķēdi. Piesātinātās taukskābes taisnās molekulu struktūras dēļ tās var cieši pakot kopā, pastiprinot blīvumu un cietību istabas temperatūrā. To nav iespējams mainīt ar hidrogenēšanu. Tās var būt arī nepiesātinātas, ar vienu vai vairākām divkārsām saitēm, kas savieno dažus oglekļa atomus. Nepiesātinātās taukskābēs daži oglekļa atomi izlaiž dažus savus ūdeņraža atomus un, tādējādi, veido divkārsu saiti starp šiem oglekļa atomiem. Kad ķēdē veidojas divkārsu saite vai saites, šajās vietās veidojas izliekums vai lūzums. Jo lielāks divkārsu saišu skaits ir nepiesātinātajā taukskābē, jo izliektāka būs molekula. Šo izliekumu vai lūzumu dēļ molekulas nevar viegli salikt un palikt šķīdros istabas temperatūrā. Pārsvarā tās ir eļļas. Attēlā 1.2. parādītas taukskābju ar dažādu piesātinātības pakāpi ģeometriskās struktūras. Eļļas ar augstu piesātināto taukskābju saturu parasti istabas temperatūrās ir cietas. Citas eļļas ar augstu mononepiesātināto taukskābju saturu (ar vienu divkārsu saiti), tādas kā olīveļļa, sacietēs ledusskapja temperatūrā. Polinepiesātinātās taukskābes, kurām ir divas vai vairākas divkārsās saites, sekojoši, vairāk izliekumu fiziskajā struktūrā, paliek šķīdros pat ledusskapja temperatūrā.



1.4.att. Konjugētas polinepiesātinātas taukskābes struktūra.

Zināmākās konjugētās polinepiesātinātās taukskābes ir konjugētās linolskābes (CLA). CLA ir vairāki stāvokļa un ģeometriskie linolskābes izomēri (cis-9, cis-12, 18:2). Pateicoties linolskābes bakteriālajai hidrogenēšana dzīvnieka kuņģī dažas no divkāršajām saitēm pāriet trans-stāvoklī, bet dažas pat tiek pārvietotas uz dažādām oglekļa ķēdītes pozīcijām. Taču atšķirīgākā reakcija ir konjugētu divkāršu saišu veidošana. Tika identificēti vairāki cis-cis, cis-trans, trans-cis un trans-trans izomēri ar divkāršām saitēm dažādās oglekļa ķēdītes pozīcijās. Izomērs cis-9, trans-11 ir izplatītākais dabiskais izomērs, kas sastopams atgremotāju taukos (vairāk kā 90% no kopējā CLA skaita).[11] Šie trans-konjugēto polinepiesātināto taukskābju izomēri netiek klasificēti kā transtaukskābes ASV pārtikas un zāļu pārvaldē.[12]

Cita dabisku taukskābju grupa ir garo ķēžu nepiesātinātās taukskābes omega-3 un omega-6. Tās ir nepieciešamas cilvēka organismam, bet organisms nespēj tās sintezēt patstāvīgi, tāpēc tās tiek sauktas par neaizstājamajām taukskābēm. Neaizstājamās taukskābes ir ļoti svarīgas, piemēram, mūsu imūnsistēmai. Alfa-linolskābe (18:3, n-3) ir sākotnējā omega-3 sērijas taukskābe. Tā ir sastopama tumši zaļos dārzeņos un sojas eļļā, organismā pārvēršas par eikozapentaēnskābi (EPA) un dokozaheksaēnskābi (DHA). Jūras aļģes un planktons arī sintezē EPA un DHA, tāpēc augsta šo skābju koncentrācija atrodama to zivju eļļā, kas barojas ar aļģēm. EPA un DHA piemīt arī vairākas farmakoloģiskās īpašības, tādas kā iekaisuma palēnināšana, lipoproteīnu metabolisma mainīšana, arteriosklerozes palēnināšana, arteriālā spiediena pazemināšana un audzēju augšanas palēnināšana.[13] Klīniskajos pētījumos pierādīts, ka zivju eļļas piedevas, kas satur EPA un DHA zināmi atvieglo reimatoīdo artrītu, kolītu, psoriāzi un Krona slimību.[14]

Linolskābe (18:2, n-6) ir sākotnējā omega-6 sērijas taukskābe un ir svarīgākā taukskābe saulespuķu un kukurūzas eļļā. Organismā tā pārvēršas omega-6 taukskābēs, pārsvarā, arahidonskābē (20:4, n-6). Arahidonskābi satur arī olas dzeltenums un subprodukti. Arahidonskābe var tikt pārvērsta eikozanoīdos, tādos kā prostaglandīni, tromboksāni un leukotriēni, kas piedalās vairāku šūnu darbības regulācijā. Vairākums

cilvēku, kas izvēlas rietumu virtuvi, kura ietver mīkstos margarīnus un augu eļļas, tādas kā saulespuķu, kukurūzas un zemesriekstu eļļu uzturā saņem daudz omega-6 taukskābju.

Viens no svarīgākajiem šī pētījuma uzdevumiem ir noteikt un skaitliski aprēķināt citu taukskābju grupu, konkrēti, trans-mononepiesātinātās taukskābes.[15,16]

1.3. Transtaukskābes

1.3.1.Dabiskas izcelsmes transtaukskābes

Vairākumam nepiesātināto transtaukskābju dabā ir divkārsās saites cis-konfigurācijā.[16] Dažas baktērijas var šīs cis-nepiesātinātās taukskābes pārvērst nepiesātinātās taukskābēs ar divkārsām saitēm trans-konfigurācijā. Šajā konfigurācijā daži ūdeņraža atomi atrodas pretējā divsaišu oglekļa atomu pusē. Tas notiek atgremotāju vidū (govis, aitas un kazas): bakteriālā fermentācija priekšējā kuņģa sadaļā izraisa trans-nepiesātināto taukskābju veidošanos. Šie izomēri tiek konstatēti atgremotāju taukos, govju pienā, tā produktos, tādos kā sviests. [17,18,19] Transtaukskābēm, kuras dabīgi veidojas liellopu gaļā un piena produktos, ir ļoti dažādas fizioloģiskās un bioloģiskās funkcijas salīdzinājumā ar mākslīgām transtaukskābēm, kuras satur apstrādāti pārtikas produkti.[20] Pētījuma *Nurses Health* dati liecina par to, ka, kamēr mākslīgās transtaukskābes ceļ koronārās nepietiekamības risku, dzīvnieku izcelsmes transtaukskābes to nedara.[21]

Dabīgas izcelsmes transtaukskābes tika konstatētas arī dažādu aerobu baktēriju membrānu lipīdos. Baktērijas, tād kā *Pseudomonas putida*, ir spējīgas sintezēt šos savienojumus. Tie tiek sintezēti ar tiešu cis-divkārsās saites izomerāciju bez pozīcijas novirzēm. Šī pārvēršana maina membrānas mainību atbildē uz apkārtējās vides stimuliem.[22]

Lamberto et al. arī identificēja divas neparastas transtaukskābes jūras aļģēs, kuras tiek audzētas dabīgā jūras ūdenī. Tika identificēta trans-3, heksadekānskābe (trans-3, 16:1), kura, kā zināms, ietilpst augu fotosintēzes lipīdu komponentu sastāvā, un jaunu trans-3, tetradekānskābi (trans-3, 14:1).[23]

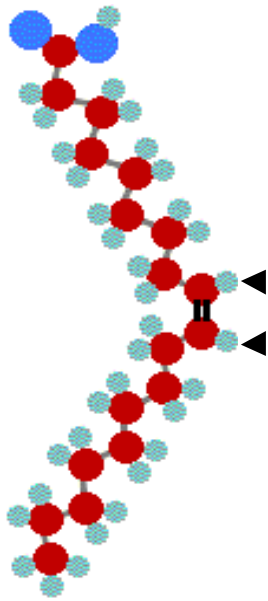
Zināmākā dabisko transpolinepiesātināto taukskābju grupa, acīmredzot, ir konjugētā linolskābe (CLA). CLA – tas ir vispārējs termins linolskābes stāvokļa un ģeometrisko izomēru sajaukumam, kurā divas divkārsās saites ir konjugētas. Piena

produkti ir bagāti ar CLA. Atšķirībā no nekonjugētām transpolinepiesātinātām taukskābēm, CLA ir atzīta par veselīgu.[24] Tika noteikts, ka tai ir gan antiaterogēnas,[25] gan antikancerogēnas īpašības.[26] Mikroorganismi atgremotāju kuņģī cis-9, cis-12, oktadekānskābi pārsvarā pārvērš izomēros cis-9, trans-11, oktadekānskābe un trans-10, cis-12, oktadekānskābe. Šie divi izomēri ir zināmākās trans-konjugētās polinepiesātinātās taukskābes.[27] Šīs trans-konjugētās nepiesātinātās taukskābes netiek klasificētas, līdzīgi nekonjugētiem trans-izomēriem, kuri veidojas daļēji hidrogenējot augu un zivju eļļas. Lai gan šie izomēri ietver trans-konfigurāciju, tās nav īstas transtaukskābes saskaņā ar ASV pārtikas un zāļu pārvaldes definējumu, kurš transtaukskābes definē kā „nepiesātinātas taukskābes, kuras satur nekonjugētas divkārsās saites trans-konfigurācijā”.[12]

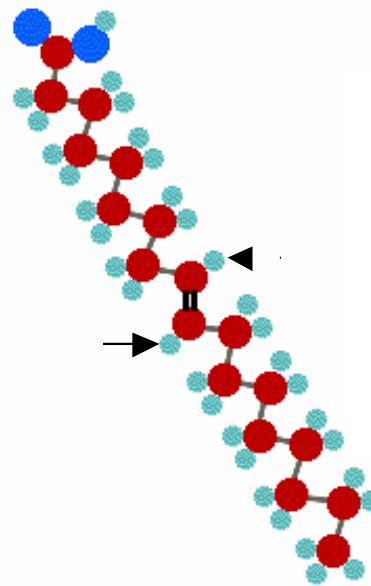
1.3.2. Saražotās transtaukskābes

Izņemot dažus gadījumus, kuri ir raksturoti iepriekšējā sadaļā, visas pārējās transtaukskābes ir mākslīgas. Tur, kur pastāv divkārsa saite taukskābju ķēdītē, pastāv iespēja izveidot gan stāvokļa, gan un/vai ģeometriskos izomērus. Daļējas hidrogenēšanas gadījumā divkārsā saite var mainīties no cis-pozīcijas līdz trans-pozīcijai (ģeometriskā izomerizācija) vai pāriet citā oglekļa ķēdītes pozīcijā (stāvokļa izomerizācija), abi izomerizācijas tipi var tikt realizēti vienā un tajā pašā molekulā.[28]

Piesātinātām taukskābēm ir oglekļa atomi, kas savienoti ar ordinārām saitēm, ķēde, kas ļauj rotēt apkārt saitēm. Dabiskas nepiesātinātās taukskābes satur noteiktas konfigurācijas divkārsās saites un tiek dēvētas par cis-nepiesātinātām taukskābēm. Divkārsa saite vai saites ierobežo rotāciju. Daļējas hidrogenēšanas ietekmē dažas no šīm cis-divkārsajām saitēm pārvēršas trans-izomērā. Tā kā divkārsā saite ierobežo rotāciju, nepiesātinātā taukskābe var eksistēt divās formās. Viena no tām ir cis-forma, kurai ir divas oglekļa ķēdes daļas, izliektas viena pret otru, ar divkārsās saites udeņradi vienā un tajā pašā ķēdes pusē (apzīmēta ar divām bultiņām). Cita – transforma, kurai ir divas ķēdes daļas, gandrīz lineāras, ar diviem divkārsās saites udeņraža atomiem pretējās ķēdes pusēs (apzīmēts ar divām bultiņām)(skat.att. 1.5.)



***Cis*-nepiesātinātā taukskābe**



***Trans*-nepiesātinātā taukskābe**

1.5.att. Cis- un trans-mononepiesātināto taukskābju ģeometriskā struktūra

Izliektā *cis*-nepiesātināto taukskābju konfigurācija ir ūdeņraža atomu polarizācijas rezultāts: tie atstumj viens otru, veidojot šo izliekto ķēdīti. Šīs izliektās konfigurācijas neļauj blīvi iepakot taukskābju molekulas. Tas nozīmē, ka saites starp dažādām *cis*-molekulām ir vājākas, kā rezultātā tauki ir vai nu puscieti ar zemu kušanas temperatūru, vai eļļa. Ne pārāk piesātinātas augu eļļas nav piemērotas lietošanai dažādās jomās, atšķirībā no margarīniem, kulinārijas un konditorejas taukiem. Nepiesātinātās eļļas tiek cietinātas, izmantot katalītisko hidrogenēšanu, kuras laikā dabīgās *cis*-nepiesātinātās skābes daļēji pārvēršas mākslīgos *trans*-izomēros. Atkarībā no izmantotās nepiesātinātās eļļas un temperatūras, spiediena un hidrogenēšanas ilguma, var veidoties dažādi *trans*-izomēri. Hidrogenēšanas laikā ar nepiesātināto eļļu var notikt vairākas lietas. Visas divkāršās saites var tikt likvidētas, veidojoties piesātinātām taukskābēm, var likvidēt tikai dažas no divkāršajām saitēm, lai polinepiesātinātās taukskābes aizstātu ar mononepiesātinātām taukskābēm. Dažas no divkāršajām saitēm var palikt, taču mainīt savu stāvokli oglekļa ķēdītē. Dažas *cis*-divkāršās saites var aizstāt *trans*-pozīcija, lai iegūtu vairākus ģeometriskos vai stāvokļa izomērus.[29]

Transtaukskābes labi absorbējas un iekļaujas audu lipīdos un tiek pārversti uz citām taukskābēm, kuras jāsadala holesterīna ēterā, triacilglicerīnā un lipoproteīnu fosfolipīdu frakcijās.[30] Transtaukskābju lietošana uzturā paaugstina zema blīvuma lipoproteīna saturu (LDL) līdz līmenim, kas ir identisks piesātinātām taukskābēm, bet

pazemina arī augsta blīvuma lipoproteīnu saturu (HDL). Tāpēc transtaukskābes tiek uzskatītas par kaitīgākām, nekā piesātinātās taukskābes.[31] Literatūra liecina par to, ka, nevis cis-stāvokļa izomēri, bet tieši mononepiesātināto taukskābju trans-izomēri izraisa negatīvu efektu.[32]

1.3.3. Hidrogenēšanas process

1900.gadu sākumā vienīgi tauki, kas bija pieejami komerciālai izmantošanai ir sviests un kausēti cūku tauki, kurus varēja viegli un lēti iegūt no cūku speķa. Kausētiem cūku taukiem ir labs uzglabāšanas laiks un lieliskas kulinārās īpašības, taču arī liels holesterīna un piesātināto taukskābju saturs. Pieaugot bažām par veselību pārmērīga piesātināto tauku satura lietošanas gadījumā, radās pieprasījums pēc alternatīva, nepiesātinātā avota. 1912.gadā franču ķīmiķis Pols Sabatjē saņēma Nobela prēmiju par hidrogenēšana procesa izstrādi. Šī metode ļauj eļļas attīrītājiem modificēt nepiesātinātās šķidrās eļļas, lai aizstātu kausētus cūku taukus.[33] Taču eksistē maldīgs priekšstats par to, ka daļēja hidrogenēšana visus nepiesātinātos taukus pārvērš piesātinātājos. Šis apgalvojums ir taisnīgs attiecībā uz pilnīgu hidrogenēšanu, bet daļējas hidrogenēšanas gadījumā tikai dažas nepiesātināto taukskābju molekulas pārvēršas piesātinātājās taukskābēs, kamēr liels dabīgu cis-nepiesātināto taukskābju procents pārvēršas trans-nepiesātināto taukskābju izomēros.

Pārtikas produktu ražotāji konstatēja, ka ūdeņradis, kas iziet caur nepiesātinātām eļļām, veido daļēji hidrogenētus taukus ar augstāku kušanas temperatūru un mazāku rūgtuma risku, salīdzinājumā ar oriģinālajām eļļām, tāpēc šādām eļļām ir ilgāks uzglabāšanas laiks. Šis process pārvērš dažas cis- vai izliektās formas iztaisnotā vai transformētā formā. Abu formu ķīmiskā struktūra ir vienāda. Tai ir vienāds oglekļa, skābekļa un ūdeņraža atomu skaits, un divkāršā saite var atrasties starp diviem vienādiem oglekļa atomiem, bet ar citu ģeometrisko konfigurāciju, un tā ir taisna, nevis izliekta molekula trans-konfigurācijas dēļ. Organisms atpazīst divkāršo saiti un mēģina to izmantot ar to pašu mērķi, kā cis-formu, bet trans-forma tiek salikta līdzīgi piesātinātājām taukskābēm, kas traucē elastīgo un poraino šūnu membrānu funkcionalitāti. [34]

Aplūkosim atšķirības starp pilnīgu hidrogenēšanu un daļēju hidrogenēšanu. Ja cis-9, cis-12, oktadekadienoīds (18:2), nepiesātinātā taukskābe ar divām divkāršajām saitēm cis stāvokļos un kušanas temperatūru -7°C tiek pilnībā hidratēta, divkāršās

saites izjuks, lai veidotu vienotas saites. Molekulai tiks pievienoti vēl četri ūdeņraža atomi. Pilnīga hidrogenēšanas procesa rezultātā izliekta molekula kļūst par taisnu ķēdi, bet eļļas kušanas punkts tiks mainīts uz 70°C, un struktūras konfigurācija būs līdzīga stearīnskābes (18:0) konfigurācijai. No praktisko mērķu viedokļa tā ir stearīnskābe. Taču, papildus tam, ka tas ir dārgi, ir nepieciešams liels enerģijas daudzums piesātinātas, dabā sastopamas taukskābes ražošanai. Atkarībā no kušanas temperatūras ir iespējams daļēji hidrogenēt sākotnējo eļļu, lai iegūtu nepiesātinātu eļļu ar noteiktu kušanas temperatūru. Piemēram, daļēja cis-9, cis-12, oktadekānskābju hidrogenēšanas var radīt vairākus dažādus ģeometriskos un stāvokļa izomērus; tikai viena divkārsā saite var salūst, lai dotu cis-9, oktadekānskābi (18:1). Tā vēl joprojām ir izliekta molekula, bet ne tā kā sākotnējā, un tās kušanas temperatūra pieaug līdz 16°C, vai var pārvērsties izomērā trans-9, oktadekānskābē ar kušanas temperatūru 44°C un taisnu ģeometrisko struktūru. Daļējas hidrogenēšanas procesā divkārsā saite var pat mainīt stāvokli oglekļa ķēdē, piemēram, pārvietoties stāvoklī 11, lai iegūtu cis-11, oktadekānskābi ar kušanas temperatūru 12°C, un vēl aizvien var būt izliekta struktūra vai trans-11, oktadekānskābe ar kušanas temperatūru 39°C, taču atkal ar taisnu struktūru. Visiem oktadekānskābes izomēriem ir vienāda molekulārā masa. Lai gan tā vēl joprojām ir nepiesātināta taukskābe, ir acīmredzams, ka tieši divkārsā saišu skaits, kā arī stāvokļa un ģeometriskā struktūra nosaka galaprodukta kušanas punktu. Augu eļļa ir pārāk mīksta, lai izveidotu margarīnu un kulināros taukus, bet piesātinātie tauki ir pārāk cieti. Nepieciešams starpposma produkts, tāpēc augu eļļas tiek pakļautas tikai daļējai hidrogenēšanai.

Daļējas hidrogenēšanas procesa laikā, kuru ir viegli kontrolēt, ūdeņraža atomi tiek pievienoti noteiktā secībā. Kad hidrogenēšanas process tiek pārtraukts, nepiesātinātās taukskābes atrodas dažādās hidrogenēšanas stadijās. Dažas molekulas ir pilnībā hidrogenētas (piesātinātas), bet citās dažas no divkārsājām saitēm tiek mainītas no dabiskās cis-konfigurācijas līdz nedabiskajai trans-konfigurācijai. Dažas no divkārsājām saitēm pat pāriet nedabiska stāvoklī oglekļa ķēdītē. Daļējas hidrogenēšanas procesa laikā izliektais cis-izomērs pārvēršas trans-izomērā, veidojot molekulu, kurai ir taisna konfigurācija, līdzīga piesātinātām taukskābēm. Taisnā trans-nepiesātināto taukskābju konfigurācija ļauj viegli iepakot molekulas, kā rezultātā vērojama augstāka kušanas temperatūra, ilgāks uzglabāšanas laiks un garšas stabilitāte. Šie stabilākie tauki tiek izmantoti margarīnos un kulinārijas taukos.

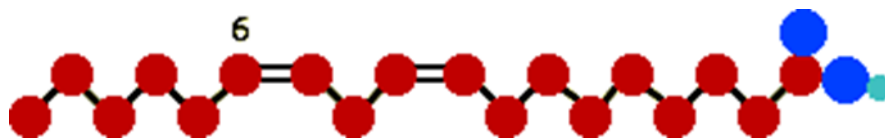
1.3.4. Taukskābju nosaukumi (nomenklatūra)

Taukskābes parasti iedala divās grupās: piesātinātās vai nepiesātinātās. Nepiesātinātās taukskābes var iedalīt mononepiesātinātās, ar vienu divkāršo saiti vai polinepiesātinātās ar divām un vairāk divkāršajām saitēm. Nepiesātinātās taukskābes iegūst savus sistemātiskos nosaukumus no sākotnējā nepiesātinātā ogļūdeņraža. Nepiesātinātā taukskābe, oktadekānskābe (18:1), iegūta no ogļūdeņraža oktadecēna. Divkāršo saišu skaits polinepiesātinātā taukskābju ķēdē tiek apzīmēts ar terminiem di-, tri-, tetra- utt., kas ietilpst nosaukumā, kā oktadekadiēnskābe (18:2), polinepiesātinātā taukskābe ar divām divkāršajām saitēm un oktadekatriēnskābe (18:3), polinepiesātinātā taukskābe ar trīs divkāršajām saitēm.[35] Skaitliskie apzīmējumi, kas tiek izmantoti taukskābēm, apzīmē oglekļa atomu skaitu, pēc kura seko divkāršo saišu skaits. Lai precīzi raksturotu taukskābes molekulas struktūru, jāzina oglekļa ķēdes garums (oglekļa atomu skaits), divkāršo saišu skaits, kā arī precīzs to izvietojums. Tas noteiks taukskābes molekulas bioloģisko reaktivitāti.

Saskaņā ar Starptautiskās teorētiskās un lietišķās ķīmijas apvienības (IUPAC) oficiālo nomenklatūru, ogleklis taukskābju ķēdē ir secīgi numurēts, turklāt, karboksila grupas ogleklis tiek uzskatīts par pirmo. Šo nomenklatūras formu izvēlas arī Starptautiskā bioķīmijas nomenklatūras komisija (International Commission on Biochemical Nomenclature). Pēc vienošanās, mazākais divu oglekļa atomu, kuriem ir divkārša saite, skaits identificē pirmo divkāršo saiti ķēdē. Piemēram, cis-9, oktadekānskābē (18:1) divkāršā saite atrodas starp 9. un 10. oglekļa atomu un ir cis-izomērs. Cita nomenklatūras forma apzīmē oktadekānskābi kā 18:1 (n-9), kas norāda uz to, ka divkāršā saite atrodas 9 oglekļa atomu attālumā no metilgrupas. Lai arī tas ir pretrunā principam par to, ka divkāršās saites stāvoklis jāaprēķina no karboksilā oglekļa ķēdes gala, tas ir ļoti ērti bioķīmiķiem, kas strādā ar lipīdiem, jo pēdējās divkāršās saites skaits paliek nemainīgs oglekļa atomu pievienošanas gadījumā vai tiek likvidēts metabolisma laikā. [36]

Polinepiesātinātā taukskābe, cis-9, cis-12, oktadekadiēnskābe (linolskābe) labāk skaidro nomenklatūru. Skaitot oglekļa atomus no karboksilgrupas, pirmā divkāršā saite atrodas starp 9. un 10. oglekļa atomu, bet otrā divkāršā saite atrodas starp 12. un 13. oglekļa atomu, bet ūdeņraža atomi uz oglekļa atomiem abās divkāršajās saitēs atrodas cis-pozīcijās. Skaitot oglekļa atomus no metilgrupas, pirmā

divkārsā saite atrodas starp 6. un 7. oglekļa atomu. Tāpēc linolskābe ir zināma arī kā 18:2 (n-6), omega-6 polinepiesātinātā taukskābe (Attēls 1.6.).



1.6.att. *Cis-9, cis-12 oktadekādiēnskābes, kas zināma arī kā 18:2 (n-6), ģeometriskā struktūra.*

Šī pētījuma mērķis ir noteikt dažādus cis- un transtaukskābju izomērus. Tāpēc piemērotāka ir IUPAC izvēlētā nomenklatūra. Ar šīs sistēmas palīdzību visus dažādos taukskābju stāvokļa un ģeometriskos izomērus var identificēt pēc nosaukuma.

