Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

J Chem Good Trad Med, Volume 2, Issue 1, 2023 Chemistry of Goods

UDK 547.915:543.51: 543.051

O‘SIMLIK VA SUT YOG‘LARINING SIFAT VA MIQDORIY TARKIBINI KIMYOVIY VA FIZIK-KIMYOVIY USLUBLARDA TADQIQ QILISH

ИССЛЕДОВАНИЕ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА РАСТИТЕЛЬНЫХ И МОЛОЧНЫХ ЖИРОВ ХИМИЧЕСКИМИ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

STUDY OF THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF VEGETABLE AND MILK FATS BY CHEMICAL AND PHYSICO-CHEMICAL METHODS

Baxtiyor Yormaxamatovich Abdug'aniyev, *Bojxona instituti*
Kimyo kafedrasi dotsenti, k.f.n
Ibrohimjon Rahmonovich Asqarov, *Andijon davlat universiteti*
Kimyo kafedrasi professori, kimyo fanlari doktori, O‘zbekistonda xizmat ko‘rsatgan ixtirochi, O‘zbekiston TABOBAT Akademiyasi raisi

DOI: https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol2.iss1.2023.140

Annotatisya. *Margarin, margarin va sariyog‘ omixtasi hamda sariyog‘ni bojxona maqsadlari uchun identifikasiya qilish uchun kimyoviy tarkiblari xromatomass spektrometriya ususlida tadqiq qilindi. Bunda ularning tarkibidagi xolesterin moddasi asosiy ko‘rstkich sifatida belgilab olindi. Tadqiqot natijalariga ko‘ra margarin tarkibida xolesterin moddasi mavjud emasligi, sariyog‘ margarin omixtasida 0,06 mg/g hamda sariyog‘ tarkibida 2,66 mg/g xolesterin moddasi mavjudligi aniqlandi. Bunga ko‘ra margarin yoki sariyog‘ va margarin omixtasi mahsulotlari tashqi iqtisodiy faoliyat tovarlar nomenklaturasining 15 guruhida, sariyog‘ esa 04 guruhida tasniflanishi ko‘rasatildi.*

Аннотация. *Был исследован химический состав маргарина, смеси маргарина со сливичным маслом и сливочного масла с помощью хроматомасс спектрометрии для идентификации в таможенных целях. При этом в качестве основного показателя было определено содержащееся в них вещество холестерин. Исследование показало, что маргарин не содержит холестерина, а в смеси маргарина со сливичным маслом содержание холестерина 0,06 мг/г и в сливочном масле 2,66 мг/г. Маргарин и смесь маргарина со сливичным маслом классифицируется в 15 группе, а сливочное масло в 04 группе товарной номенклатуры внешнеэкономической деятельности.*

Annotation. *The chemical composition of margarine, a mixture of margarine with butter and butter was investigated using chromatomass spectrometry for identification for customs purposes. At the same time, the cholesterol substance contained in them was determined as the main indicator. The study showed that margarine does not contain cholesterol, and in a mixture of margarine with butter, the cholesterol content is 0.06 mg / g and in butter 2.66 mg / g. Margarine and a mixture of margarine and butter are classified in group 15, and butter in group 04 of HS codes.*

Kalit so‘zlar. *Margarin, margarin va sariyog‘ omixtasi, sariyog‘, xolesterin, xromatomass spektrometriya.*

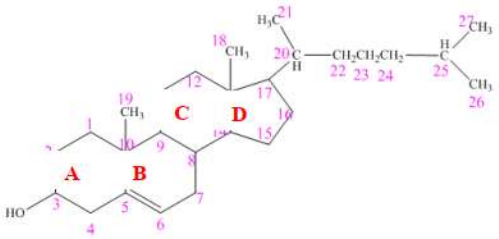
Ключевые слова. *Маргарин, смесь маргарина и сливочного масла, сливочное масло, холестерин, хроматомасс спектрометрия.*

Keywords. *Margarine, a mixture of margarine and butter, butter, cholesterol, chromatography mass spectrometry.*