Zemākesošajā sarakstā (Tabula 1.1.) ir atainoti vairāku taukskābju zinātniskie nosaukumi, saīsinājumi un triviālie nosaukumi, kas tiek izmantoti šajā darbā.

Tās ir tikai dažas no izplatītākajām taukskābēm. Daļējas hidrogenēšanas rezultātā dabiskās mononepiesātinātās un polinepiesātinātās taukskābes var veidot stāvokļa un ģeometriskos izomērus, katru ar savu nosaukumu.

1.1.tabula.

Dažu taukskābju zinātniskie nosaukumi, saīsinātie apzīmējumi un triviālie nosaukumi

Piesātinātās taukskābes		
Zinātniskais nosaukums	Saīsināts apzīmējums	Triviāls nosaukums
Dodekānskābe	12:0	Laurīnskābe
Tetradekānskābe	14:0	Miristīnskābe
Heksadekānskābe	16:0	Palmitīnskābe
Heptadekānskābe	17:0	
Oktadekānskābe	18:0	Stearīnskābe

Mononepiesātinātās taukskābes		
Zinātniskais nosaukums	Saīsināts apzīmējums	Triviālais nosaukums
<i>Cis-9</i> , tetradekānskābe	9-14:1	Miristoleīnskābe
<i>Cis-9</i> , heksadekānskābe	9-16:1	Palmitīnskābe
<i>Trans-9</i> , heksadekānskābe	9-16:1	Palmetoleīnskābe

<i>Cis</i> -6, oktadekānskābe	6-18:1	Petroselīnskābe
<i>Cis</i> -9, oktadekānskābe	9-18:1	Oleīnskābe
<i>Cis</i> -11, oktadekānskābe	1-18:1	Vakcēnskābe
<i>Trans</i> -6, oktadekānskābe	6-18:1	Trans-petroselīnskābe
<i>Trans</i> -9, oktadekānskābe	9-18:1	Elaidīnskābe
<i>Trans</i> -11, oktadekānskābe	11-18:1	Trans-vakcēnskābe

Polinepiesātinātās taukskābes		
Zinātniskais nosaukums	Saīsināts apzīmējums	Triviāls nosaukums
<i>Cis</i> -9, <i>Cis</i> -12, oktadekadiēnskābe	9c,12c-18:2	Linolskābe
<i>Cis</i> -9, <i>Trans</i> -11, oktadekadiēnskābe	9c,11t-18:2	Konjugēta linolskābe

1.3.5. Transtaukskābju marķēšana

ASV Pārtikas un zāļu kontroles pārvalde (FDA) pieprasa, lai tabulā „Uzturvērtība” tiktu norādīts transtaukskābju skaits vienā pārtikas porcijā, ja porcija satur 0,5g un vairāk transtaukskābju, tas tiek norādīts rindā zem piesātināto tauku saraksta. Ar pārtikas marķēšanas mērķi transtaukskābes tiek noteiktas kā visu nepiesātināto taukskābju, kuras satur vienu vai vairākas izolētas nekonjugētas divkārsās saites trans-ģeometriskā konfigurācijā, summu. Konjugētās taukskābes ar trans-divkārsšo saiti, tajā skaitā konjugētās linolskābes izomēri (zināma kā CLA) ir izslēgtas no šī transtaukskābju definējuma. Transtaukskābēm nav diennakts normas. Tā vietā Medicīnas Institūts (Institute of Medicine) iesaka, lai transtaukskābju lietošana uzturā būtu iespējami tuvāka nullei. Pasaules veselības organizācija (PVO) iesaka pasaules valstu valdībām pakāpeniski atteikties no daļēji hidrogenētām eļļām, ja vienreizēja tauku pārstrāde neizraisa būtisku to samazināšanos.[37]

1.3.6. Alternatīva pieeja transtaukskābiem

Pieaugot patērētāju informētībai par transtaukskābju sekām veselībai, valsts institūcijas ierobežoja vai aizliedza to izmantošanu restorānos un sabiedriskās ēdināšanas iestādēs. Pārtikas produktu ražotāji pārsvarā izmanto vai izstrādā četrus tehnoloģiskos variantus, lai mazinātu vai likvidētu TFA savos produktos. Tie ir sekojoši:

1.3.7. Hidrogenēšanas procesa modifikācija

Hidrogenēšanas, tas ir dažu divkārsu saišu piesātināšana un citu pārveidošana trans-konfigurācijā ir svarīgākā metode, lai nodrošinātu kulinārijas tauku noturīgumu un plastiskumu, kas ļauj iegūt cietus un puscietus taukus. Hidrogenēšanas apstākļu izmaiņas (piemēram, spiediens, temperatūra un katalizators) ietekmē iegūtās eļļas taukskābju saturu, ieskaitot TFA un tāda īpašības, kā kušanas temperatūra un cieto tauku saturs eļļā. Var izveidot ekvivalentus taukus ar zemu transtaukskābju saturu, palielinot hidrogenēšanas pakāpi, kas pazemina TFA līmeni, bet paaugstina piesātināto taukskābju līmeni. Hidrogenēšanas procesa modifikāciju var izmantot, lai iegūtu kulinārijas taukus cepšanai ar zemu transtaukskābju saturu. Kulinārijas taukiem cepšanai ar zemu vai nulles transtaukskābju saturu var būt paaugstināts stearīnskābes līmenis, α -linolskābes, linolskābes un oleīnskābes hidrogenēšanas rezultātā, kā arī būtisks palmitīnskābes līmenis funkcionalitātes nodrošināšanai.[38]

1.3.8. Pāresterifikācijas izmantošana

Pāresterifikācijas process maina taukskābju izvietojumu ķīmiski, vai fermentatīvi triglicerīdos un starp tiem, tāpēc taukskābju sadalījums mainās, bet to sastāvs paliek tāds pats. Pāresterifikācija maina kušanas un tauku kristalizācijas uzvedību, tādējādi ražojot taukus ar vēlamajām transtaukskābju fiziskajām īpašībām, bet bez TFA. Šis process tiek aktīvi izmantots ražojot sviestus, margarīnu, kulinārijas taukus bez transtaukskābiem vai ar zemu transtaukskābju saturu. Vairāki pētījumi ar cilvēku dalību neuzrādīja būtisku pāresterificētu tauku ietekmi uz asins lipīdu parametriem.[39]

1.3.9. Frakciju ar augstu cietu vielu no dabīgajām eļļām saturu izmantošana

Frakcijas ar augstu cieto vielu, kas iegūtas no dabīgajām eļļām, konkrēti, kokosa, palmu eļļas, saturu nav jaunas pārtikas rūpniecībā un jau vairāku gadu garumā ir funkcionālo sastāvdaļu saturā. Ja tauki kūst un lēnām atdzesējas līdz temperatūrai, kas ir zemāka par kušanas punktu, triglicerīdi ar augstāku kušanas temperatūru, nekā atslāpēšanas temperatūra, beigās veido kristālisku materiālu, kuru var samērā viegli izlaist caur centrifūgu vai filtrēt no šķidrās daļas. Daudzas komerciāli pieejamas frakcijas ienāk no palmu un palmu kodolu eļļām. Tās var izmantot kā atsevišķas frakcijas vai apvienojumā ar citām frakcijām, lai apmierinātu konkrētas vajadzības.[40]

1.3.10. Eļļu ar uzlabotiem raksturojumiem izmantošana

Eļļas ar uzlabotiem raksturojumiem parasti tiek iedalītas trīs kategorijās: eļļas ar augstu oleīnskābes saturu, tādas kā saulespuķu un kanola eļļa ar augstu oleīnskābes saturu, eļļas ar vidēju oleīnskābes saturu, tādas kā saulespuķu un sojas eļļa ar vidēju oleīnskābes saturu, eļļas ar zemu linolskābes saturu, tādas kā kanola un sojas eļļa ar zemu linolskābes saturu. (Termins „ar zemu linolskābes saturu” parasti attiecināms uz eļļu, kas satur aptuveni 1-3% α -linolskābes. Sojas eļļa parasti satur aptuveni 7%, bet kanola eļļa – aptuveni 10% linolskābes.) Šos eļļu tipus iegūst tradicionālas augu selekcijas ceļā vai izmantojot biotehnoloģiskas metodes. Visām šīm eļļām ar uzlabotiem raksturojumiem ir laba oksidācijas stabilitāte, kas padara tās derīgas cepšanai, pievienošanai produktiem un pat izmantošanai mīklas izstrādājumos. Šīs modifikācijas metodes ļauj minimizēt un kontrolēt transtauku saturu eļļas sajaukumos un var izmantot, lai veiksmīgi izstrādātu cietus taukus (grūti kūstošus, nefrakcionētus taukus), kas ir brīvi no transtaukiem. Taču šo metožu apvienošana izraisa vēl lielāku cieto tauku dažādību ar vēl plašāku fizisko īpašību spektru, tādu kā cieto tauku fāzes uzvedība un kušanas temperatūra.[41]

1.4. Analītiskās metodes procedūras cis- un transtaukskābju noteikšanai

1.4.1. Infrasarkanā spektroskopija

Infrasarkanā spektroskopija ir metode, kura pēdējo desmitgažu laikā plaši tiek izmantota, lai noteiktu kopējo transtaukskābju skaitu pārtikas paraugos. Transetilēna saites uzrāda absorbciju infrasarkanajā spektrā 967 cm^{-1} . Šī metode ir ātra un viegla rutīnas analīzei, taču ir ne pārāk droša un jutīga, ja kopējais transtaukskābju saturs ir zemāks par 5%. IS-spektroskopija neatšķir individuālus transtaukskābju izomērus vai konstatē stāvokļa izomērus.[42] Vēl jo vairāk, rezultāti, kas tiek iegūti, izmantojot šo metodi, ir augstāki, dažreiz vairāk kā divkārt pārsniedz rezultātus, kas tiek iegūti, izmantojot gāzu hromatogrāfiju (GH). Šīs atšķirības var skaidrot vairāki iemesli. Vairākums triacilglicerīnu tiek aptverti infrasarkanajā spektrā tajā pašā viļņa garumā, kā trans-izomēri, kas izraisa acīmredzamu transtaukskābes līmeņa rādītāju pieaugumu (Deman et al., 1983). IS-spektroskopija mēra arī transformētu transtaukskābju izomērus, kuri netiek uzskatīti par īstām transtaukskābēm.[43] IS-spektroskopijas ierobežojumi transtaukskābju satura noteikšanā bija precizitātes trūkums, īpaši zema transtaukskābju izomēru satura gadījumā, un neiespējamība atšķirt dažādus stāvokļa un ģeometriskos izomērus.[44] Furjē infrasarkanās spektroskopijas parādīšanās (FTIR) un datorizācijas izmantošana spektrālajos aprēķinos ļāva celt šīs metodes efektivitāti. Diemžēl, metode vēl joprojām uzrādīja augstākus rezultātus, nekā GH. Turklāt, mērot eļļas ar zemu transtaukskābju saturu, bija vērojamas lielas variācijas, kā tas parasti gadās gadījumos ar daļēji hidratētām eļļām.[43]

1.4.2. Plānslāņa hromatogrāfija ar sudrabu (Ag-TLC)

Ģeometriskā izomēru sadalīšana, izmantojot Ag-TLC ir balstīta uz trans-izomēru īpašību, kuri veido nestabilus savienojumus reakcijā ar sudraba sāļiem. Šie savienojumi atšķiras no tiem, kuri tiek veidoti ar cis-izomēriem.[45] Vairākumā gadījumu plānslāņa plāksnes tiek iegremdētas 5-20% sudraba nitrāta šķīdumā, tad tiek žāvētas un aktivizētas. Tad taukskābes paraugi, izšķīdināti metilēterā, veido plankumus, un šķīdinātājam ļauj pacelties piesātinātajās tilpnēs heksān-dietilēterī vai petrolejas ēterā – dietila ēterī. Tas izraisa mononepiesātināto taukskābju cis- un trans-frakciju sadalīšanos. Tad cis- un trans-mononepiesātināto taukskābju plankumus

metilēterā notīra no plāksnēm ar silikagēlu un analizē ar GH palīdzību.[46] GH pēc Ag-TLC uzrādīja labākus gadījumus nekā tikai GH izmantošana. Molquentin et al. (1995) izdevās izdalīt 10 smailes trans- 18:1 taukskābēm un 9 smailes cis- 18:1 izomēriem, izmantojot kapilāru kolonnu 100 m CP Sil-88 pēc sākotnējās atdalīšanas ar Ag-TLC metodi. Ledoux un viņa grupa (2000) ieguva 18 dažādus smailes, izmantojot analogiskus darba apstākļus. Šīs metodes trūkums ir tajā, ka tā ir ļoti darbietilpīga un aizņem daudz laika, bez automatizācijas iespējas. No citas puses, tā ir lēta un vienkārša metode.

1.4.3. Augsti efektīva šķidrums hromatogrāfija (HPLC)

HPLC izmantošana, lai identificētu un skaitliski vērtētu dažādus cis- un transtaukskābju izomērus ir viena no jaunākajām metodēm. Juanēda (2002)[47] publicēja rakstu par HPLC izmantošanu: divas kolonnas ar atgriezenisko fāzi cis- un trans-izomēru atdalīšanai, taču ievākto frakciju analīzei tomēr nācās izmantot GLC. Šajā pētījumā HPLC tika izmantota, tikai lai atdalītu cis- un trans-izomērus, identificēšanai un skaitliskajai vērtēšanai vēl joprojām ir nepieciešama GH. Pēdējo gadu laikā tika publicētas vairākas publikācijas par augsti efektīvas šķidrums hromatogrāfijas izmantošanu uz sudraba jonu pamata, lai identificētu izomēru cis- un transtaukskābes.[47] Gan kapitālās, gan tekošās izmaksas ir daudz lielāka salīdzinājumā ar GH. Sarežģītais atdalīšanas process izraisa savienojumu identificēšanas sarežģīšanu (HPLC).[48]

1.4.4. Gāzu hromatogrāfija (GH)

Taukskābes ir lipīdu grupa, kura visbiežāk tiek analizēta ar GH palīdzību. Nenoliedzami, tieši šī metode pamatā tiek izvēlēta šim mērķim.[50] Svarīgākie šīs metodes sasniegumi, kas skar dažādu cis- un transtaukskābju izomēru skaitlisko vērtējumu un identifikāciju, - tā ir ļoti garu kapilāru kolonnu, kas ir piepildītas ar augsti polārām stacionārām fāzēm, komerciālā pieejamība. Kolonnu efektivitāte ir proporcionāla kolonnas garuma kvadrātsaknei, bet izšķirtspēju ietekmē stacionārās fāzes selektivitāte. Sekojoši, garuma palielināšana cels izšķirtspēju, bet stacionārās fāzes izmaiņas izraisīs sadalīšanu. [51,52]

Augsti polārās kolonnas, saistītas ar ciānalkilpolisiloksāna fāzēm, tādas kā SP-2560 [53] un BPX-70 [54], kas kļūva pieejamas nesen, dažādu cis- un trans-izomēru

skaitliskajā vērtējumā un sadalē demonstrēja būtiskus uzlabojumus. Izmantojot ciānalkilpolisiloksānu kā nekustīgo fāzi, trans- 18:1 izomēri tiek eluēti divkārsās saites stāvokļa kustībā gar oglekļa ķēdi no taukskābes ķēdītes karbonskābes gala (trans-4, trans-5, trans-6, trans-7...). Vairākumam trans-izomēru ir īsāks aiztures laiks, nekā oleīnskābei (cis-9, 18:1). Ar šo kolonnu palīdzību [6]var viegli skaitliski noteikt svarīgāko trans-izomēru piena taukos, vācēnskābē (trans-11, 18:1) [55] kopā ar trans-9, 18:1 un trans-10, 18:1, kas ir svarīgākie trans-izomēri hidrogenētās augu eļļās. [56,57]Ar šīm hromatogrammām var identificēt trans-izomēru avotu apstrādātos pārtikas produktos. Lieliskā izšķirtspēja, kas tiek sasniegta ar ļoti garu, augsti polāru, pārklātu ar apvalku, atvērtu cauruļveida kapilāro kolonnu palīdzību, apgrūtina GH, kas ir aprīkots ar šīm kolonnām, izmantošanu, lai identificētu un skaitliski analizētu dažādus cis- un transtaukskābju izomērus daļēji hidrogenētos eļļu paraugos.

1.4.5. Lipīdu ekstrakcija

Ļoti maz darbu ir veltīts lipīdu ekstrakcijai, taču pareiza ekstrakcijas procedūra ir pirmā taukskābju identifikācijas un skaitliskās vērtēšanas kritiskā stadija. Skaitliskā visu lipīdu izolācija paraugā bez piesārņojošām vielām jāveic pirms analīzes. Jārealizē pasākumi hidrolīzes un oksidēšanās riska minimizēšanai. Lai atdalītu taukskābes, jāatrod šķīdinātāji, kuri ne tikai viegli šķīdina lipīdus, bet arī pārvar mijiedarbību starp lipīdiem un paraugu matricu. Visbiežāk lipīdu ekstrakcijai no dzīvnieku un augu materiāla izmanto hloroforma un metanola maisījumu.[58] Vairāku gadu garumā radās interese par izopropanolu/heksānu (2:3), jo tā toksiskums ir samērā zems, bet tā ekstrakcijas spējai jāveic vairāk eksperimentu.[59] Kā šķīdinātājs ar ļoti labām ekstrakcijas īpašībām tiek minēts arī benzols. Taču mūsdienās tas ir zināms kā ārkārtīgi toksisks, tā vietā izvēlas citus šķīdinātājus, kaut gan ieelpojot vairākumam šķīdinātāju ir noteikta toksiskuma pakāpe.

Margarīni pārsvarā sastāv no triacilglicerīna molekulām ar nelielu nelipīdu piesārņojumu, kas ekstrakcijas procedūru padara par samērā vienkāršu. Jebkurš lipīds bez polārām grupām, piemēram, triacilglicerīniem, ir šķīdināms mēreni polāros šķīdinātājos, tādos kā hloroforms, un spēcīgi šķīdināms orgļūdeņražos, tādos kā heksāns.[58] Vairākums literatūras avotu, kas raksturo lipīdu ekstrakciju no taukiem un eļļām, norāda uz hloroforma un metanola sajaukuma izmantošanu, metode, kuru pirmoreiz publicēja Folch et al. (1957). Bligh et al. (1959) publicēja vienkāršu Folča

oriģinālās metodes adaptāciju – ekonomisks līdzeklis, lai iegūtu lipīdus no zivs. Citi izmēģināja Blaija metodi un konstatēja, ka tai trūkst nepolāro lipīdu atjaunošanas.[60] Richardson et al. (1997) arī raksturoja Folča ekstrakcijas metodes modifikāciju, kura sniedza lieliskus rezultātus. Šie zinātnieki izmantoja lielus hloroforma un metanola apjomus ar galīgo attiecību 1:1 (v:v), lai atdalītu taukskābes, tad izmantoja rotora iztvaicētāju, lai likvidētu šķīdinātāju.[61] Lepage et al. (1984) izmantoja metodi, kurā tika izlaists ekstrakcijas posms un tika tieši transmetilēti paraugi ar labiem rezultātiem. Daži darbi tika veltīti arī ekstrakcijas un transmetilācijas stadiju kombinēšanai.[62]

Ir acīmredzami, ka neatkarīgi no izmantotās ekstrakcijas metodes, jābūt uzmanīgiem, lai ekstrahētās taukskābes pasargātu no oksidācijas. Vienmēr jāizmanto antioksidants, tāds kā butilēts hidroksitoluols. Taukskābju ekstrakti jāapstrādā arī slāpekļa atmosfērā.[58]

Hloroforma un metanola maisījumu, acīmredzot, ir labākais kopējais lipīdu ekstrakcijas šķīdums, bet no ekoloģijas viedokļa tas nav drošākais.[58]

1.4.6. Taukskābju C18:1 cis- un transizomēru analīze, apvienojot 4,4-dimetiloksazolīna un metilēteru atvasinājumu GH

Izomēru transtaukskābes, kas tiek konstatētas daļēji hidrogenētās augu un zivju eļļās, piena produktos un atgremotāju gaļā, izraisa aizvien lielāku interesi, jo tās negatīvi ietekmē cilvēka asins seruma lipoproteīnu sastāvu [64], un to lietošana var paaugstināt sirds išēmiskās slimības risku [65,66]. Taukskābju metilēteru (FAME) GH ir tradicionāla taukskābju atdalīšanas metode [67], bet izstrādātās metodes garām kapilāru kolonnām ar polārām stacionārām fāzēm cis-nepiesātinātajās taukskābēs [68] ļauj izcelt lielāko daļu transizomēru. Taču, saskaņā ar GH analīzi FAME trans- un cis-izomēru atdalīšana nekad nemēdz būt pilnīga, konkrētāk, 13t-15t C18: 1 izomērus pārklāj 9c-izomērs. Uzlabota monoēn trans- un cis-izomēru atdalīšana tiek sasniegta, izmantojot plānslāņa hromatogrāfiju ar silīcija plāksnēm, kas piesātinātas ar sudraba nitrātu (Ag-TLC) [69] vai šķīdumu hromatogrāfiju uz sudraba jonu bāzes (Ag-HPLC) [70] ar sekojošu gāzes-šķīdumu hromatogrāfiju. Uzlabojumi tika sasniegti, optimizējot temperatūru programmu [71]. Tomēr tikai pilnīga cis- un trans-izomēru atdalīšana nodrošinās precīzu transtaukskābju satura vērtējumu pārtikas produktos. Skaitliskais vakcēnskābes (11t), kura ir svarīgākais piena tauku izomērs [70,72,73],

un elaidīnskābes (9t) un 10t oktadecēnskābes, kas ir svarīgākie vairākuma hidrēto augu eļļu komponenti [70,74] apzīmējums ļaus identificēt transtaukskābju avotu apstrādātos pārtikas produktos un jauktās diētās. Šī identifikācija ir svarīga, jo tika izteikts minējums, ka transtaukskābes no piena produktiem un eļļas no daļēji hidrogenētām augu eļļām var dažādi ietekmēt sirds išēmiskās slimības risku [65,74]. Ideālai 18-karbonu transtaukskābju analīzes metodei jāapvieno pilnīga atdalīšana no cis-izomēru ar labu atdalīšanu starp dažādiem trans-izomēriem un 18 oglekļa atomiem. Ar šo mērķi mēs izstrādājām metodi, kuras pamatā ir dimetiloksazolīna (DMOX) transtaukskābju atvasinājumu gāzes-šķidrums hromatogrāfija, apstiprinājām to izmantojot af-TLC-GH gan FAME, gan DMOX taukskābju atvasinājumiem un pielietojām to kombinācijā ar FAME GH, lai analizētu izvēlētos produktus ar dažādām taukskābju kombinācijām.

Holandes paraugi validācijas izpētei tika analizēti, izmantojot FAME un DMOX GH atvasinājumus gan ar sākotnēju atdalīšanu, gan bez sākotnējas Ag-TLC atdalīšanas, identificējot transtaukskābju DMOX atvasinājumus ar masspektrometrijas palīdzību. Vairāku centru TRANSFAIR paraugi tika analizēti, izmantojot FAME un DMOX atvasinājumu GH bez sākotnējas Ag-TLC. FAME sagatavošana. Tāukus ekstrahēja ar hloroformu/metanolu (pārtikas paraugi) vai heksānu (pārtikas tauki), bet FAME tika sagatavoti atbilstoši Metcalfe et al. [79]. DMOX atvasinājumu sagatavošana. Aptuveni 5mg FAME pievienoja 500 µm 2-amino-2-metil-1-propanola (AMP) un sajaukums 180 oC tika inkubēts nakts garumā. Pēc dzesēšanas tika pievienoti 5ml dihlormetāna un viss šķīdums tika divreiz skalots ar 2ml demineralizēta ūdens. Dihlormetāna šķīdums tika žāvēts ar bezūdens nātrija sulfātu tad iztvaicēts slāpekļa atmosfērā. Atlikums tika izšķīdināts 200 µm heksānā. [75] Standarta paraugi. Standarta C18:1 izomēru preparāti tika iegādāti pie Sigma (St. Louis, MO) un NuChek-Prep, Inc. (Elysian, MN) un ietvēra trans-izomērus 6, 7, 9, 11, 12, 13 un 15 un 6, 7, 9, 11, 12, 13 un 15 cis-izomērus. FAME un DMOX GH. C18:1 taukskābju izomēru atdalīšanai tika izmantots gāzes hromatogrāfs Hewlett-Packard (HP, Avondale, PA), aprīkots ar 100m kapilāru kolonnu (divas kolonnas 50 metru garumā, savienotas kopā, Chrompack, Middelburg, Netherlands). Sīka informācija par GH metodēm atainota Tabulā 1.2. Rezultāti izteikti kā % no laukuma. Taukskābju izomēru identifikācija izmantojot GH un masspektrometriju (MS). C18:1 taukskābju izomēru pīķu laukumi starp 5c un 15c un starp 6t un 16t un izomēriem t/t, c/t, t/c, un c/c C18:2 tika mērīti izmantojot HP Chem programm nodrošinājumu.

Individuāli pīķi tika identificēti, salīdzinot ar standarta paraugiem, balstoties uz aiztures laiku un MS analīzi: divkāršās saites ar DMOX atvasinājumu izmantošana. MS analīze tika veikta saskaņā ar Fay and Richli. [76] Mēs izmantojām gāzes hromatogrāfu HP 5890 Series II, kas aprīkots ar kapilāru kolonnu CP-Sil 88 100 m × 0,25 mm un HP 6971 sērijas masspektrometru, jonizācijas režīmu EI, 70 eV un 50-400 atommasas vienību masas diapazonu (AMU). Split-injekcija (atdalīšanas attiecība 1:50) un temperatūras programmēšana no 150 līdz 220°C tika izmantota ar hēliju (gāze-nesējs), ar plūsmu 23,8 cm/s (0,7 ml/min). Divkāršās saites stāvoklis tika noteikts, izjaucot secīgu metilēna posmu sašķelšanas kārtību 14 AMU un ievērojot intervālu 12 AMU [77,78]. Ag-TLC. TLC-plāksnes (20 × 20 cm, artikuls 11798; Merck, Darmstadt, Germany) tika piesātinātas TLC tvertnē, kura saturēja aptuveni 15% AgNO₃ acenonitrilā. AgNO₃ šķīdumam ļāva celties līdz brīdim, kamēr šķīdinātāja slānis nerasniedza plāksnes virsotni. Īsu brīdi pirms izmantošanas plāksnes tika aktivizētas, izkaltējot 110°C 1 stundas garumā [69]. Plāksnes koncentrācijas zonā tika izmantoti 200 μm FAME (~ 6 mg) šauras lineāras joslas izskatā. Kā kustīgā fāze tika izmantots petrolejas ēteris/dietila ēteris (95:5 apgr./apgr.). Pēc kaltēšanas plāksne tika pārklāta ar šķīdumu Rhodamine 6G (25 mg/100 ml etanola), bet joslas ar piesātinātām, trans-mononepiesātinātām un cis-mononepiesātinātām taukskābēm tika vizualizētas UV starojumā. Trīs joslas un ceturtā josla, kas pārklāja zonu starp trans- un cis- joslām, tika nodalītas, pārnestas filtrācijas caurulēs un pakļautas trīskārtējai skalošanai ar 10ml etilētera. Eluenti tika savākti tvertnēs, kas saturēja zināmu C17:0 FAME daudzumu kā iekšējo standartu. Eluenti tika žāvēti rotora iztvaicētājā, šķīdināti 750 μm petrolejas ētera un analizēti ar GH palīdzību.

Nobeigumā jāsaprot, ka vienkārša FAME GH analīze nepietiekami novērtē C18:1 transtaukskābju skaitu (aptuveni par 25%) pārklājuma ar cis-izomēriem rezultātā. Ikreiz, kad nepieciešama pilnīga izomēru atdalīšana un precīza taukskābju vispārējo klašu mērīšana, ieteicama papildus DMOX atvasinājumu GH analīze un izomēru aprēķins, kombinējot FAME un DMOX analīzes rezultātus. Šo metodi var izmantot, lai aizstātu darbietilpīgo hromatogrāfiju uz sudraba jonu bāzes.

Gāzes-šķidrums hromatogrāfijas metodes skaidrojums

	C _{18:1} FAME	C _{18:1} DMOX
GH aprīkojums	HP 5890 II+	HP 5890 II+
Kolonna	CP-Sil 88 capillary	CP-Sil 88 capillary
Garums/iekšējais diametrs	100 m/0.25 mm	100 m/0.25 mm
Pļēves biezums	0.20 μm	0.20 μm
Injekcijas/atdališanas attiecība	split/1:88	split/1:75
Gāze-nesējs	H ₂	H ₂
Lineārais ātrums (plūsmas ātrums)	24.8 cm s ⁻¹ (1 mL min ⁻¹)	19.6 cm s ⁻¹ (0.7 mL min ⁻¹)
Temperatūras programma	From 150 to 155°C (2°C/min), then 50 min constant temperature, program to 170°C (40°C/min), then 7.12 min constant temperature, program to 224°C (40°C/min) and 8.66 min constant temperature.	From 150°C (for 125 min) to 220°C (10°C min ⁻¹) and constant temperature for 13 min.
Darba procesa laiks	70 min	145 min

1.4.7. Taukskābju profila noteikšana, izmantojot gāzes hromatogrāfiju apvienojumā ar liesmas jonizācijas detektoru.

Pārtikas eļļu un tauku taukskābju profils tika noteikts saskaņā ar O'Fallon, Busboom, Nelson un Gaskins (2007)[88] metodi un oficiālo AOAC 996.06 metodi (Oficiālā analīzes metode AOAC, 1995).[87],[89] Taukskābju metilesteri (FAME) tiešas transesterifikācijas ceļā, izmantojot 2% sērskābi metanolā, tika iegūti no eļļas un tauku paraugiem. FAME sadalīja un skaitliski noteica, izmantojot gāzes hromatogrāfiju apvienojumā ar liesmas jonizācijas detektoru (sērija Agilents, sērija 7890, ASV). Īsumā, 40ml pārtikas eļļas vai 50mg tauku nosvēra kultivēšanas mēģenē Pyrex ar aizskrūvējamu vāku, kā iekšējais standarts tika pievienots 1ml C17 (1 mg / ml, heptadekānskābe Sigma H3500). Mēģenē tika pievienots kālija hidroksīds (0,7ml) un 5,3ml metanola ar 0,05% butilēta hidroksiltoluola, tika veikta inkubācija verdošā ūdens vannā 55°C temperatūrā 90 minūšu garumā, enerģiski sakratot 20s katras 20 minūtes. Pēc inkubācijas mēģenes tika atdesētas zem ūdensvada ūdens, secīgi pievienojot 2% sērskābi un inkubējot 55°C 90 minūšu garumā. Tad mēģenē tika pievienots n-heksāns (3ml), saturs samaisīts un ievietots centrifūgā: 5 minūtes 2000 apgr./min. n-heksāna slāni savāca 5ml mēģenē, kas saturēja 0,1g nātrija sulfāta. Mēģenes atkal sakratīja un šķīdinātājs tika iztvaicēts mīkstā slāpekļa plūsmā. Mēģenē

tika pievienots 1,5ml dihlormetāna un rūpīgi samaisīts saturs. 0,5 ml dihlormetāna ar FAME filtrēja, izmantojot 0,22mm PVDF šļirces filtru, un ievadīja gāzes hromatogrāfā. SP 2560 (75 ь x 0,18 mm x 0,14 mm) izmantoja gāzhromatogrāfiskajai atdalīšanai ar sekojošiem tehniskajiem nosacījumiem: 250°C; Gāze-nesējs: ūdeņradis = 0,6 ml/min; Attālumu attiecība: 1: 100; Krāsns programma: 140°C (noturēt 1,5 minūtes) līdz 220°C (noturēt 1,0 min) līdz 230°C (noturēt 3 minūtes); Jonizācijas liesmas detektors; Temperatūra: 260°C; H2: 40 ml/min; Attīrīts gaiss: 400 ml/min; Sprauslas apjoms: 1 ml. Taukskābes, kas bija paraugos, noteica skaitliski, izmantojot procentuālu laukuma aprēķinu, ar sajaukuma Supelco 37 FAME (Sigma № 47885-U) palīdzību etalonstandarta lomā. Rezultāti tika izteikti kā taukskābju % taukos/eļļā. Iekšējais standarts, kā arī standarta etalonmateriāls (SRM) -1544 tika izmantots analītiskai kvalitātes nodrošināšanai. Taukskābju standarti tika iepirkti Nu-Chek, ASV. Citām ķīmiskajām vielām, izmantojamajiem elementiem bija kvalifikācijas pakāpe „augsti efektīvai šķidrumu hromatogrāfijai”. Nepieciešamības gadījumā analizē tika izmantots ūdens Milli-Q.[90]

1.4.8. Paraugu apstrāde un lipīdu analīze

Tika homohenizēti aptuveni 400-800g pārtikas parauga. Daļu no homohenizētajiem divkārstīgiem paraugiem ekstrahēja ar metanolu: hloroformu atbilstoši Folch, Lees un SolaneStanley (1957).[84] Lipīdu ekstrakts tika pārvērsts taukskābju metilesteros (FAME), izmantojot inkubāciju ar 0,01 M nātrija hidroksīdu metanolā 60-65°C temperatūrā 30 minūšu garumā, pēc tam savācot FAME, kas tika izšķīdināti heksānā. FAME sadalīja, izmantojot gāzes-šķidrumu hromatogrāfu (Agilent 6890), kas aprīkots ar polāru kondensētu kapilāru kolonnu, split-inžektoru (atdalīšanas koeficients: 50 ml/min) un liesmas jonizācijas detektoru. Temperatūras programma sākās 100°C temperatūrā 1 minūtes garumā un tika palielināta par 15°C/min līdz 160°C, tad par 4°C/min līdz 210°C un noturēta 210°C temperatūrā 12 minūšu garumā. Gāze-nesējs bija hēlijs (sākotnējais spiediens 80kPa), bet gāze-kompensators – slāpekļis. Atsevišķas taukskābes tika identificētas, izmantojot ārējo standartu (68A vai St-85 Nu Check, Minesota, ASV) un izturēšanas laiku. Inžektora un detektora temperatūra sastādīja 275 un 250°C. Turklāt, transtaukskābes, kas tika konstatētas 2006. un 2007.gadā tika atdalītas uz 100m CP CIL-88 kapilāru kolonnā ar kausētu kvarca slāni, turklāt temperatūras programma sākās ar 175°C 60 minūšu garumā, tika palielināta par 10°C/min līdz 210°C un noturēta 210°C temperatūrā 51 minūtes garumā. Gāze-

nesējs bija hēlijs (sākotnējais spiediens 180kPa un atdalīšanas attiecība 40ml/min). atsevišķas transtaukskābes tika identificētas saskaņā ar ārējo standartu (K 110 Alltech-Applied Science Labs, ASV) un izturēšanas laiku. Visas taukskābes tika izteiktas kā % no kopējā taukskābju skaita. Taukskābju analīzes metode tika akreditēta SWEDAC (Zviedrijas akreditācijas un atbilstības vērtēšanas padome) (ISO/IEC) sākot ar 1995.gadu. analītisko darbu kvalitāti nepārtraukti nodrošina tīri paraugi, kontrolparaugi un sertificētu etalonmateriālu analīze. Konstatēšanas robeža sastādīja 0,03%. 2.ķīmijas nodaļa NFA koordinēja tauku, kas tika sūtīti ārējai analīzei, satura analīzi. Tauku satura analīzi 2001. un 2006.gadā veica Nacionālais veterinārais institūts Upsālā.[86] Kopējais tauku saturs tika analizēts gravimetriski saskaņā ar EC (EG Directive 98/64 /EG method-B) metodiku. Paraugi, kas tika analizēti 2007.gadā, tika nosūtīti laboratorijai ALcontrol Laboratories (akreditēta laboratorija ALcontrol AB) Linčepingā. Kopējais tauku saturs tika analizēts, izmantojot gravimetrisku metodi NMKL 131, tauki, noteikšana gaļā, izmantojot periodiskas darbības reaktoru ar noteiktu secīgumu (SBR) (NMKL, 1989).[85] Starpposma laikā paraugi tika uzglabāti 20°C temperatūrā.

1.5. Gāzes hromatogrāfija, kolonnu izvēle

Ir pieejams daudz gāzes hromatogrāfu kapilāru kolonnu, kas atšķiras ar polaritāti, funkcionālajām grupām stacionārajā fāzē, kolonnas garumu, iekšējo diametru un nekustīgās fāzes biezumu.[91]

Kolonnas izvēle parasti ir kompromiss starp dažādām vēlamajām īpašībām. Diviem detektoriem: IRD un MSD gāzes hromatogrāfijas sistēmā jārisina dažādi uzdevumi, maksimālam ražīgumam tiem nepieciešami ļoti dažādi hromatogrāfiskie apstākļi. Abus detektorus paralēli vai secīgi var palaist vienā kolonnā, bet tad abi detektori strādās suboptimālos apstākļos.

MSD ir samērā labs jūtīgums un tāpēc to var izmantot individuālu izomēru identificēšanai un skaitliskai noteikšanai. Lai izmantotu šo īpašību, kolonnai jāpiemīt augstam stāvokļa izomerizācijas izvēlīgumam un augstai efektivitātei (liels plāksņu skaits). Kad kolonnu izmanto augsti efektīvas šķīdumu hromatogrāfijas frakcijas analīzei hromatogrāfijā ar nesējiem ar sudraba joniem, selektivitātei attiecībā uz ģeometrisku izomēriju ir mazāka loma. MSD gadījumā kolonnas notekai arī jābūt

zamai. Kolonnas plūsmai arī jābūt zemā līmenī. Šim mērķim nepieciešamas relatīvi garas kolonnas ar šauru iekšējo diametru, zemu plēves biezumu un stacionāro fāzi ar vidēju un augstu polaritāti.[92]

IRD prasības ir citas. Detektora jutīgums ir samērā zems, tāpēc jāievada liels parauga daudzums. Individuālo izomēru atdalīšana liela daudzuma gadījumā būs zema, bet IS-spektri nesniedz nekādu informāciju par pozicionālo izomēriju. Tāpēc IS-detektora izvēles kolonnai jābūt lielam parauga tilpumam un spējai atdalīt taukskābes pēc kopējā divkāršo saišu skaita. Nedrīkst būt neviena sakritība, vai tai jābūt atdalītai taukskābju ar dažādu ķēdes garumu noturēšanas starplaikā. Pēdējā prasība izslēdz vairākumu polāro fāžu. Tādējādi, jāizmanto fāze ar zemu un vidēju polaritāti.

Vairāku dažādu fāžu noturēšanas raksturojumi tika testēti, izmantojot FAME etalonsajaukumu un hidrētu tauku paraugus. Rezultāti atainoti zemāk.[94]

1.5.1. Eluēšanas profili

Taukskābju C20 eluēšanas profili redzami attēlā 1a-g. Taukskābēm ar citu ķēdes garumu ir līdzīgas likumsakarības. Mazāk polārām 100% metilpolisiloksāna, DB-5, CP-Sil un DB-1701 stacionārajām fāzēm polaritāte bija pārāk zema, lai nodrošinātu vēlamo sadalīšanu pēc molekulas divkāršo saišu kopskaita. Metilpolisiloksāns, DB-5 un CP-Sil 13 uzrādīja vienkāršu evolūcijas ainu kolonnām ar zemu polaritāti, kur nepiesātinātas taukskābes tiek eluētas pirms piesātinātām taukskābēm. Taču visos trīs gadījumos liela ietekme ir divkāršās saites stāvoklim, kas izraisa augstāku nepiesātināto taukskābju n-3 noturēšanas laiku salīdzinājumā ar citiem etalonsajaukuma izomēriem. Visās trīs kolonnās triēnu lauks pārklājas ar diēnu lauku, tāpēc neviena no šīm stacionārajām fāzēm nav piemērota izmantošanai ar IRD detektoru.[95]

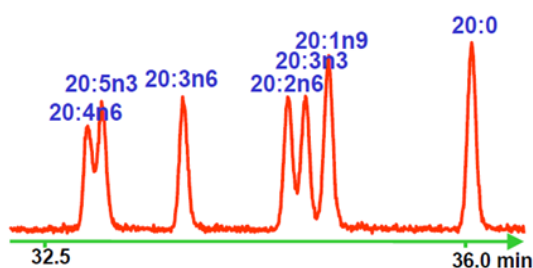
DB-1701 gadījumā eluēšanas šablons ir mazāk prognozējams, nekā citās kolonnās. C20 taukskābes hidrētā paraugā eluē kā pietiekami šaura grupa ar pilnīgu pārklājumu starp taukskābēm ar dažādu divkāršo saišu skaitu.

HP-Innowax ir stacionārā fāze, kura sastāva ziņā būtiski atšķiras no citām stacionārajām fāzēm. Tā ir 100% polietilēnglikola fāze, pa to laiku kamēr citas fāzes ir polisiloksāni, kuri polaritātes pieaugumam tiek modificēti ar fenil- vai ciāngrupu. Taukskābes PEG tiek eluētas saskaņā ar divkāršo saišu skaita pieaugumu. 20: 4n-6

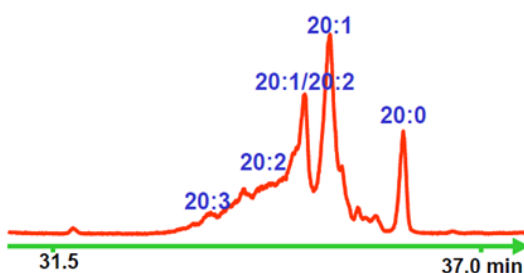
līdz 20: 3n-3, kas ilustrē, ka divkāršās saites stāvoklim arī ir liela ietekme. Visi 20: 1 izomēri labi atdalās no 20: 0 un, acīmredzami, eksistē ierobežots hromatogrāfiskais pārklājums starp monoēniem un poliēniem.

Gan BPX-70, gan SP-2560 – ļoti polāras kolonnas ar lielu ciāngrupu slodzi fāzē. Eluēšanas shēmas ir analogiskas PEG kolonnai, taču polaritātes palielināšana izraisa labāku sadali piesātināto taukskābju un monoēnskābju starpā. Monoēni arī labāk sadalās cis- un trans-. Ir dažas nesakritības starp cis- un transmonoēniem un cismonoēniem un polinepiesātinātām taukskābēm). Šo nekustīgo fāžu polaritāte ir tik liela, ka daži triēni daļēji hidratēta zivju eļļā var pārklāties ar piesātinātu taukskābi ar diviem oglekļa atomiem molekulā. Tādējādi, noteiktos apstākļos šīs kolonnas var nebūt piemērotas nefrakcionēta PHFO analīzei.[96]

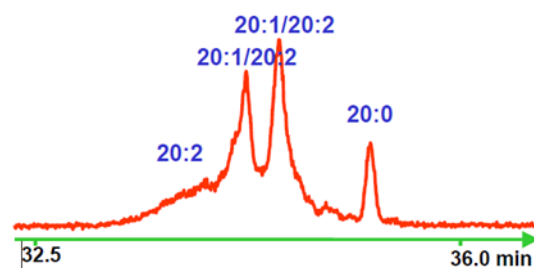
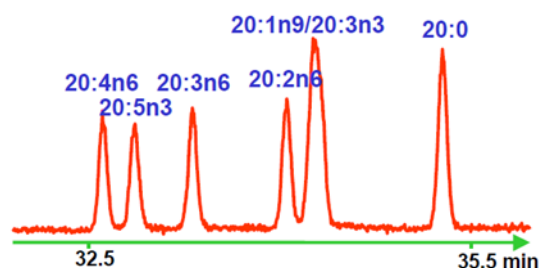
Lauks C20, GLC-461



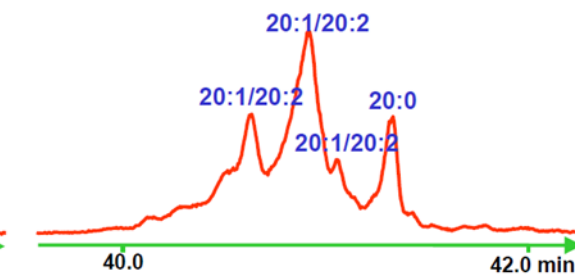
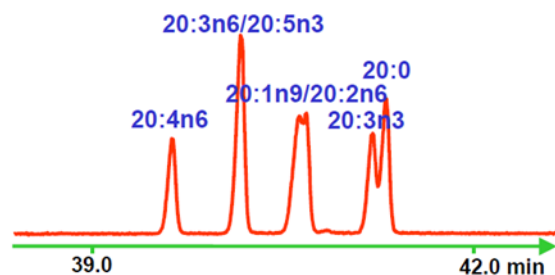
Lauks C20, PHFO mp 31



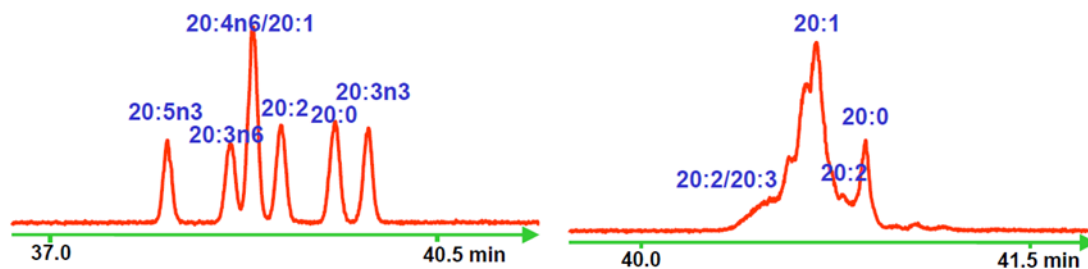
attēls 1a. 100% metilaizvietoti polisiloksāni.



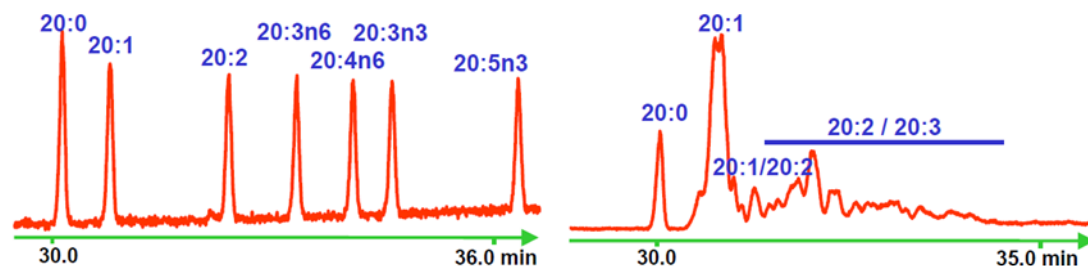
attēls 1b. DB-5, J&W (5% fenils, 95% metilpolisiloksāns)



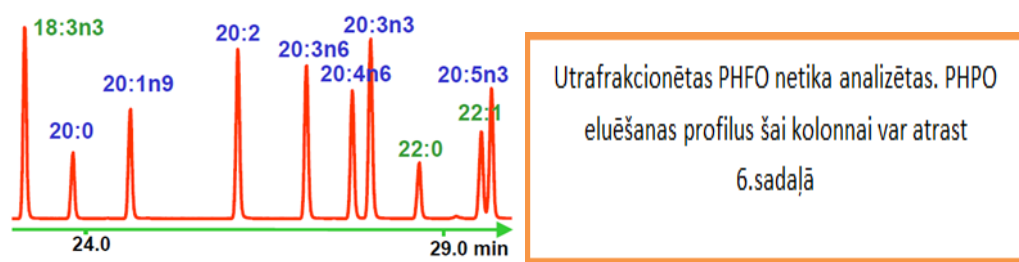
attēls 1c. CP-Sil 13, Chrompack (14% fenils, 86% metilpolisiloksāns)



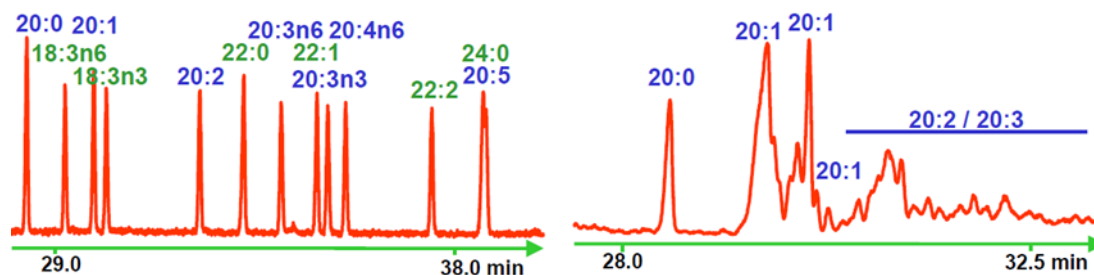
attēls 1d. DB-1701, J&W (6% ciānpropilfenils, 94% metilpolisiloksāns)



attēls 1e. HP Innowax, Hewlett Packard (100% polietilēnglikols)



attēls 1f. BPX-70, SGE (70% ciānpropilpolifenilēnpolisiloksāns).



attēls 1g. SP-2560 (100% ciānpropilpolisiloksāns)

1.5.2. Hromatogrāfiskā pārklāšana, augsti efektīvas šķidrumu hromatogrāfijas frakcijas

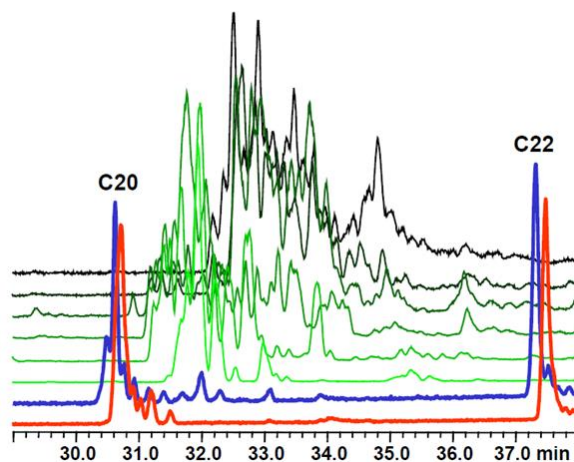
Ag šķidrumu hromatogrāfijas PHFO tika analizētas trīs polārākajās kolonnās. Pirmās divas frakcijas attiecīgi bija trans- un cismonoēni, bet pārējās sešas frakcijas saturēja diēnus un poliēnus. Jāpievērš uzmanība tam, ka visu frakciju mērogs tiek izvērsts līdz augstākajam pīķim hromatogrammās, tāpēc poliēni būtiski izplešas pa asi y salīdzinājumā ar monoēniem.

Kolonna PEG (HP-Innowax) uzrādīja sliktu cis-trans-monoēnu sadalīšanu. Bija noteikts pārklājums starp monoēniem ar divkāršu saiti blakus metila galam un agrīni eluējošiem diēniem. Ļoti neliels vēlu eluējošās C20 polinepiesātinātās taukskābes daudzums, acīmredzot, tiek eluēts C22 laukā. Pievērsiet uzmanību, ka 20: 5n-3 šajā kolonnā eluē līdz 22: 0. Tas nozīmē, ka dažiem no poliēniem, kas izveidoti hidrēšanas procesā, eluēšanas laiks ir lielāks, salīdzinājumā ar EPA, kaut gan divkāršo saišu skaits jaunos izomēros, acīmredzami, ir mazāks par piecām.[97]

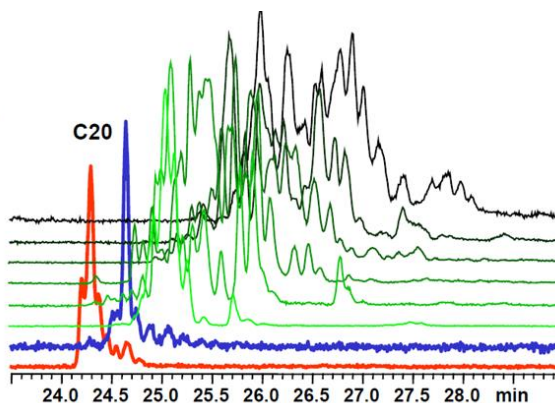
BPX-70, izskatās nebija pārklājuma starp vēlu eluējošiem polinepiesātinātās taukskābes izomēriem C20 un C22. Bija laba cis- un transmonoēnu sadale. Cismonoēnu un agrīni eluējošu diēnu pārklājums, acīmredzami, ir tāds pats, kā PEG kolonnās.

SP-2560 polaritāte bija pārāk liela, lai noderētu nefrakcionētu tauku analīzei. Hromatogrammās bija liels C20 un C22 lauku pārklājums. C18 taukskābes arī tiek eluētas C20 laukā. Pievērsiet uzmanību tam, ka piesātināta frakcija nav atainota. Eluēšanas laiks piesātinātām frakcijām atrodams attēlā 1. Sadale starp trans- un cismonoēniem aptuveni atbilst BPX-70.[98]

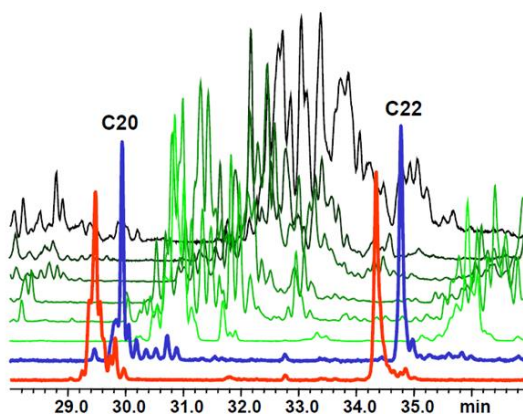
attēls 2a. Slīpnes GC-MS. HP Innowax (Agilent). Eluēšanas profili C20 laukiem: dažādas šķidrumu hromatogrāfijas frakcijas PHFO s. mp.31°C. Transmonoēni: sarkana Cismonoēni: zila Polinepiesātinātās taukskābes: zaļa Hromatogrammas



attēls 2b. Slīpnes GC-MS.
BPX-70 (SGE), citi parametri
kā attēlā a.



Attēls 2c. Slīpnes GC-MS.
SP-2560 (Supelco), citi
parametri kā attēlā a.



1.5.3. Kolonnas efektivitāte

Kad gāzes hromatogrāfā tiek izmantota temperatūras programmēšana, kolonnas efektivitāti var raksturot ar sadales numuru. Tas tiek noteikts kā attālums starp diviem pīķiem homologu sērijā (parasti n-alkāni), dalīts ar platuma augstuma pusē summu (1.1. vienādojums). Matemātiski tas izskatās sekojoši:

$$TZ = [t_{R(z+1)} - t_{R(z)}] / [W_{1/2h(z)} + W_{1/2h(z+1)}] - 1 \quad (1.1.)$$

Sadalīšanas cipari, kas aprēķināti, salīdzinot 18:0 ar 20:0 un 20:0 ar 22:0, atainoti tabulā 1. Kolonnas atšķiras ar garumu un citiem izmēriem, bet izmantotie hromatogrāfiskie parametri nav tieši salīdzināmi.

Bet dažas tendences var saskatīt. Neskatoties uz to, ka polārākas kolonnas ir daudz garākas, salīdzinājumā ar mazāk polārām, sadalīšanas cipars samazinās līdz ar polaritātes palielināšanu. SP-2560 ir četras reizes garāka par 100% metilazvietotu polisiloksāna kolonnu; sadalīšanas cipars ir zemāks. CP-Sil 13 cipari ir divreiz augstāki, nekā SP-2560.

Jāatzīmē, ka pīķa novirze un paplašināšanās bieži vērojama piesātinātu taukskābju ar garām ķēdēm pīķos, kad tiek izmantotas ļoti polāras kolonnas. Tas ir saistīts ar piesātinātas taukskābes zemu šķīdību gan kustīgajā fāzē (zema gaistamība), gan stacionārajā fāzē (pārāk zema polaritāte). Tādējādi, sadalīšanas cipari monoēniem un poliēniem var būt augstāki, nekā tie, kas aprēķināti no šo kolonnu piesātinātajām rindām.[99]

1.3. tabula

Aprēķinātie sadales cipari

	Kolonna garums (m)	R _{t18:0}	R _{t20:0}	R _{t22:0}	W _{18:0}	W _{20:0}	W _{22:0}	TZ ₁₈₋₂₀	TZ ₂₀₋₂₂
100% metils	25	28.45	36.05	43.52	0.073	0.081	0.098	23.23	19.37
DB-5	30	27.76	35.27	42.69	0.074	0.076	0.071	23.50	23.61
CP-Sil 13	50	33.39	41.31	48.98	0.067	0.057	0.056	30.62	32.44
DB-1701	60	30.53	39.60	48.92	0.087	0.100	0.105	22.79	21.29
HP-Innowax	60	23.38	29.98	36.85	0.078	0.081	0.089	19.27	18.81
BPX-70	60	19.48	23.86	28.71	0.046	0.054	0.059	20.40	20.03
SP-2560	100	24.21	28.35	33.25	0.051	0.059	0.074	17.31	16.88

1.5.4. Apkopotie rezultāti

Tādējādi, PEG un BPX-70 kolonnas, acīmredzami, ir piemērotas nefrakcionētu paraugu analīzei ar IRD. Pārklājumu starp cis- un transmonoēniem, kas vērojams PEG, var atrisināt ar skaitlisko vērtējumu uz IS spektru pamata.

Cis- un transmonoēnu analīze nefrakcionētos taukos jāizmanto BPX-70 vai SP-2560. Tie sniedz labu sadalījumu starp cis- un trans- izomēriem. PEG kolonnas nevajadzētu izmantot šim mērķim. Paraugos, kur ir būtisks piesātināto taukskābju skaits, SP-2560 var rasties vēlas piesātināto taukskābju un monoēnu eluēšanas pārklājuma problēma. EPA arī var izraisīt problēmas BPX-70, taču EPA noturēšanas laiki var tikt būtiski novirzīti salīdzinājumā ar izomēru 22: 1 noturēšanas laikiem, izmantojot dažādus analītiskos nosacījumus.

Ag-šķidrums hromatogrāfijas analīzei, kur cis-trans-sadale jau tiek realizēta ar šķidrums hromatogrāfijas palīdzību, interesi izraisa iespēja atdalīt pozicionālos izomērus. Izskatās, ka visās trīs kolonnās ir aptuveni vienāda spēja atdalīt monoēnu pozicionālos izomērus. PEG kolonna (kura ir īsāka par divām citām kolonnām) uzrādīja lielisku pozicionālo monoēnu atdalīšanu. Tādējādi, PEG kolonnas un citas mazāk polāras kolonnas spēj veidot lielisku papildinājumu polārākām kolonnām (arī transizomēru analīzē).

GH kolonnas izvēle – tas ir ne tikai jautājums par eluēšanas laiku. Jāņem vērā tādi parametri, kā temperatūras robežas, kolonnas patēriņš, kolonnas efektivitāte (mērīta kā plākšņu skaits vai Trennzahl). Kolonnas efektivitātei (plākšņu skaits uz metru) ir tendence samazināties, palielinot stacionārās fāzes polaritāti. Tādējādi, izvēlīguma pastiprināšana, kura dažreiz tiek sasniegta palielinot kolonnu polaritāti, var tikt zaudēta kolonnu efektivitātes sarukšanas dēļ. Kolonnas notekai, kurai jābūt minimālai, izmantojot MS detektoru, arī ir tendence samazināties, palielinot polaritāti. Jāizmanto mazāk polāra kolonna, kuru var pielietot, lai atrisinātu konkrētu problēmu.

GH-IR analīzei tika izvēlēta kolonna PEG 30 m, CP-Wax 52 (Chrompack, Middelburga, Nīderlande). BPX-70 var būt laba alternatīva, bet tas vēl nav pētīts. GH-MS analīzei tika izvēlēta kolonna BPX-70 ar 60m garumu; to var izmantot gan nefrakcionētajiem taukiem gan augsti efektīvas šķidrums hromatogrāfijas frakcijām. Tā bija arī vienīgā polārā kolonna ar robežtemperatūrām, kas ir pietiekamas izmantošanai ar pikolinilu un DMOX garo ķēžu taukskābju atvasinājumiem. Garas PEG kolonnas, kurai būs lielāka efektivitāte, salīdzinājumā ar polārākām ciānpropila fāzēm ar vienādu garumu, izmantošana ir daudzsolāša alternatīva augstas efektivitātes šķidrums hromatogrāfijas frakciju analīzei; bet tas vēl nav pētīts.[100]

[Lielāko daļu no literatūras apskata veido Kulesha. A. 2018 gada, kursa darba “Transtaukskābju izplatība konditirejas izstrādājumos” materiāls.]

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Analīzes princips un pielietojšanas sfēra

Metode paredzēta taukskābju noteikšanai produktos.

2.2. Reāģenti

- 2.2.1 Cikloheksāns(ACS tīrības pakāpes)
- 2.2.2 Metanols (bezūdens) (ACS tīrības pakāpes)
- 2.2.3 Izooktāns(2,2,4-trimetilpentāns) (ACS tīrības pakāpes)
- 2.2.4 Dejonizēts ūdens (MilliQ attīrīšanas sistēma)
- 2.2.5 Nātrija metoksīds(97.0%)
- 2.2.6 Nātrija hlorīds (Reāģenta tīrības pakāpes)
- 2.2.7 Heksāns (ACS tīrības pakāpes)
- 2.2.8 Acetons (ACS tīrības pakāpes)

2.3. Šķīdumu pagatavošana

2.3.1. 0,5 M nātrija metoksīda šķīdums – nedaudz sildot izšķīdina 1,35g nātrija metoksīda (NaOMe) 50 mL bezūdens metanola (MeOH)

2.3.2. Piesātināts nātrija hlorīda šķīdums (40%) – 40g nātrija hlorīda (NaCl)

2.3.3 Acetona/heksāna šķīdums (1:1 v/v) – 500mL heksāna pievieno 500mL acetona.

2.4. Standartvielas un standartšķīdumi

2.4.1. 37 taukskābju metilesteru maisījums ar kopējo koncentrāciju 10 mg/mL (Supelco 37 component FAME mix) no Supelco katloga Nr.47885-U

2.4.2. Standartvielas maisījums cikloheksānā ar koncentrāciju 1mg/mL

2.5. Aparatūra un trauki

- 2.5.1 Analītiskie svāri ar precizitāti 0,001 g
- 2.5.2 Derivatizēšanas termobloks (BioSan)
- 2.5.3 Centrifūga (MSE Mistral)
- 2.5.4 Stila pudelītes 22 mL
- 2.5.5 Automātiskās pipetes ar maināmo tilpumu 200, 1000 un 5000 μ L
- 2.5.6 PP stobriņi, 15 un 50 mL
- 2.5.7 Ūdens vanna (BioSan)
- 2.5.8 Slāpekļa ietvaicēšanas sistēma
- 2.5.9 Autosamplera pudelītes
- 2.5.10 Homogenizators Vortex (Maxi Mix 2)
- 2.5.11 Mehāniskais kratītājs (Multi RS-60)

2.6. GH-LJD

Agilent gāzu hromatogrāfs (HP 6890N). Gāzu hromatogrāfijas kolonna 30m x 0,32 mm BPX70 fāzes 0,25 μm slānis.

2.7. Analīzes veikšana

- Veic tauku ekstrakciju no parauga, izmantojot acetona/heksāna 1:1 (v/v) šķīdumu. 10g parauga ekstrahē ar 20 mL 1:1 acetona/heksāna maisījuma 50 mL PP stobriņā.
- Veic parauga kratīšanu mehāniskajā kratītājā 20 min un pēc tam liek centrifūgā pie 3000 rpm 17°C uz 10 min.
- 10 mL masījuma augšējā slāņa pārnes 15 mL PP mēģenē un ietvaicē mērenā slāpekļa plūsmā ūdens vannā 55°C, iegūstot tauku ekstraktu.
- Stikla mēģenē(22 mL) pievieno 2 mL izooktāna un 100μL ietvaicētā tauku ekstrakta. Sakrata Vortex Mix aparātā.
- Analizējamajam paraugam pievieno 200 μL NaOMe šķīdumu un 2 reizes (10-15 sekundes katru reizi) sakrata Vortex Mix aparātā, starp kratīšanas reizēm pagaidot 20-60 sekundes.
- Atļauj stāvēt 1 min.
- Pievieno 2 mL NaCl (40%) un vienu reizi sakrata Vortex Mix aparātā (10-15 sekundes).
- 250 μL autosamplera pudelītēs ielej 190 μL cikloheksāna un pievieno 10 μL izooktāna ekstrakta augšējā slāņa un veic analīzes taukskābju satura noteikšanai ar gāzu hromatogrāfu.

2.8. GH-LJD analīze

Uzstāda šādus GH-LJD parametrus:

Kolonna: 30m x 0,32 mm BPX70 fāzes 0,25 μm slānis

Injekcija: 1μL

Temperatūra: LID temperatūra: 300°C

H₂ plūsma: 40 mL/min

Gaisa plūsma: 450mL/min

Injektors: 280°C(Split 10:1)

Temperatūras programma:

No temp. (°C)	Līdz temp. (°C)	Ātrums (°C/min.)	Laiks(min.)	Kopējais laiks (min.)
80	80	2	2	2
80	130	50	11	13
130	180	2	35	48

Nesējgāze: hēlijs, plūsmas ātrums = 1mL/min

2.9. Paraugi

2.1. tabula

Maizītes(smalkmaizītes) no dažādām Latvijas konditorejam.

№	Paraugu ņemšanas vietas	Veidi maizītes
1	Mego(veikals)	Maizīte ar kanēli
2	Nan Cake Brioche(Vacīja)	Maizīte
3	Rīmi Gatavo(veikals)	Kruasāns
4	Lage Gastronomija(konditoreja)	Maizīte ar biepienu
5	Narvesen (veikals)	Kruasāns ar sieru
6	Sia Nexus Idejas (konditoreja)	Kruasāns
7	Stockmann(veikals)	Mini Kruasāni
8	Chipicao 7 days (Sia)	Kruasāns ar šokolāde
9	7 days (Sia)	Kruasāns ar Hezel Nut
10	Hanzas maiznīca (Sia)	Burgeru maizītes

3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Taukskābju profila noteikšana ir svarīgākais nosacījums, kad pārtikas materiāls tiek testēts kā atbilde uz patērētāju pieprasījumu attiecībā uz tauku kvalitātes uzlabošanu uzturā. Pēdējo gadu laikā interese par diētiskiem taukiem ir augusi, pateicoties transtaukskābēm, kuras tiek ražotas hidrogenēšanas procesā, kad šķidrās eļļas tiek cietinātas. To patērēšana ir saistīta ar holesterīna līmeņa pieaugumu asins serumā un ar sirds-asinsvadu saslimšanu risku, bet to klātbūtni Latvijas smalkmaizītēs var noteikt, izmantojot gāzes hromatogrāfijas metodi.

Transtaukskābju saturs smalkmaizītēs, vērtējums % uz 100g

3.1. tabula

Atrastie transtauki nelielā smalkmaizīšu.

Parauga №	Elaidīnskābe C18:1 n9t, %	Linolelaidīnskābe C18:2 n6t, %
1	<0,1	<0,1
2	<0,1	<0,1
3	<0,1	0,4±0,1
4	<0,1	0,2±0,1
5	<0,1	<0,1
6	<0,1	0,4±0,1
7	<0,1	0,4±0,1
8	<0,1	<0,1
9	<0,1	<0,1
10	<0,1	0,5±0,1

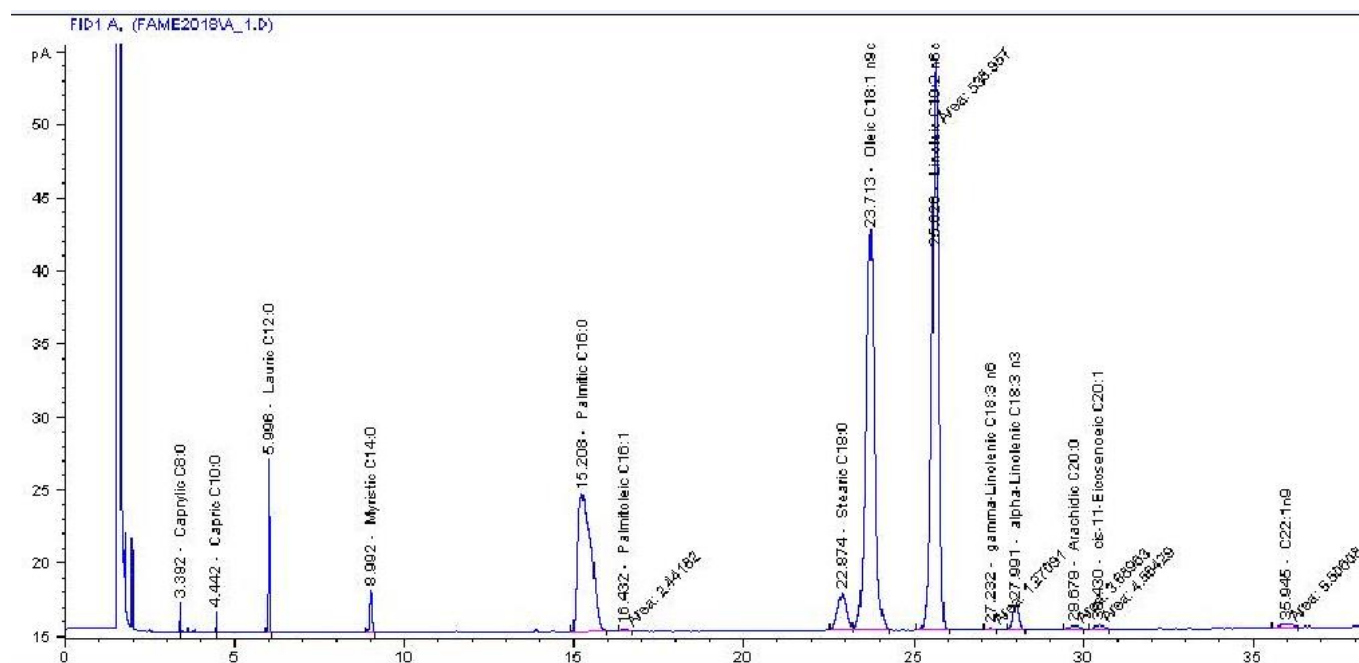
Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestāde (The European Food Safety Authority (EFSA)) ierobežo transtaukskābju saturu konditorejas produktos līdz 2%/100g.

Balstoties uz esošajiem pētījumiem, es uzzināju par kulinārās apstrādes iedarbību uz transtaukskābju satura izmaiņām smalkmaizītēs, kā atainots Tabulā 3.1. Smalkmaizītēs, kas tika izmantotas kulinārijā, ir zemākais transtaukskābju saturs. Augstas temperatūras apstrāde var izraisīt transtauku veidošanos eļļās oksidēšanās procesā. Tsuzuki et al. [63] apstiprināja būtisku transtaukskābju satura pieaugumu pārtikas eļļā cepšanas un karsēšanas procesa laikā. Kad sagriezti kartupeļi tika apcepti

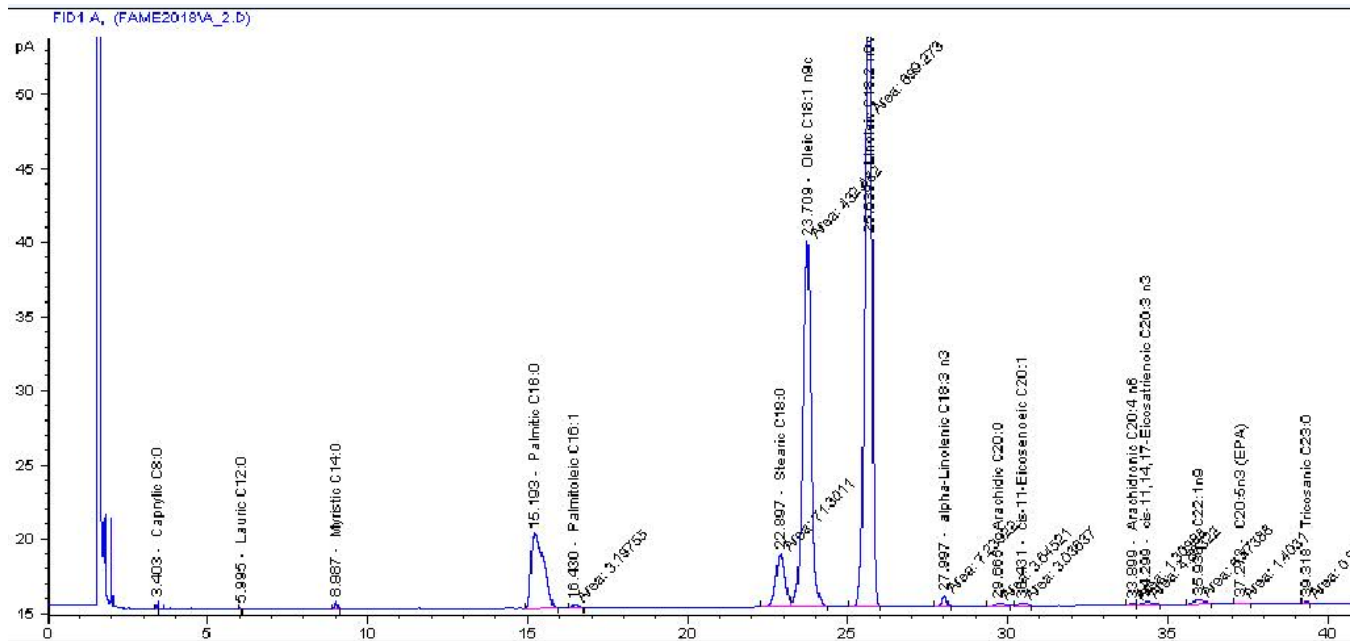
180°C temperatūrā, no cepšanas palikušajai eļļai bija augstāks transtaukskābju saturs, nekā eļļai ar vienādu karsēšanas temperatūru bez kartupeļu cepšanas. [63]

Transformēšanās no cis-konfigurācijas nepiesātinātajos lipīdos ir neizbēgama autooksidēšanās procesā, kas ir viens no svarīgākajiem lipīdu oksidēšanās mehānismiem. Autooksidēšanās ir zināma kā brīvo radikāļu ķēdes reakcija ar iniciāciju, izplatīšanos un beigu stadijām. Sākuma stadija – lipīdu radikāļu rašanās, kad no nepiesātinātā lipīda (LH) tiek zaudēts ūdeņraža atoms. Divkāršās saites cis-konfigurācijā ir nestabilas, tām ir tendence veidot trans-konfigurācijas, kas ir stabilākas, nekā cis-forma. Augstāka temperatūra paātrina oksidēšanās reakciju un tiek izstrādāts vairāk transtauku.

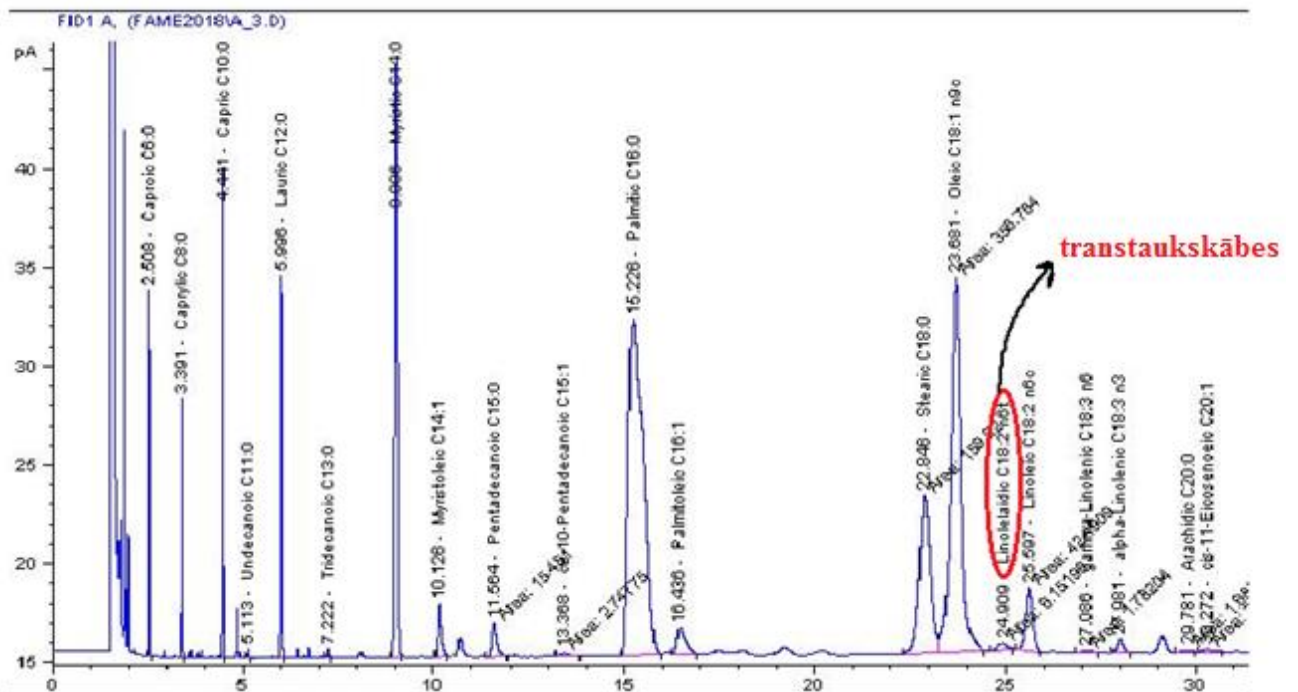
3.1. Rezultāti



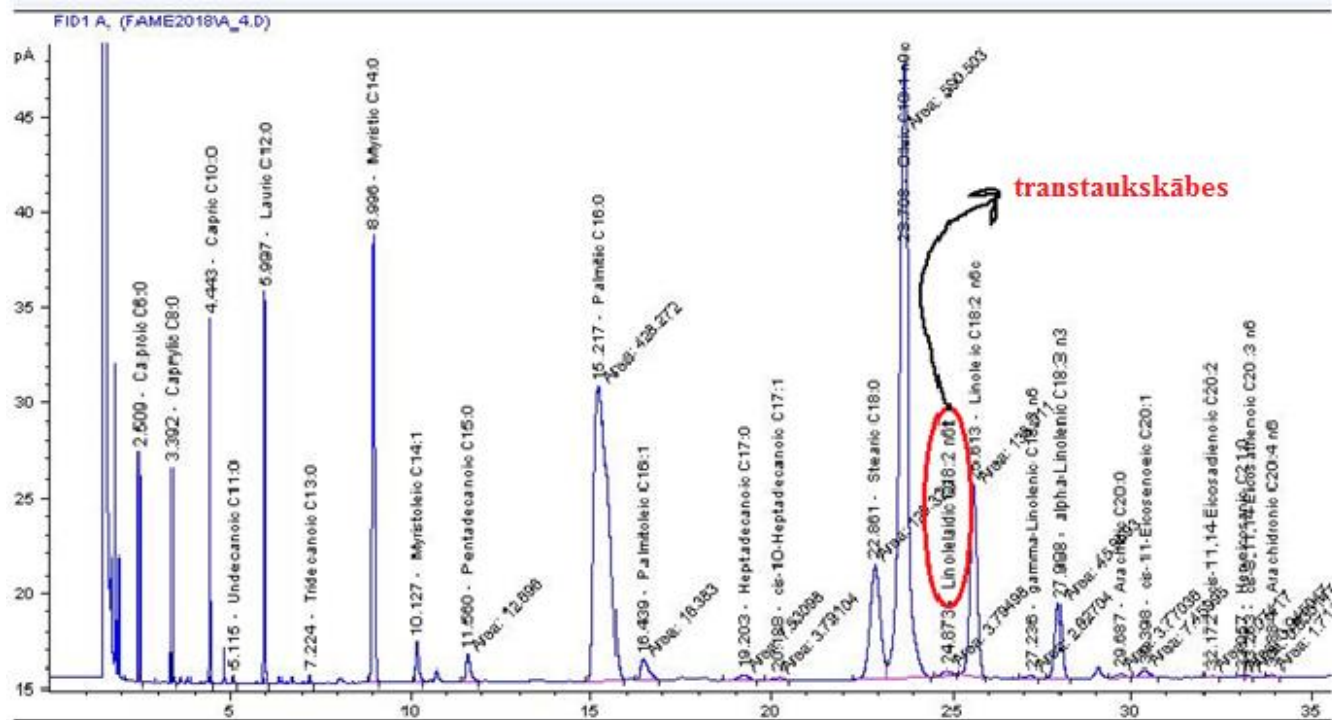
3.1. att. Mego, maizīte ar kanēli (ranstaukskābes netika konstatētas)



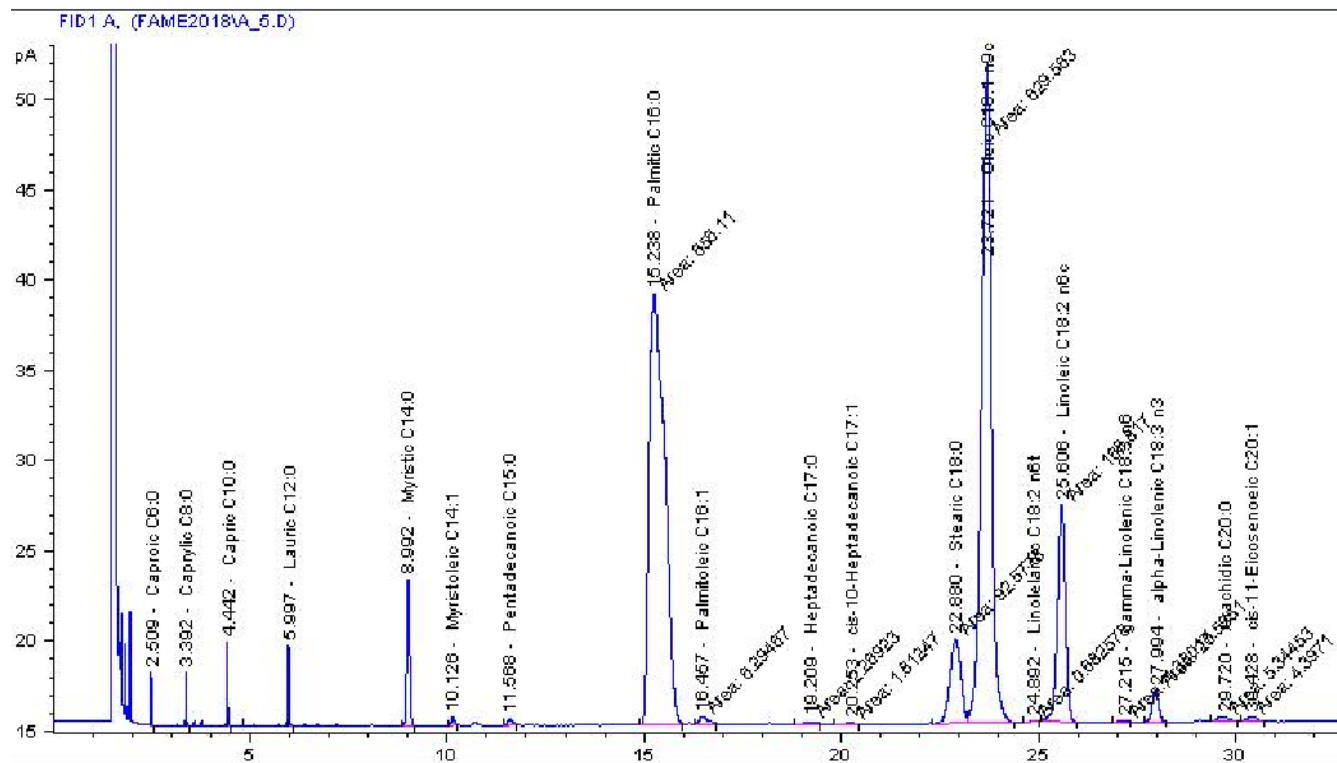
3.2.att. Nan Cake Brioche, maizīte (transtaukskābes netika konstatētas)



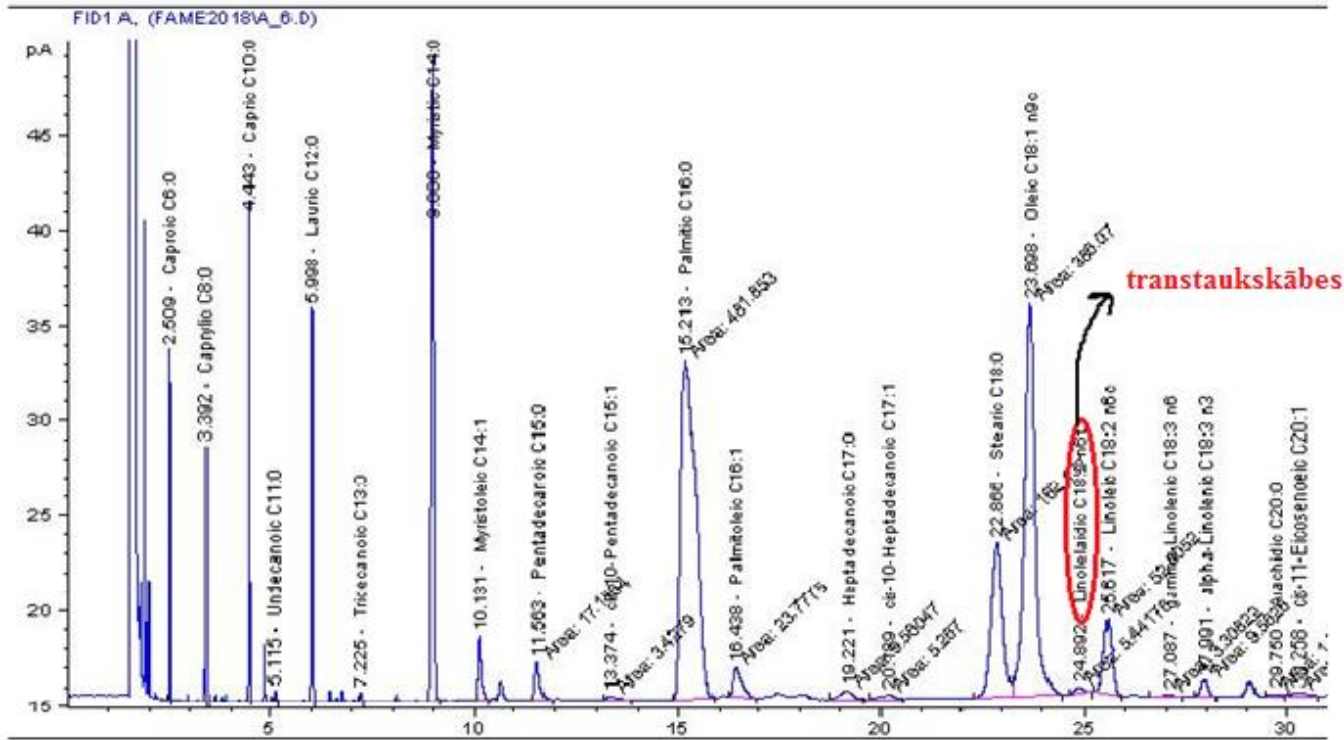
3.3. att. Rīmi Gatavo, kruasāns (ir transtaukskābes)



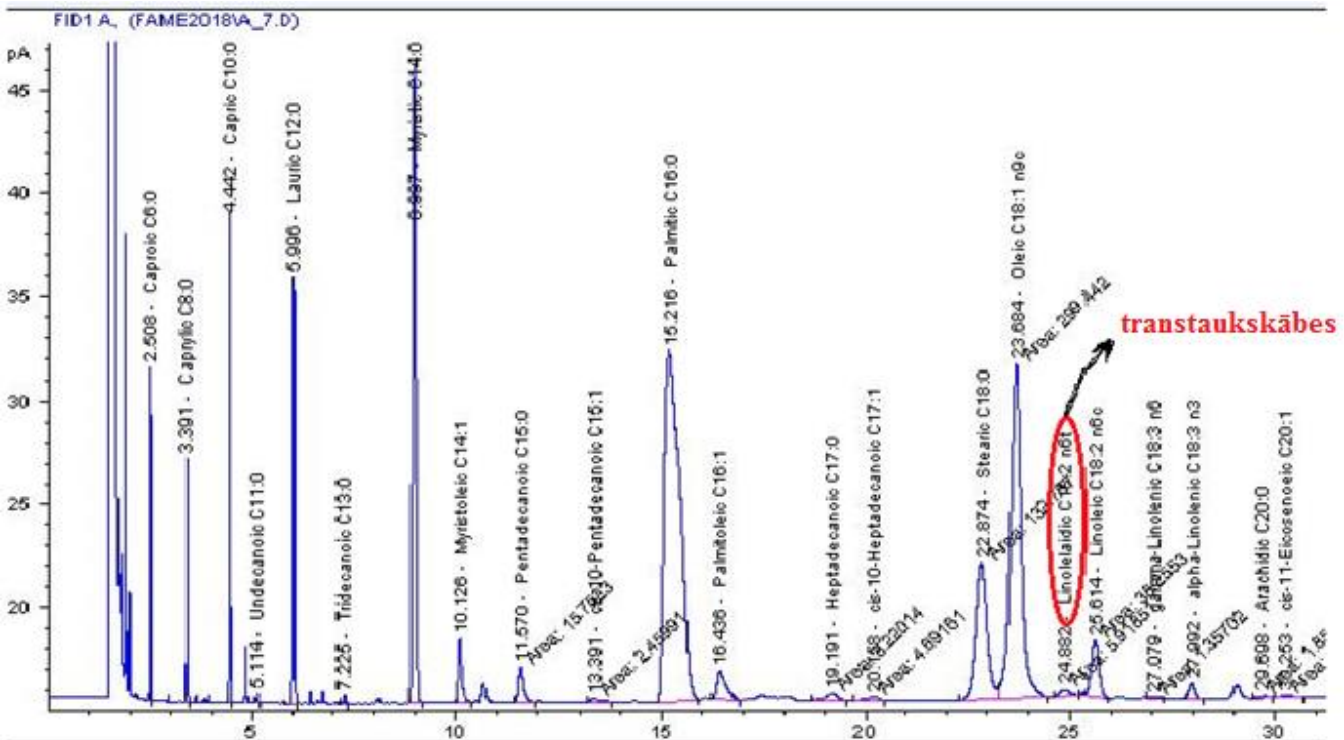
3.4. att. Lage Gastronomija, maizīte ar biepienu (ir transtaukskābes)



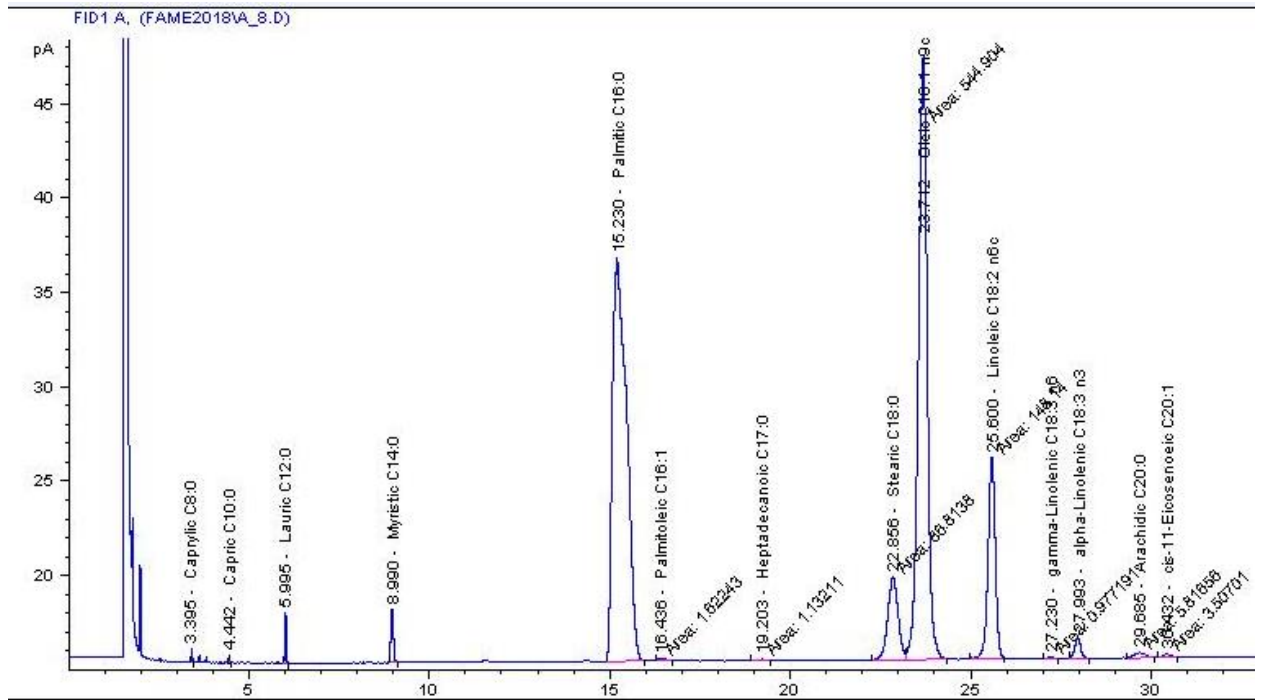
3.5. att. Narvesen, kruasāns ar sieru (transtaukskābes netika konstatētas)



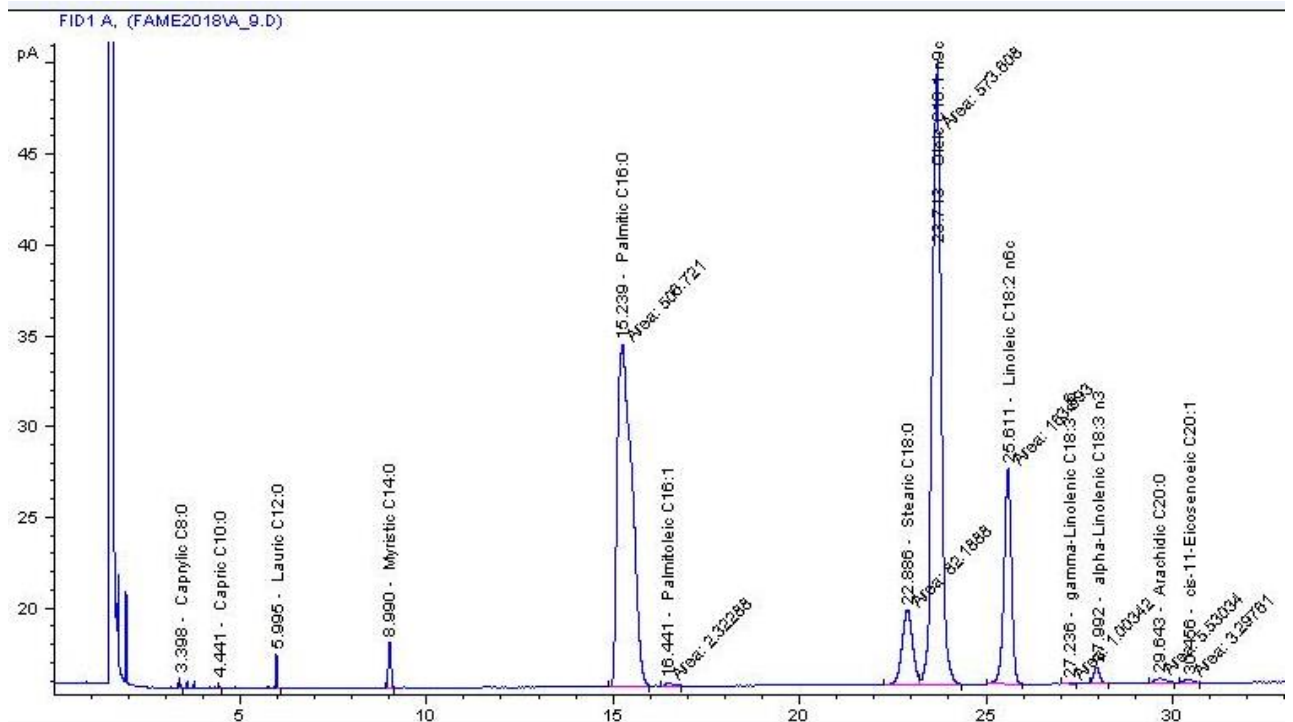
3.6. att. Sia Nexus Idejas, kruasāns (ir transtaukskābes)



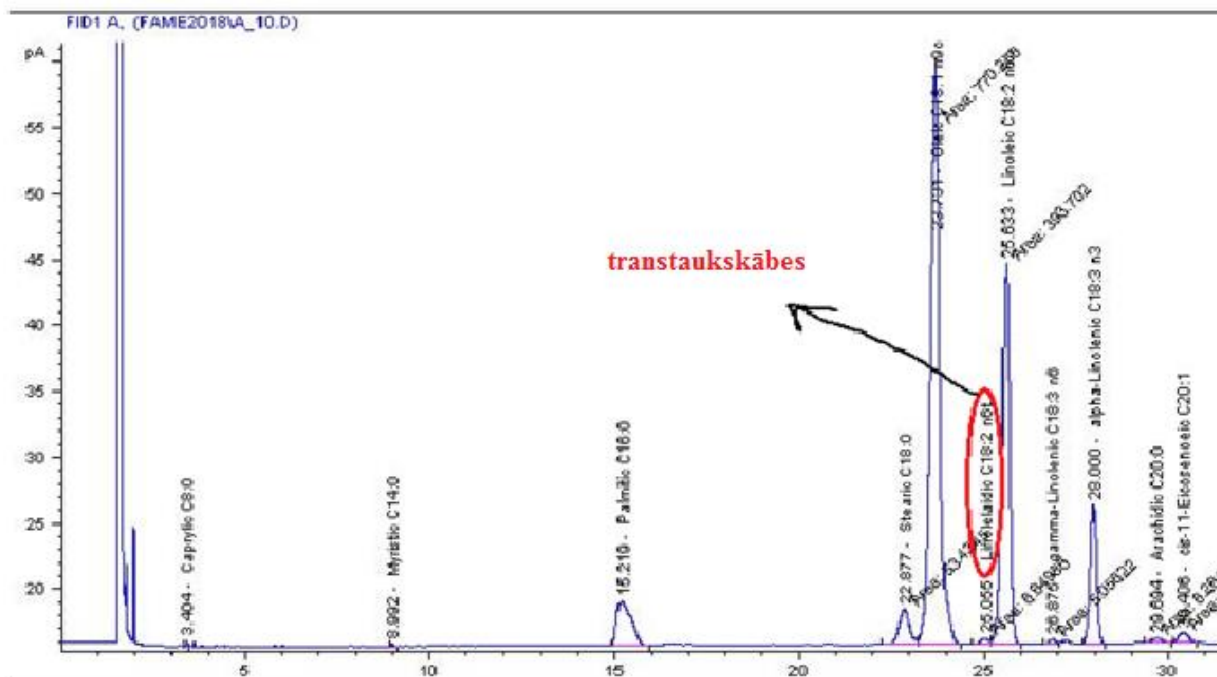
3.7. att. Stockmann, Mini kruasāni (ir transtaukskābes)



3.8. att. Chipicao 7 days, kruasāns ar šokolāde (nav transtaukskābju)



3.9. att. 7 days, kruasāns ar Hezel Nut (nav transtaukskābju)



3.10. att. Hanzas maiznīca, Burgeru maizītes (ir transtaukskābes)

Noslēdzot, var secināt GC-FID ir droša un precīza transtauku analīzes metode. Runājot par vienkāršiem kulinārās apstrādes veidiem, apcepšanas stadija var palielināt transtauku saturu pārtikas eļļās augstās temperatūras un maisīšanas dēļ, kas var paātrināt lipīdu oksidēšanās ātrumu. Šo metodiku GC-FID var izmantot jebkurā pārtikas matricā ar pienācīgām lipīdu atdalīšanas metodēm, lai skaitliski noteiktu transtauku saturu.

Transtaukskābju saturs frī kartupeļu paraugos.

Parauga Nr.	Kartupeļi frī. Nosaukums un iestādes adrese.	Elaidīnskābe C18:1 n9t, %/100g	Linolelaidīnskābe C18:2 n6t, %/100g
1	„Princess Kafejnīca”, Brīvības iela	0,095	0
2	SIA „Premier Restaurants Latvia”, „McDonalds” Spice	0,089	0
3	SIA „Group”, Brīvības 170, A.Čaka 63-20	0,122	0
4	SIA „Rimi Latvia”, Āzenes iela 5	0	0
5	SIA „Ēdienu Pilsēta”, Rīga, Cēsu iela 2-40	0	0
6	„Maxima”, Ieriķu iela 3	0,034	0
7	„Circle K”, Dunties iela 6	0,072	0
8	„Circle K”, Brīvības iela	0,062	0,038
9	„Hesburger”, Dzelzavas iela 3	0,041	0,01
10	„Turkish Kebab” ,T.c. Origo	0,251	0
11	„Latviešu Sirds Itāļu Virtuve”	0,129	0
12	„KFC”, Audēju iela 14-15	0,064	0,019
13	„Premier Restaurants Latvia”, McDonalds	0,080	0
14	„Kebab Fix”, Brīvības gatve 372	0,216	0
15	„McDonalds”, Alfa	0,105	0
16	„Olimpia”, Hesburger	0,036	0
17	SIA „Bombusa Pasaule”, Olimpia	0	0

18	„Čili pica”, Alfa	0,118	0
19	Saules „Much More Sun”	0,099	0
20	SIA „Subburger Latvija”, Mūkusalas iela 73	0,095	0
21	„Hesburger”, Valņu iela 31/33	0	0
22	„Kebab Fix”, Alfa	0,099	0
23	„Kebabs Fix”, Āzenes iela 5	0,119	0
24	„El Machete”, Olimpia	0,252	0
25	„Hesburger”, Dzelzavas iela 3	0	0
26	„Conversal City”, Cēsu iela 23-1	0,161	0

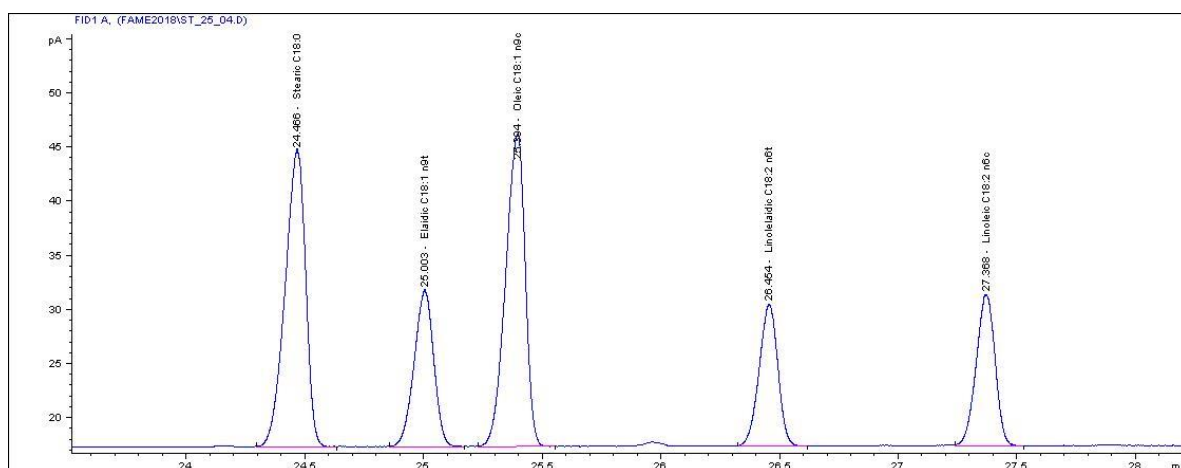
Tiek vērtēta ātrās ēdināšanas iestāžu kartupeļu frī lipīdu frakcija – tie produktu veidi, kuriem tradicionāli ir augsts transtaukskābju (TFA) saturs. Transtaukskābju dati, kas visā pasaulē tika ievākti pēdējo 20 gadu laikā liecina par to, ka dažas valstis vēl joprojām ziņo par augstu transtaukskābju saturu šajos produktos. Transtaukskābju saturs kartupeļos frī no ātrās ēdināšanas iestādēm (divdesmit seši ķēdes). Visi paraugi tika ievākti Rīga (Latvija). Kartupeļu frī lielumi sastādīja no $\leq 0,01\%$ līdz $0,25\%$. Visi paraugi nepārsniedza 2% robežu, kas vairākās Eiropas valstīs noteikta kā maksimāli pieļaujamā transtaukskābju satura robeža, un saturēja mazāk par $0,5\text{g}$ uz porciju, tāpēc tos varēja uzskatīt arī par „brīviem no transtaukskābēm produktiem”. Šis darbs apstiprināja, ka transtaukskābju saturam nav būtiskas lomas divos analizētajos produktos un veicina pārtikas produktu sastāva tabulu, svarīgāko instrumentu epidemioloģiskajiem pētījumiem un pārtikas pētījumiem, atjaunošanu.

Kartupeļi frī: 26 paraugi tika iegādāti tajos pašos apstākļos, kā to dara ātrās ēdināšanas iestāžu klienti. Iestādes pieder slaveniem starptautiskiem tīkliem (šie zīmoli sastāda aptuveni 70% Latvija ātrās ēdināšanas iestāžu. Restorāni izvietoti Rīga (Latvija). Pēc iegādes tie uzreiz tika transportēti uz laboratoriju, homogenizēti un sasaldēti (-20°C) tālākai analīzei. Analīze katrā partijā tika veikta viena eksemplāros.

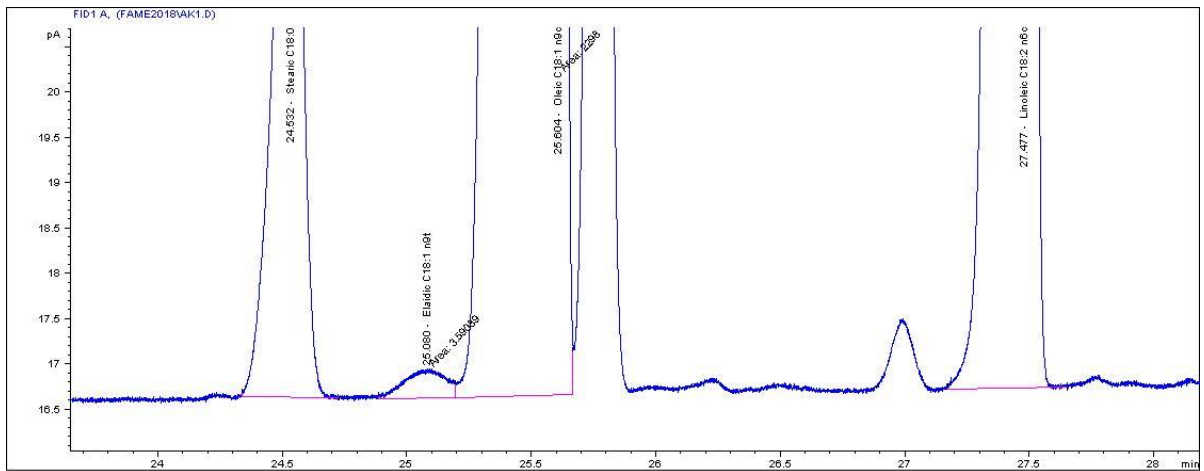
PVO informācija par transtauku patēriņu dažādās Eiropas reģiona valstīs vēl joprojām ir ļoti ierobežota, tirgū vēl joprojām ir daudz produktu ar augstu transtauku saturu [80]. Transtaukskābju saturs nav obligāti jāatbilst tabulā „Fakti par uzturu” saskaņā ar spēkā esošo Eiropas likumdošanu („Uzturvielas”, 2017, 9, 662; 4 no 20), tāpēc patērētājiem un speciālistiem, kas saistīti ar veselību, netiek sniegta informācija par transtaukskābju līmeni produktos. Tādējādi, šajā darbā tiek paziņoti atjaunoti dati par lipīdu sastāvu šīs produktos, kas ir to produktu sarakstā, kas ir pakļauti augsta transtaukskābju satura riskam [81]. Produktu tipiem kartupeļas frī lipīdu profils tika izteikts g/100g tauku, kā arī g/100g produkta, lai salīdzinātu atšķirību no iepriekšējiem pētījumiem, kā arī novērtētu transtaukskābju patēriņu diētās.

Apcepšanas process paredz eļļu un tauku degradāciju, kā rezultātā rodas daudzi transformēti taukskābju produkti, kuri tiek patērēti ar ceptu ēdienu. Sadalīšanās produktu vidū ir transtaukskābes, kas rodas divkārtšo saišu ģeometriskās izomerizācijas rezultātā [82]. Tika minēts, ka atkārtota eļļas izmantošana cepšanai divu nedēļu garumā izraisīja būtisku transtaukskābju satura pieaugumu ekstrahētās eļļās no kartupeļiem frī, kas tika iegādāti ātrās ēdināšanas restorānos [83]. Tieši tāpēc cepšanai taukvāres katlā parasti tiek izmantota hidrogenēta eļļa, jo tās lipīdi ir stabili attiecībā uz oksidācijas izmaiņām cepšanas laikā.

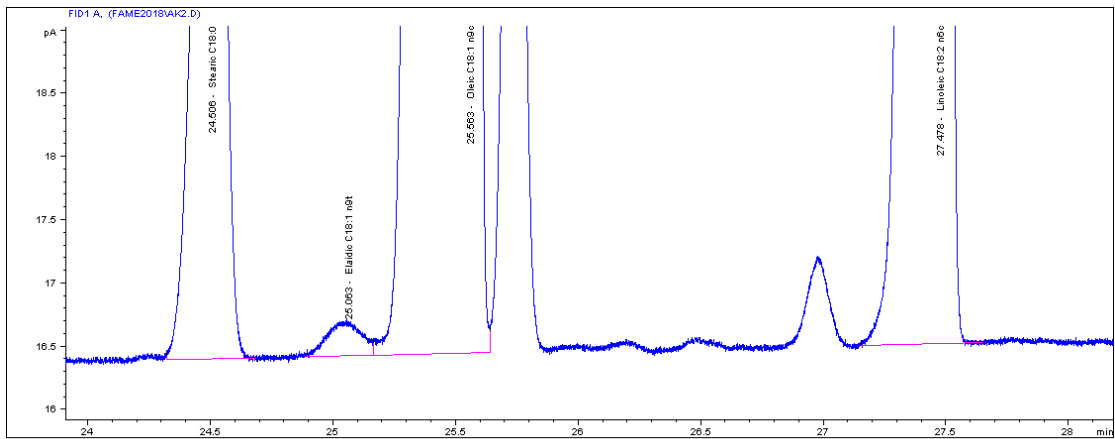
Transtaukskābju noteikšanas rezultāti kartupeļa frī.



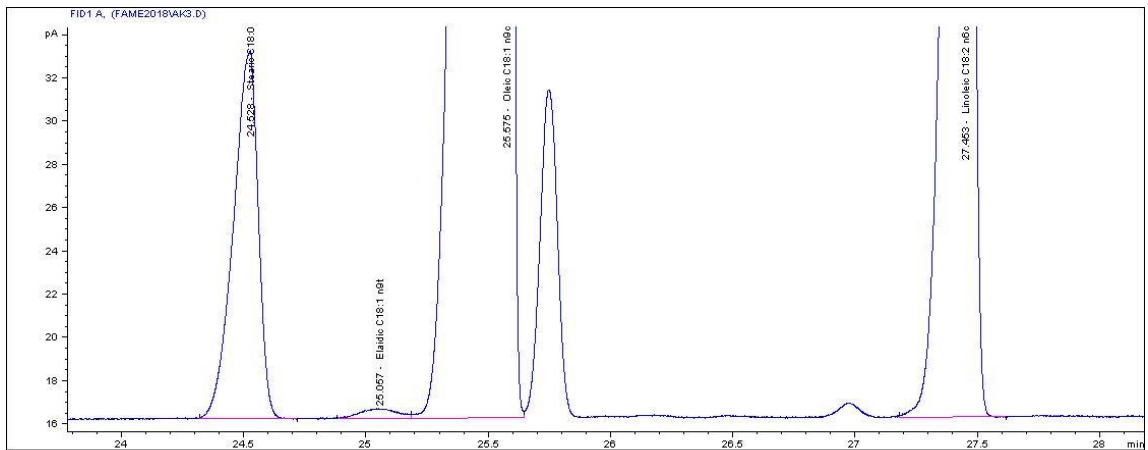
3.11.att. Transtaukskābju standartšķīduma hromatogramma



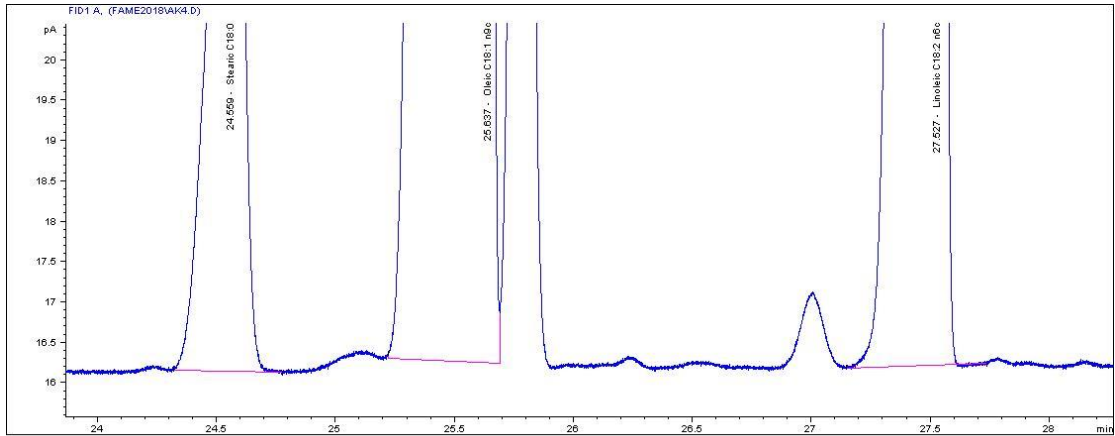
3.12.att. „Princess Kafejnīca”, Brīvības iela.(1)



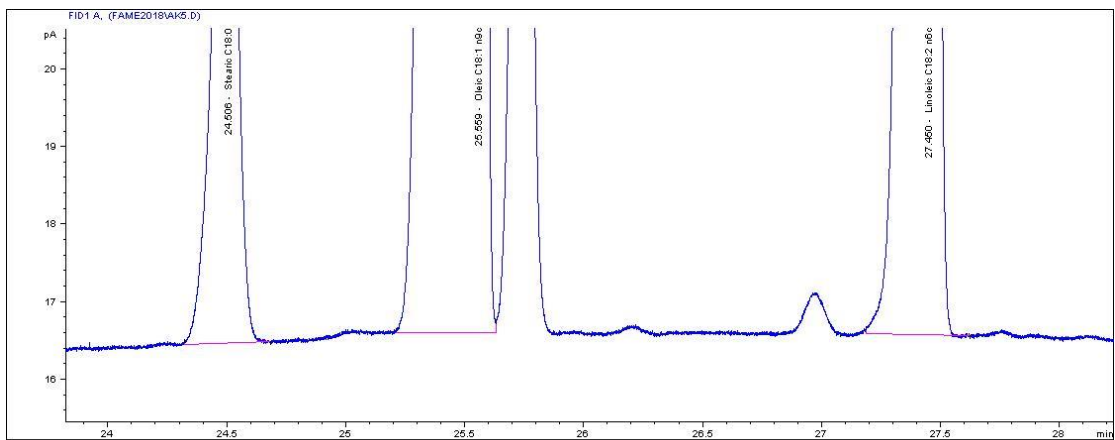
3.13.att. SIA „Premier Restaurants Latvia”, „McDonalds” Spice(2)



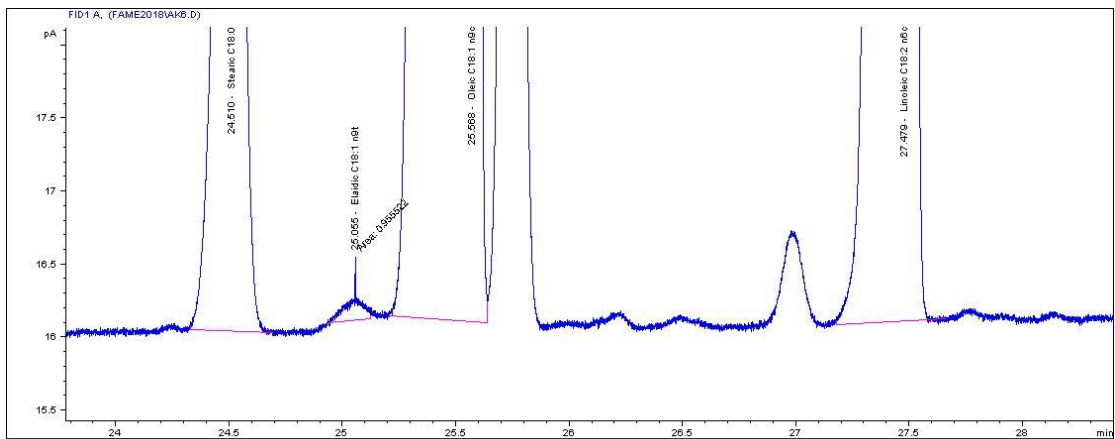
3.14.att. SIA „Group”, Brīvības 170, A.Čaka 63-20(3)



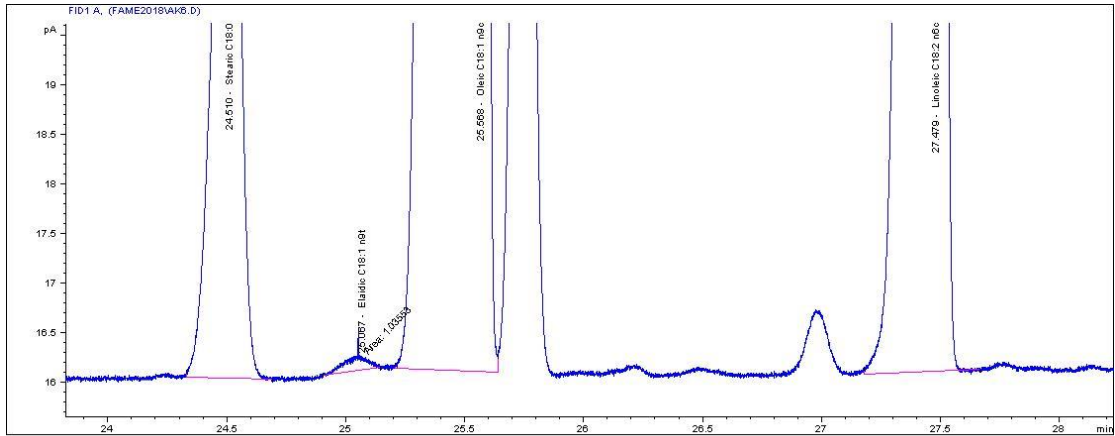
3.15.att. SIA „Rimi Latvia”, Āzenes iela 5(4)



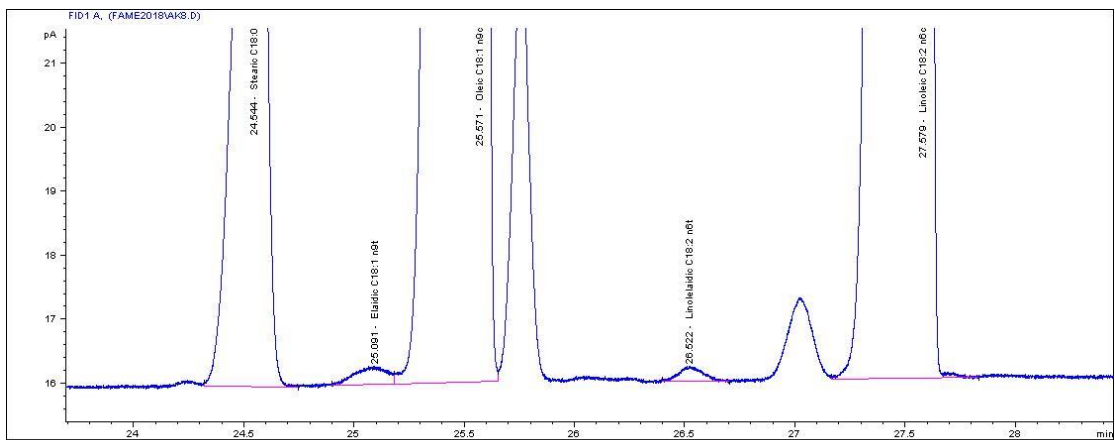
3.16.att. SIA „Ēdienu Pilsēta”, Rīga, Cēsu iela 2-40(5)



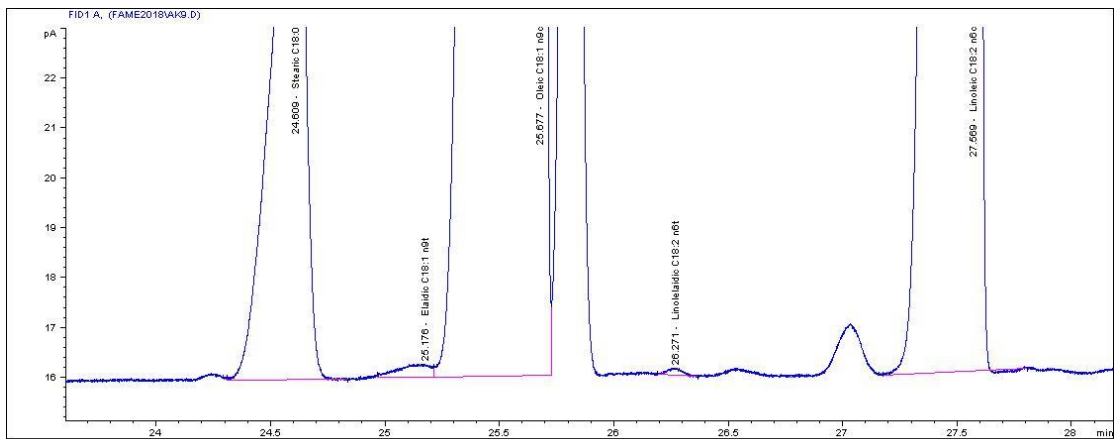
3.17.att. „Maxima”, Ieriķu iela 3(6)



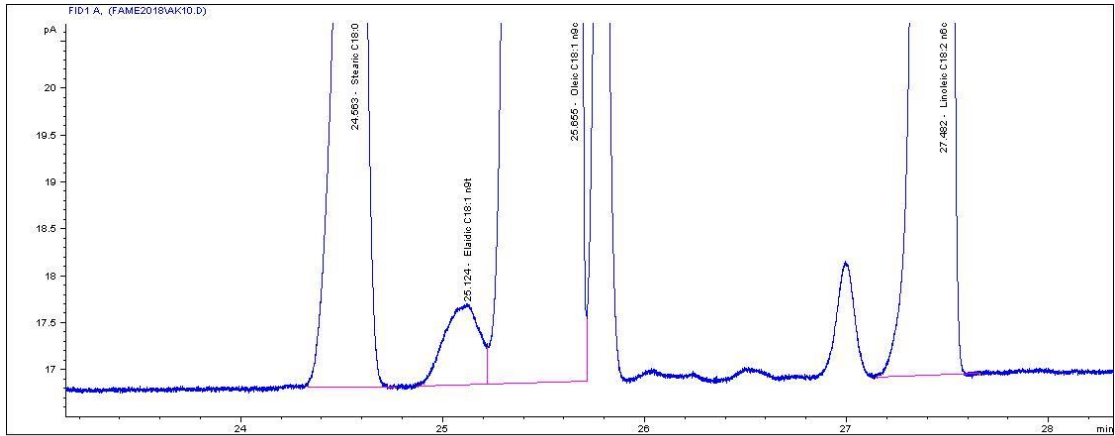
3.18.att., „Circle K”, Dunties iela 6(7)



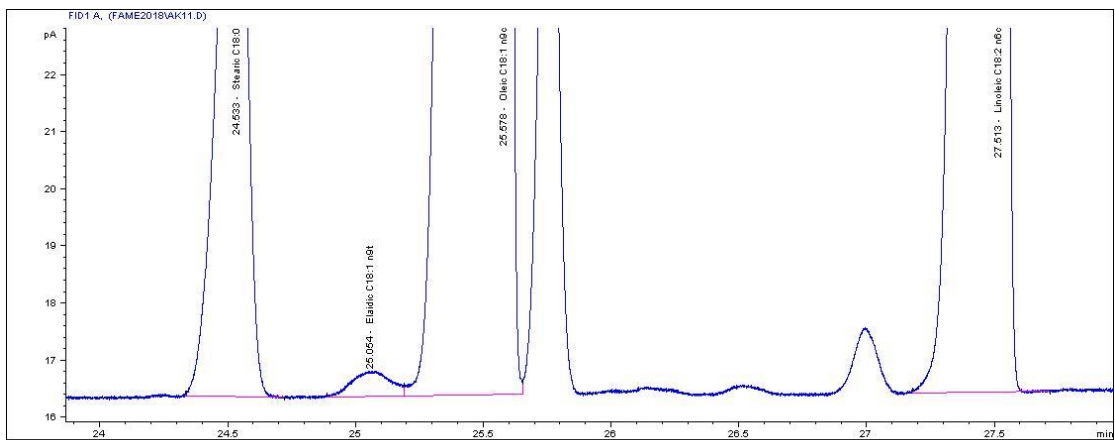
3.19.att., „Circle K”, Brīvības iela(8)



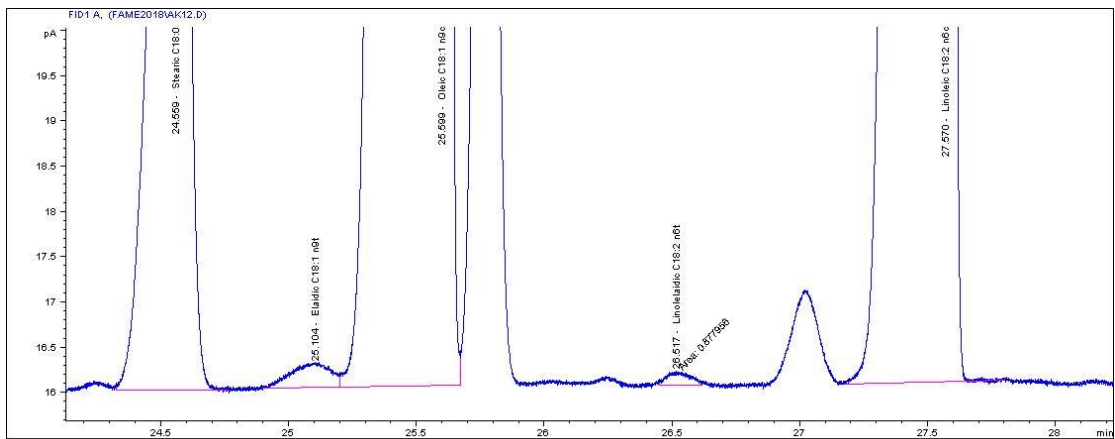
3.20.att., „Hesburger”, Dzelzavas iela 3(9)



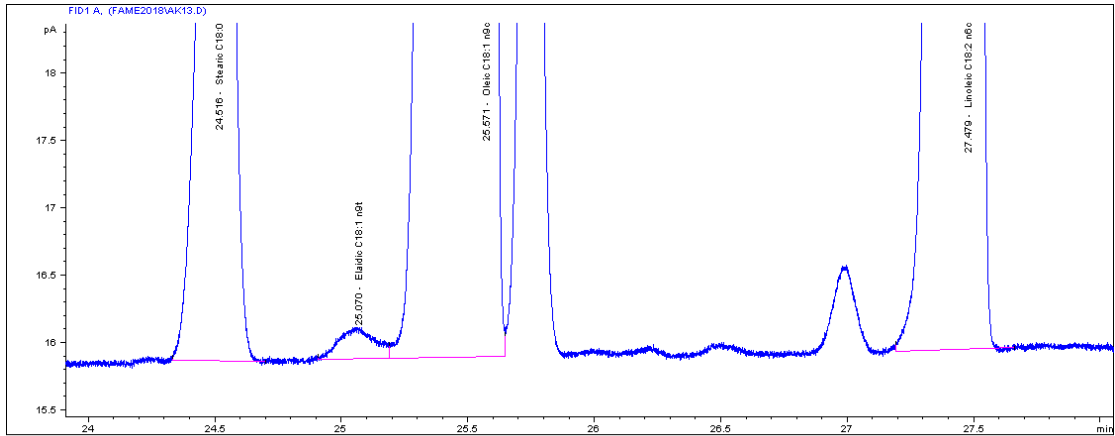
3.21.att. „Turkish Kebab” ,T.c. Origo(10)



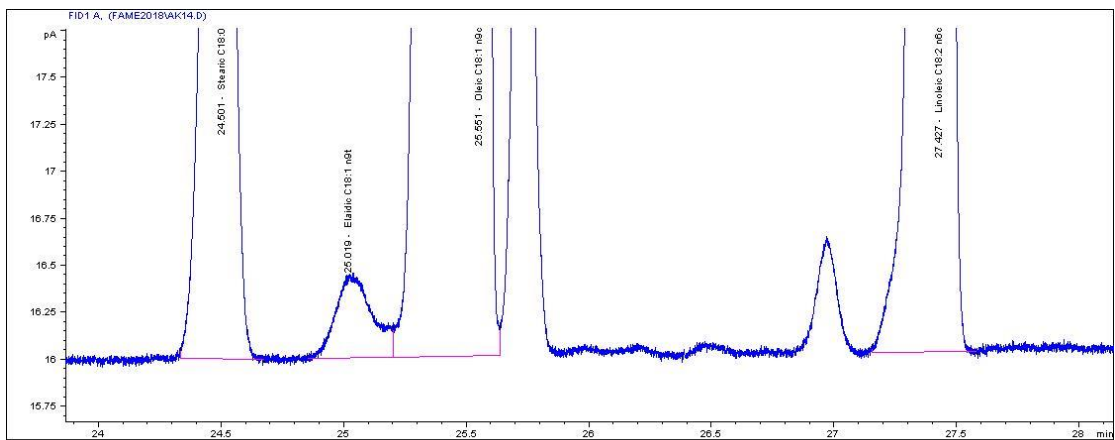
3.22.att.„Latviešu Sirds Itāļu Virtuve”(11)



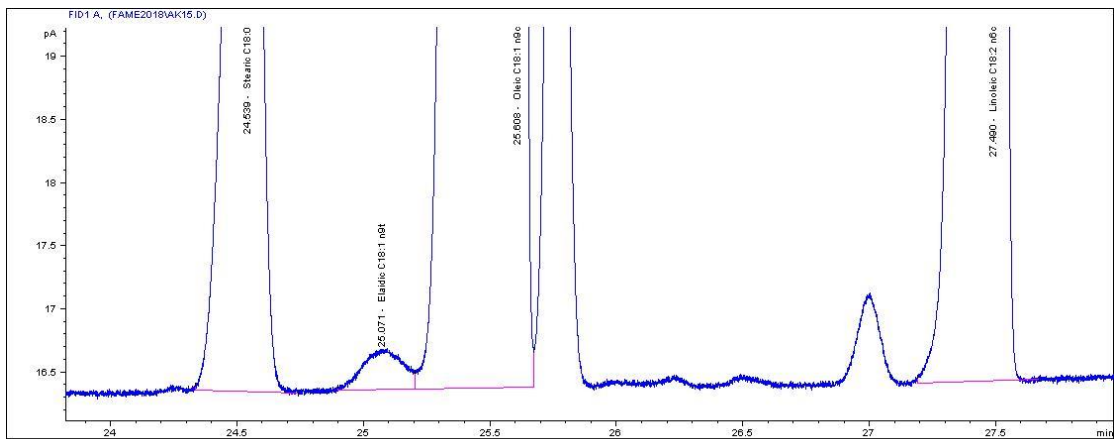
3.23.att. „KFC”, Audēju iela 14-15(12)



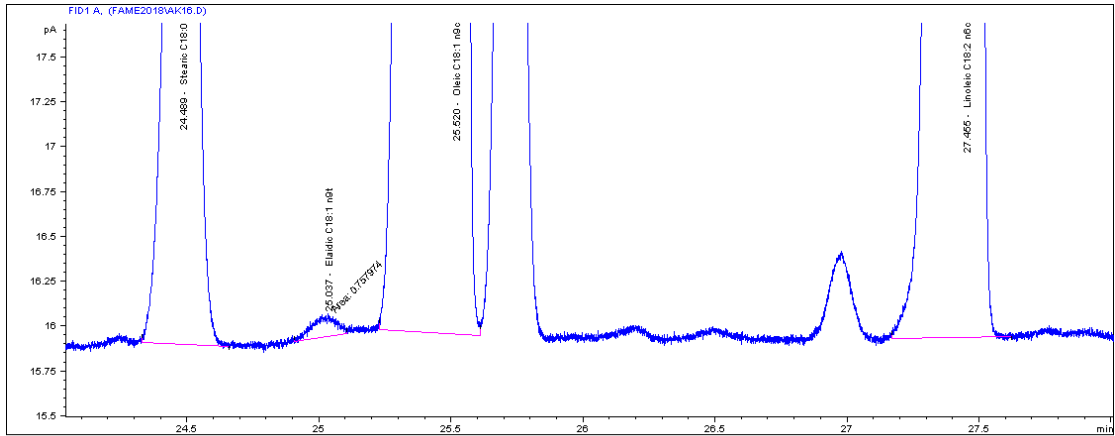
3.24.att. „Premier Restaurants Latvia”, McDonalds(13)



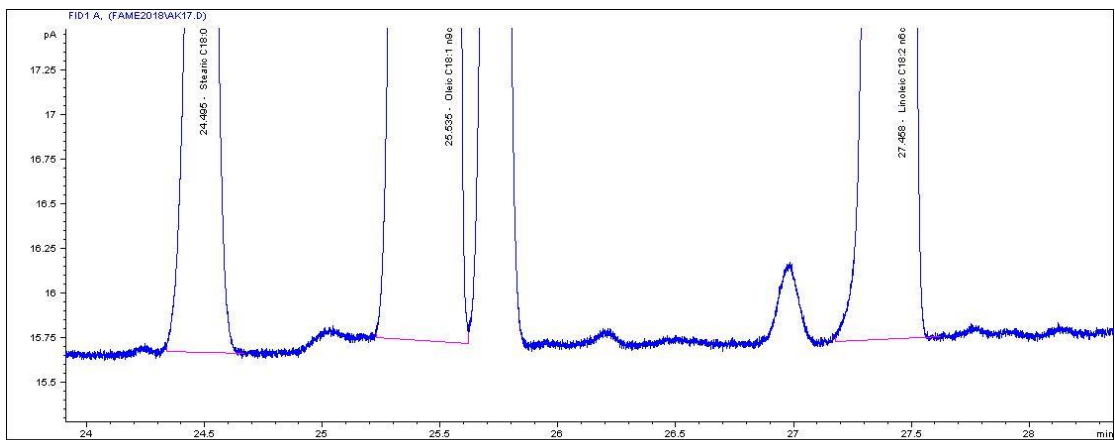
3.25.att. „Kebab Fix”, Brīvības gatve 372(14)



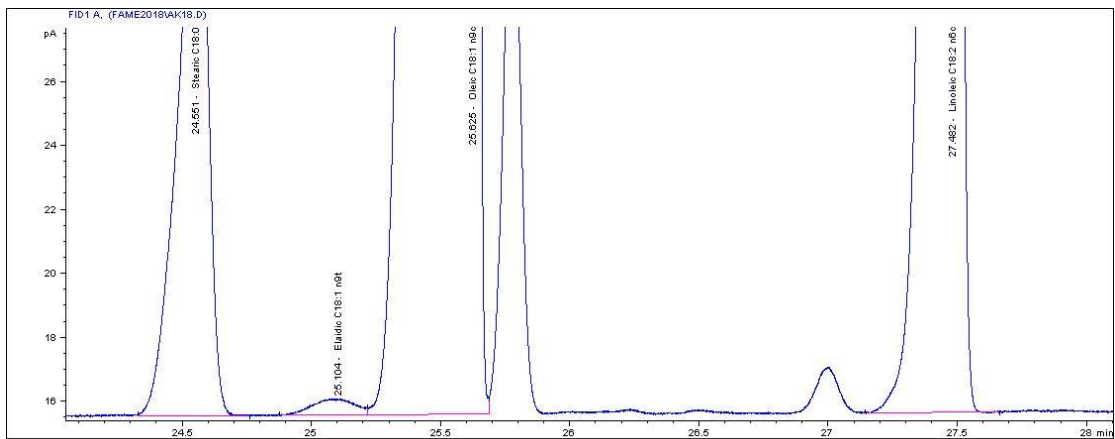
3.26.att. „McDonalds”, Alfa(15)



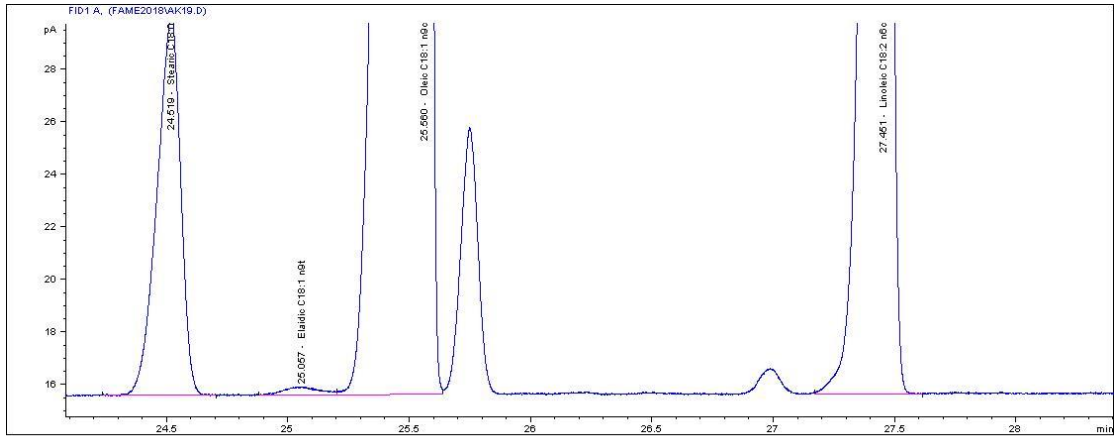
3.27.att. „Olimpia”, Hesburger(16)



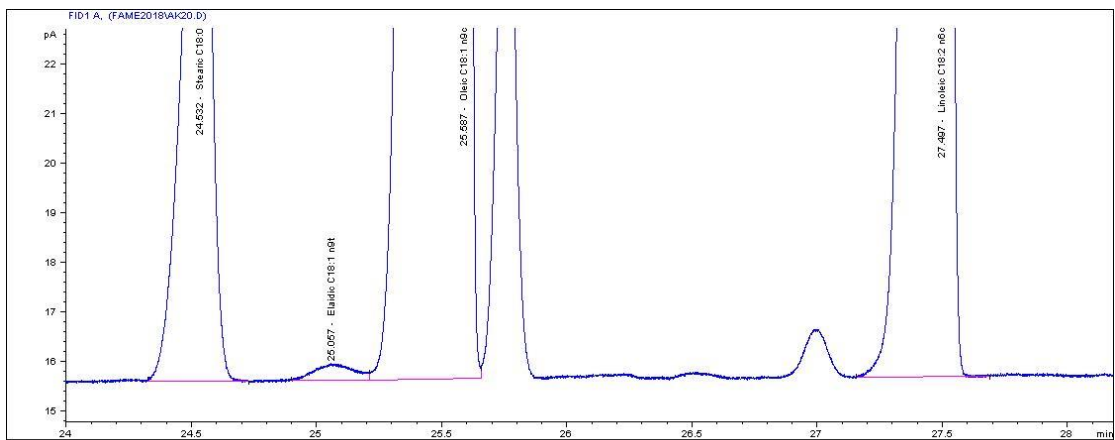
3.28.att. SIA „Bombusa Pasaule”, Olimpia(17)



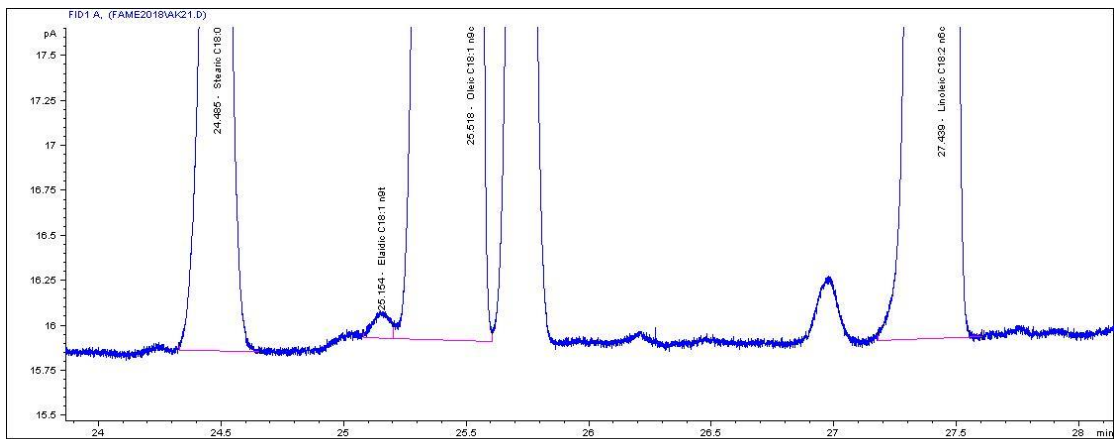
3.29.att. „Čili pica”, Alfa(18)



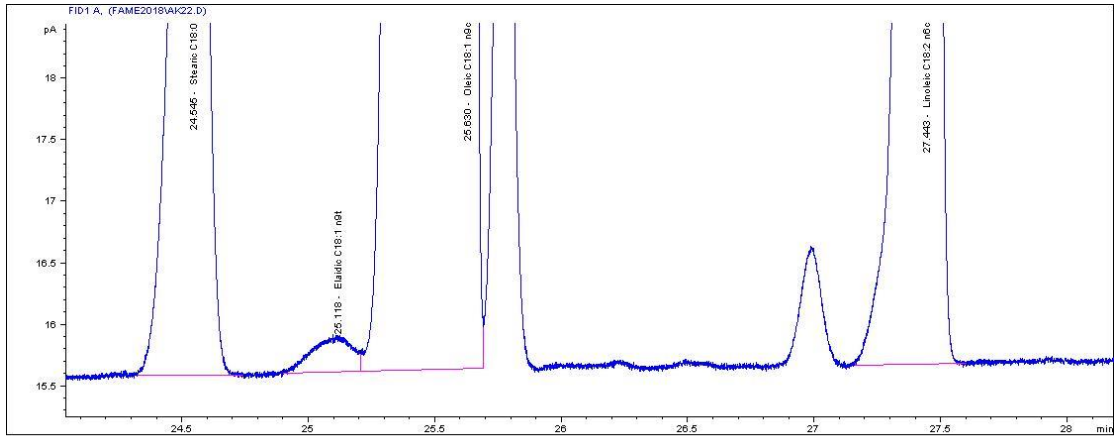
3.30.att. Saules „Much More Sun”(19)



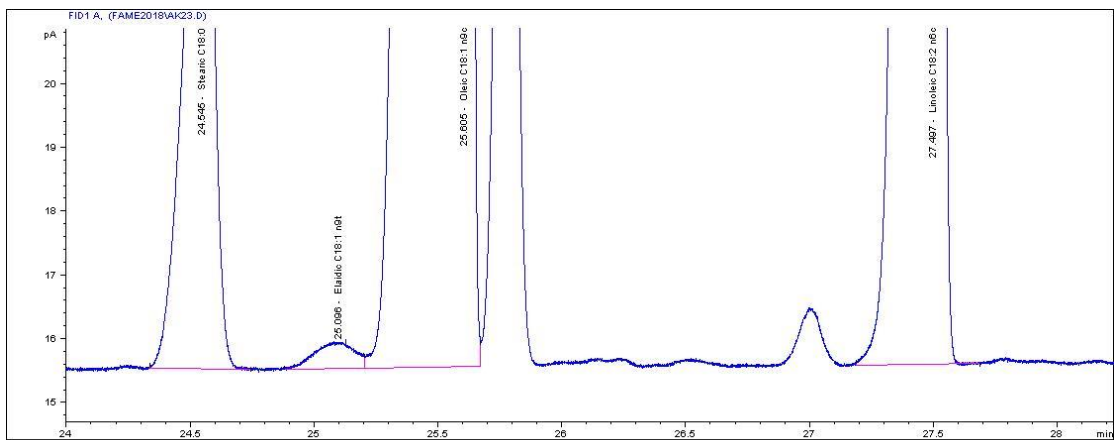
3.31.att. SIA „Subburger Latvija”, Mūkusalas iela 73 (20)



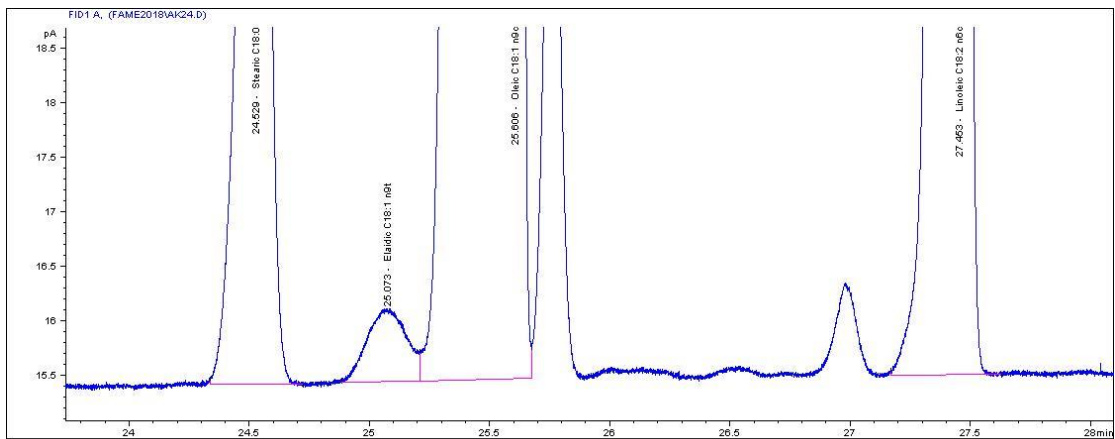
3.32.att. „Hesburger”, Valņu iela 31/33 (21)



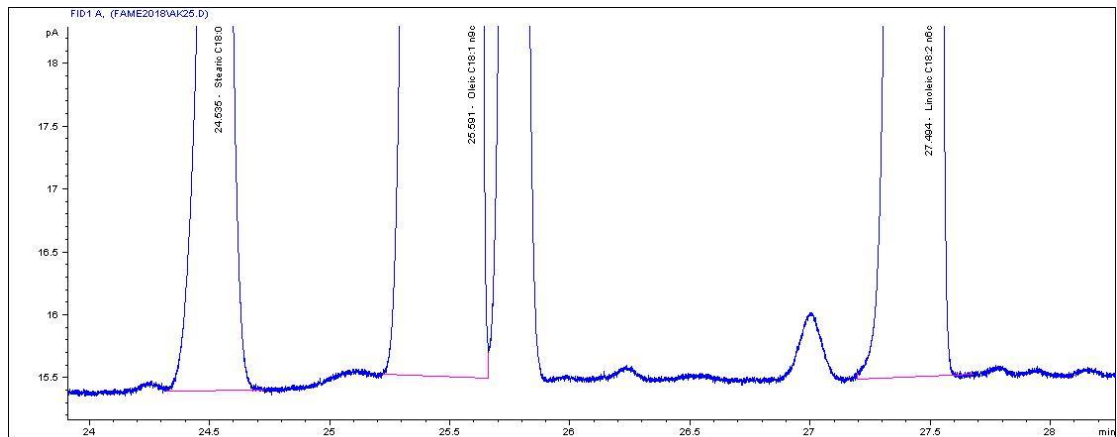
3.33.att. „Kebab Fix”, Alfa (22)



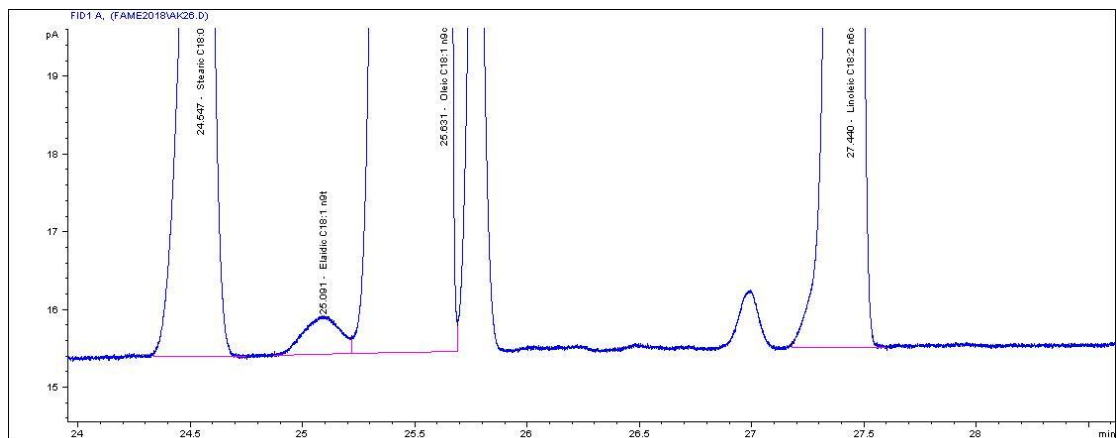
3.34.att. „Kebabs Fix”, Āzenes iela 5 (23)



3.35.att. „El Machete”, Olimpia (24)



3.36.att. „Hesburger”, Dzelzavas iela 3 (25)



3.37.att. „Conversal City”, Cēsu iela 23-1 (26)

[Daļu no eksperimentālā darba veido Kulesha. A. 2018 gada, kursa darba “Transtaukskābju izplatība konditorejas izstrādājumos” materiāls.]

SECINĀJUMI

1. Kartupeļi frī no pieciem dažādiem ātrās ēdināšanas tīkliem demonstrēja ļoti zemu transtaukskābju saturu. Margarīnu gadījumā zems transtaukskābju saturs tika sasniegts, izmantojot atbilstošus eļļas sajaukumus, bet kartupeļu frī gadījumā samazinājums bija saistīts ar augsti kvalitatīvu eļļu un cepšanas metožu, kas izraisa kopējā tauku satura samazināšanos produktā, apvienojumu.
2. Izmantojot mūsu hromatogrāfiskos nosacījumus, mēs panācām apmierinošu sadalīšanu un savienojumu identificēšanu. Ticamākais transtaukskābju avots pārtikas produktos ir daļēji hidratētas augu eļļas. Rezultāti, kas tika iegūti no komerciāliem Latvijas pārtikas produktiem, demonstrē mazu transtaukskābju satura mainīgumu (% no kopējā taukskābju apjoma): no 0,01% līdz 0,25% kartupeļos frī. Transtauku patēriņu Latvija var uzskatīt par zemu salīdzinājumā ar citu valstu datiem, taču pieprasījums pēc apstrādātiem taukiem un eļļām pastāvīgi aug.
3. Pētījums parādīja, ka konditorijā biežāk atrodas transtaukskābe linolelaidīnskābe C18:2.
4. Pētījums parādīja, ka kartupeļos frī biežāk atrodas transtaukskābe elaidīnskābe C18:1.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Aro A, Jauhiainen M, Partanen R, Salminen I, Mutanen M. Stearic acid, trans fatty acids, and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein (a), and lipid transfer proteins in health subjects. *Am J Clin Nutr.* **1997**, 65:1419–1426.
2. Martin, C. A.; Milinsk, M. C.; Visentainer, J. V.; Matsushita, M.; De-Souza, N. E. "Trans fatty acid-forming processes in foods: A review". *Anais da Academia Brasileira de Ciencias.* **2007**, 79 (2): 343–350.
3. Elias SL, Innis SM. Infant plasma trans, n-6, and n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation, and birth weight and length. *Am J Clin Nutr.* **2001**, 73:807–814.
4. Innis, Sheila M & King, D Janette. "trans fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential all-cis n-6 and n-3 fatty acids and determine trans, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants". *American Journal of Clinical Nutrition.* **1999**, 70 (3): 383–390.
5. Adlof, R.O., Separation of cis and trans fatty acid methyl esters by silver ion HPLC. *J. Chromatogr. A.*,**1994**, 659, 95-99.
6. Aro A., Kosmeijer-Schuil T., Van De Bovenkamp P., Hulshof P., Zock P., Katan M.B., Analyses of C18:1 cis and trans fatty acid isomers by the combination of Gas-liquid Chromatography of 4,4 -Dimethyloxazoline derivatives and methyl esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1998**, 75, 977- 985.
7. Tricon S, Burdge GC, Kew S, et al. "Opposing effects of cis-9,trans-11 and trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in most healthy humans". *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, 80 (3): 614–20.
8. St-Onge M.P., Jones P.J.H., Physiological effect of medium-chain triglycerides: Potential agents in the prevention of obesity. *J. Nutr.*, **2002**, 132, 329-332.
9. Kummerow FA1, Zhou Q, Mahfouz MM, Smiricky MR, Grieshop CM, Schaeffer DJ . "Trans fatty acids in hydrogenated fat inhibited the synthesis of the polyunsaturated fatty acids in the phospholipid of arterial cells". *Life Sci.* **2004**, 74 (22): 2707–23.

10. "Section 7: Biochemistry". Handbook of chemistry and physics. 2007–2008 (88th ed.). Taylor and Francis. Retrieved 19 November 2007.
11. Christie W.W In., Sebedio J.L., Christie W.W., Adolf R., editors., Advances in conjugated linoleic acid research. Vol. 2, AOAC Press, Champaign (IL), **2003**, 1-36.
12. Department of Health and Human Services, American Food and Drug Administration: Final rule on trans fatty acids and nutrition labeling. [On line]. Available: <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/fr03711a.html>. [**2006**, November 10].
13. Sanders T.A., Oakley F.R., Miller G.J., Mitropolis K.A., Crook D., Oliver M.F., Influence of n-6 versus n-3 polyunsaturated fatty acids in diets low in saturated fatty acids on lipoproteins and haemostatic factors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **1997**, 17, 3449-3460.
14. Belluzzi A., Brignola C., Campeiri M., Pera A., Boschi S., Miglioli M., Effect of an enteric-coated fish oil preparation on relapses in Crohn's disease. *N. Engl. J. Med.*, **1996**, 334, 1557- 1560.
15. Maria; Tarrago-Trani, Teresa; Phillips, Katherine M.; Lemar, Linda E.; Holden, Joanne M. "New and Existing Oils and Fats Used in Products with Reduced Trans-Fatty Acid Content". *Journal of the American Dietetic Association*. **2006**, 106: 867–880.
16. Semma M., Trans fatty acids: Properties, Benefits and Risks. *J. Health Sci.*, **2002**, 48, 7- 13.
17. Kepler C., Hirons K., Mc Neill J., Tove S., Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.*, **1966**, 241, 1350- 1354.
18. Mackie R, White B, Bryant M. Lipid metabolism in anaerobic systems. *CRC. Crit. Rev. Microbiol.*, **1991**, 17, 449-478.
19. Hay J.D., Morrison W.R., Isomeric monoenoic fatty acids in bovine milk fat. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1970**, 202, 237-243.
20. Belury M.A., Not all trans fatty acids are alike: what consumers may lose when we oversimplify nutritional facts. *J. Am. Diet. Assoc.*, **2002**, 102 (11), 1606-1607.

21. Willet W.C., Stampfer M.J., Manson J.E., Colditz G.A., Speizer F.E., Sampson L.A., Henneken C.H., **1995**, Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. *Lancet*, 341, 581-585.
22. Keweloh H., Heipieper H.J., Trans unsaturated fatty acids in bacteria. *Lipids*, **1996**, 31, 129- 137.
23. Lamberto M., Ackman R., Confirmation by gas chromatography/mass spectrometry of two unusual trans-3-monoethylenic fatty acids from the Nova Scotia seaweeds *Palmaria palmata* and *Chororidrus crispus*. *Lipids*, **1994**, 29, 441-444.
24. Scimeca J.A., Miller G.D., Potential health benefits of conjugated linoleic acid. *J. Am. Coll. Nutr.*, **2000**, 9(4), 470s-471s.
25. Nicolosi R.J., Rogers E.J., Kritchevsky D., Scimeca J.A., Huth P.J., Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early arteriosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery*, **1997**, 22, 266-277.
26. Ip C., Scimeca J.A., Thompson H.J., Conjugated linoleic acid. A powerful anticarcinogen from animal fat source. *Cancer*, **1994**, 74, 1050-1054.
27. Parodi P.W., Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J. Nutr.*, **1997**, 127, 1055-1060.
28. Dutton H.J., Hydrogenation of fats and its significance. In: Eraken E.A., Dutton H.J., Geometrical and positional fatty acid isomers. Champaign, IL: American Oil Chemists Society, **1997**, 1-16.
29. Almendingen K., Jordal O., Kierulf P., Sandstad B., Pedersen J., Effects of partially hydrogenated fish oil, partially hydrogenated soybean oil and butter on serum lipoproteins and Lp(a) in men. *J. Lipid Res.*, **1995**, 36, 1370-1384.
30. Vidgren H.M., Louheranta A.M., Agren J.J., Schwab U.S., Uusitupa M.I.J., Divergent incorporation of dietary trans fatty acids in different serum lipid fractions. *Lipids*, **1998**, 33, 855- 962.
31. Ascherio A., Willet W.C., Health effect of trans fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.*, **1997**, 66, 1006-1010.
32. Technical Committee of the Institute of Shortening and Edible Oils, Inc., *Food Fats and Oils*. Ninth Edition. Institute of Shortening and Edible Oils. Washington, DC 20006. [On line]. Available: <http://www.iseo.org/FoodFatsOils2006.pdf>. [**2006**, November 10].

33. Paterson H.B., Hydrogenation of fats and oils. AOCS Press: Champaign, Illinois. **1996**
34. Oslund-Lingvist A., Albanus L., Croon L., Effect of dietary trans-fatty acids on microsomal enzymes and membranes. *Lipids*, **1985**, 20, 620-624.
35. Perkin E.G, Analyses of fats, oils and lipoproteins. AOCS Press: Champaign, Illinois. **1991**
36. NutritionData, Fatty Acids [On line]. Available: <http://www.nutritiondata.com/fatty-acids.html>. [**2006**, November 13].
37. U.S. Department of Agriculture, U.S. Department of Health and Human Services. Dietary Guidelines for Americans. 7th Edition . Washington, DC: U.S. Government Printing Office; **2010** (<http://www.health.gov/dietaryguidelines/dga2010/DietaryGuidelines2010.pdf> , accessed 12 March 2015)
38. Mozaffarian D, Aro A, Willett WC. Health effects of trans fatty acids: experimental and observational evidence. *European Journal of Clinical Nutrition*.**2009**;63(S2):S5–S21 (<http://www.nature.com/ejcn/journal/v63/n2s/pdf/1602973a.pdf>, accessed 12 March 2015).
39. Stender S, Dyerberg J, Bysted A, Leth T, Astrup A. A trans world journey. *Atherosclerosis Supplements*. **2006** May;7(2):47–52.
40. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*. **2010**;8(3):1461–568 (<http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/1461.htm>, accessed 11 March 2015).
41. Stender S, Astrup A, Dyerberg J. Ruminant and industrially produced trans fatty acids: health aspects. *Food and Nutrition Research*. **2008**;52 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2596737/>, accessed 11 March 2015).
42. Duchateau G.S.M.J.E., Van Oosten H.J., Vasconcellos M.A., Analyses of cis and trans fatty acid isomers in hydrogenated and refined vegetable oils by capillary Gas Liquid chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1996**, 60, 1788-1793.
43. Ulbrecht F., Henninger M., Quantitation of trans-fatty acids in milk fat using spectroscopic and chromatographic methods. *J. Dairy Res.*, **1994**, 61, 517-527.

44. Ulbrecht F., Henninger M., estimation of trans fatty acidic content of edible oils and fats: an overview of analytical methods. *Eur. J. Med. Res.*, 1, **1996**, 94-99.
45. Ledoux M., Laloux L., Wolff R.L., Analytical methods for determination of trans -C18 fatty acid isomers in milk fat. A review. *Analisis*, **2000**, 28, 402-412.
46. Precht D., Molkenntin J., Effect of feeding on conjugated cis D9, trans D11-octadecadienoic acid and other isomers of linoleic acid in bovine milk fats. *Nahrung*, **1997**, 41, 330- 335.
47. Juanèda P., Utilization of reverse-phase high-performance liquid chromatography as an alternative to silver-ion chromatography for the separation of cis and trans C18:1 fatty acid isomers. *J. Chromatogr. A.*, **2002**, 954, 285-289.
48. Adlof, R.O., Separation of cis and trans fatty acid methyl esters by silver ion HPLC. *J. Chromatogr. A.*, **1994**, 659, 95-99.
49. Christie WW., *Gas chromatography and lipids. A practical guide.* The oily press. AYR, Scotland. **1989**.
50. Stoffel W., Wu F., Ahrens E.H., Analyses of long chain fatty acids by Gas-Liquid Chromatography. *Anal. Chem.*, **1959**, 31, 307-308.
51. 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. Am. Oil Chem. Soc.*, **1995**, 72, 259-272.
52. Wolff R.L., Bayard C.C., Improvement in the resolution of individual trans-18:1 isomers by capillary gas-liquid chromatography - use of a 100m CP-Sil 88 column. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **1995**, 72, 1197-1201.
53. Thompson R.H., Direct measurement of total trans- and cis-octadecenoic fatty acids based on a gas-liquid chromatographic class separation of trans-18:1 and cis-18:1 fatty acid methyl esters. *J. Chromatogr. Sci.*, **1997**, 35, 536-544.
54. Berdeaux O., Juaneda P., Sebedio J.L., Analysis of conjugated and trans fatty acids after derivatization. *Analisis*, **1998**, 26, M45-M51.
55. Molkenntin J., Precht D., Optimized analyses of trans octadecenoic acids in edible fats. *Chromatographia*, **1995**, 41, 267-272.
56. Parodi P.W., Composition and structure of some consumer available edible fats. *Ibid*, **1976**, 53, 530-534.

57. Parodi P.W., Distribution of isomeric octadecenoic fatty acids in milk fat. *J. Dairy Sci.*, **1976**, 50, 1870-1873.
58. Christie W.W., (ed.) *Advances in Lipid Methodology: Preparation of lipid extracts from tissues*. Oily Press: Dundee, **1993**, 195-213.
59. Radin N.S., Extraction of tissue lipids with a solvent of low toxicity. *Methods Enzymol.*, **1981**, 72, 5-7.
60. Cabrini L., Landi L., Stefanelli C., Barzanti V., Sechi A.M., Extraction of lipids and lipophilic antioxidants from fish tissues: A comparison among different methods. *Comp. Biochem. Physiol.*, **1992**, 101B, 383-386.
61. Richardson R.K., Fong B.Y., Rowan A.M., The trans fatty acid content of fats in some manufactured foods commonly available in New Zealand. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, **1997**, 6(4), 239- 245.
62. Kang J.X., Wang J.A., simplified method for analyses of polyunsaturated fatty acids. *BMC Biochemistry*, **2005**, 6, 5-11.
63. Tsuzuki W., Matsuoka A., Ushida K. Formation of trans fatty acids in edible oils during the frying and heating process. *Food Chem.* (**2010**);123:976–982. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.05.048.
64. Katan, M.B., P.L. Zock, and R.P. Mensink, Trans Fatty Acids and Their Effects on Lipoproteins in Humans, *Annu. Rev. Nutr.* 15:473–493 (**1995**).
65. Willett W.C., M.J. Stampfer, J.E. Manson, G.A. Colditz, F.E. Speizer, B.A. Rosner, L.A. Sampson, and C.H. Hennekens, Intake of trans Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease Among Women, *Lancet* 341:581–585 (**1993**).
66. Allison, D.B., Epidemiology, in *Trans Fatty Acids and Coronary Heart Disease Risk*, edited by P.E. Kris-Etherton, *Am. J. Clin. Nutr.* 62 (suppl.):670S–678S (**1995**).
67. Stoffel, W., F. Wu, and E.H. Ahrens, Analysis of Long-Chain Fatty Acids by Gas–Liquid Chromatography, *Anal. Chem* 31:307–308 (**1959**).
68. Christie, W.W., *Gas Chromatography and Lipids*, The Oily Press, Ayr, **1989**.
69. Morris, L.J., D.M. Wharry, and E.W. Hammond, Chromatographic Behaviour of Isomeric Long-Chain Aliphatic Compounds II. Argentation Thin-Layer Chromatography of Isomeric Octadecenoates, *J. Chromatogr.* 31:69–76 (**1967**).

70. Christie, W.W., and G.H. McG. Breckenridge, Separation of cis and trans Isomers of Unsaturated Fatty Acids by High-Performance Liquid Chromatography in the Silver Ion Mode, *Ibid.* 469:261–269 (1989).
71. . Molkentin J., and D. Precht, Optimized Analysis of trans-Octadecenoic Acids in Edible Fats, *Chromatographia* 41:267–272 (1995).
72. Duchateau, G.S.M.J.E., H.J. van Oosten, and M.A. Vasconcellos, Analysis of cis- and trans-Fatty Acid Isomers in Hydrogenated and Refined Vegetable Oils by Capillary Gas–Liquid Chromatography, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73:275–282 (1996).
73. Parodi, P.W., Distribution of Isomeric Octadecanoic Fatty Acids in Milk Fat, *J. Dairy Sci.* 59:1870–1873 (1976).
74. 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. Am. Oil Chem. Soc.* 72:259–272 (1995).
75. Parodi, P.W., Composition and Structure of Some Consumer Available Edible Fats, *Ibid.* 53:530–534 (1976).
76. Hodgson, J.M., M.L. Wahlqvist, J.A. Boxall, and N.D. Balazs, Platelet trans Fatty Acids in Relation to Angiographically Assessed Coronary Artery Disease, *Atherosclerosis* 120:147–154 (1996).
77. Fay, L., and U. Richli, Location of Double Bonds in Polyunsaturated Fatty Acids by Gas Chromatography–Mass Spectrometry After 4,4-Dimethyloxazoline Derivatization, *J. Chromatogr.* 541:89–98 (1991).
78. van Poppel, G., M.-A. van Erp-Baart, T. Leth, E. Gevers, J. van Amelsvoort, J.-M. Antoine, A. Kafatos, and A. Aro, Trans Fatty Acids in Foods in Europe: the TRANSFAIR Study, *J. Food Composit. Anal.* (in press).
79. Metcalfe, L.D., A.A. Schmitz, and J.R. Pelka, Rapid Preparation of Fatty Acid Esters from Lipids for Gas Chromatographic Analysis, *Anal. Chem.* 38:514–515 (1966).
80. WHO. Eliminating trans Fats in Europe: A Policy Brief. 2015. Available online:<http://www.euro.who.int/en/health-topics/diseaseprevention/nutrition/publications/2015/eliminatingtrans-fats-in-europe-a-policy-brief-2015> (accessed on 27 June 2017).
81. FDA. Department of Health and Human Services (DHHS)/Food and Drug Administration (FDA). Talking about Trans Fats: What You Need to Know.

- Food Facts. 2014. Available online: <http://marshallsportsmedicine.org/assets/Documents/Patient-Education/Food-Facts-Trans-Fat.pdf> (accessed on 27 June 2017).
82. Bruehl, L. Fatty acid alterations in oils and fats during heating and frying. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2014**, 116, 707–715.
 83. Yildirim, E.; Toker, O.S.; Karaman, S.; Kayacier, A.; Dogan, M. Investigation of fatty acid composition and trans fatty acid formation in extracted oils from French-fried potatoes and classification of samples using chemometric approaches. *Turk. J. Agric. For.* **2015**, 39, 80–90.
 84. Folch, J., Lees, M., & Solane-Stanley, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, **1957**, 226, 497–509.
 85. NMKL. (1989). Determination of fat by SBR in meat and meat products. Nordic Committee on Food Analysis. NMKL 131. Oslo, Norway: Norwegian Veterinary Institute
 86. Chardigny, J. M., Destailats, F., Malpuech-Brugere, C., Moulin, J., Bauman, D. E., Lock, A. L., et al. Do trans fatty acids from industrially produced sources and from natural sources have the same effect on cardiovascular disease risk factors in healthy subjects? Results of the trans Fatty Acids Collaboration (TRANSFACT) study. *American Journal of Clinical Nutrition*, **2008**, 87(3), 558–566.
 87. Mensink, R. P., Zock, P. L., Kester, A. D., & Katan, M. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: A meta-analysis of 60 controlled trials. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **2003**, 77(5), 1146–1155
 88. Fallon, J. V. O., Busboom, J. R., Nelson, M. L., & Gaskins, C. T. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils and feedstuffs. *Journal of Animal Science*, **2007**, 85, 1511–1521.
 89. Allison, D. B. Epidemiology. In P. E. Kris-Etherton (Ed.), *Trans Fatty Acids and Coronary Heart Disease Risk*. *Am. J. Clin. Nutr.* **1995**, (62 (Suppl.)), pp. 670S–678S).
 90. AOAC Official Method of Analysis. Method 996.06, Fat (Total, Saturated and Unsaturated) in Foods, AOAC International, Gaithersburg, MD. **1995**.

91. Adam, M., Mossoba, M. M., Lee, T. Rapid determination of total trans fat content by attenuated total reflection infrared spectroscopy: An international collaborative study. *JAOCS*, **2000**, 77(5), 457-462.
92. Adam, M., Mossoba, M.M., Dawson, T., Chew, M., Wasserman, S. Comparison of attenuated total reflection infrared spectroscopy to capillary gas chromatography for trans fatty acid determination. *JAOCS*, **1999**,76, 375-8.
93. Alonso L, Fraga MJ, Juárez M. Determination of trans fatty acids and fatty acid profiles in margarines marketed in Spain. *JAOCS*, **2000**, 77, 131-136.
94. Blankson, H., Stakkestad, J.A., Fagertun, H., Thom, E., Wadstein, J., Gudmundsen, O. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) on body fat mass in overweight or obese human volunteers. A double-blind, randomized placebo controlled study. In press. **2000**.
95. Bouré C, Combe N, Billeaud C, Mignerot C, Entressangles B, They G, Geoffrion H, Brun JL, Dallay D, Leng JJ. Trans fatty acids in adipose tissue of French women in relation to their dietary sources. *Lipids*, **2000**, 35, 561-566.
96. Drozdowski, B., & Szukalska, E. Effect of rapeseed oil hydrogenation conditions on trans isomer formation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **2000**,102(10), 642-645.
97. Hamilton, J. T. G., & Christie, W. Mechanisms for ion formation during the electron impact-mass spectrometry of picolinyl ester and 4,4-dimethyloxazoline derivatives of fatty acids. *Chemistry and Physics of Lipids*, **2000**, 105, 93-104.
98. Hayakawa, K., Linko, Y.-Y., & Linko, P. The role of trans fatty acids in human nutrition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **2000**, 102(6), 419-425.
99. Katan, M.B. Trans fatty acids and plasma lipoproteins. *Nutrition Reviews*, June, **2000**, 188-191. Overview/discussion.
100. Medina-Juárez, L. A., Gámez-Meza, N., Ortega-García, J., Noriega-Rodríguez, J. A., & Angulo-Guerrero, O. Trans fatty acid composition and tocopherol content in vegetable oils produced in Mexico. *JAOCS* , **2000**, 77(7), 721-724.

DOKUMENTĀRĀ LAPA

Maģistra darbs „TRANSTAUKSKĀBJU IZPLATĪBA LATVIJAS PRODUKTOS” izstrādāts LU Ķīmijas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: _____
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs, asoc.prof. Vadīms Bartkevics: _____
(personiskais paraksts) (datums)

Recenzents, asoc.prof. Anda Priksane: _____
(personiskais paraksts) (datums)

Darbs iesniegts Ķīmijas fakultātē: _____ (datums)

Dekāna pilnvarotā persona, metodiķe: _____ Anda Priksane
(personiskais paraksts)

Darbs aizstāvēts maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē:

_____ protokols Nr. _____ (ieraksta sekretārs)
(datums) (protokola Nr.)

Komisijas sekretāre, lektore: _____
(personiskais paraksts) (paraksta atšifrējums)