Kirish. Sariyog‘ hayvon yog‘i hisoblanib, sut yog‘i, ya’ni qaymoqdan olinadi hamda tashqi iqtisodiy faoliyat tovarlar nomenklaturasi (TIF TN) bo‘yicha 04 guruhda tasniflanadi. Suyuqlanish harorati 32 – 35°C oralig‘ida bo‘lganligi sababli xona haroratida qattiq holatda bo‘ladi. O‘simlik yog‘lari TIF Tnning 15 guruhida tasniflanadi. TIF TNning 04 va 15 guruhlaridagi tovarlarning bojxona qiymatlari keskin farq qilishi, ulardan bojxona to‘lovlarini har xil miqdorlarda undirilishga sabab bo‘ladi. Bunga ko‘ra TIF TNning 04 va 15 guruhlaridagi tovarlarning bojxona rasmiylashtiruvida laboratoriya ekspertiza sinovlarini amalga oshirish davlat byudjetiga mablag‘larni to‘g‘ri va to‘liq tushishini ta’minlaydi.

Sariyog‘da mavjud bo‘lgan xolesterin moddasi, o‘simlik yog‘larida uchramaydi. Bu holat xolesterinning nerv, yog‘ to‘qimalarida, tuxum va sperma hujayralarida, jigarda, buyrak usti bezlarida va boshqalarda bo‘lishi bilan izohlanadi.

Xolesterin lotincha qattiq safro ma’nosini beruvchi organik moddadir.



1 - rasm. Xolesterin tuzilishi (uglerod atomlarining raqamlanishi).

Xolesterin molekulasi uchta asosiy qismdan iborat:

1) steroidlarning yadrosi sifatida tetratsiklik uglerod halqasi (A-D);

2) A halqasiga biriktirilgan qutbli gidroksil guruhi;

3) D halqaga biriktirilgan qisqa qutbsiz uglerod zanjiri [1, 2].

Xolesterin testosteron va estrogen kabi steroidlarning asosi, shuningdek, xolesterin lipoproteinlarning asosiy komponenti ham hisoblanadi [3].

Sterol gruppasining barcha to‘rtala halqasi trans-konformatsiya holatida bo‘lganligi sababli, xolesterin molekulasining quruvchi xususiyatini beradi. C5 va C6 orasidagi qo‘shbog‘ xolesterinning qattiqligini saqlashiga ko‘maklashadi. Hujayralardagi xolesterining 90%dan ortig‘i plazmatik membranalarda joylashgan bo‘ladi [4].

Xolesterin suvda erimaydi, yog‘lar va organik erituvchilarda yaxshi eriydi, organizmda yog‘lar, glyukoza va aminokislotalardan sintez bo‘ladi. Bir sutka mobaynida 2,5 g xolesterin hosil bo‘ladi va 0,5 g qismi oziq - ovqat bilan kiradi.

Qon plazmasida xolesterin yuqori yog‘ kislotalari (olein kislota) bilan birga murakkab efir holida uchraydi. Organizmda xolesterin buyrak usti bezlari gormonlari, o‘t kislotalar, D vitamini va boshqa almashinuvida qatnashadi. Odam qonida o‘rtacha 150 - 200 mg % xolesterin bo‘ladi. Ko‘proq yog‘li ovqat iste’mol qiladigan kishilarda xolesterin miqdori ko‘payadi, bu o‘t toshlari hosil bo‘lishiga, qon tomirlari devorida xolesterin to‘planishiga va moddalar almashinuvining buzilishiga olib keladi. Barcha hayvon yog‘lariga xos xarakterli holat ularning tarkibida xolesterin moddasining mavjudligi hisoblanadi. Xolesterin hayvon yog‘larida bo‘lib, o‘simlik yog‘larida uchramaydi.

Sariyog‘ hayvon yog‘i, ya’ni qaymoqdan olinganligi sababli uning tarkibida xolesterin bo‘ladi. Yog‘ tarkibida xolesterin moddasining mavjud bo‘lmasligi uning o‘simliklardan olinganligiga ishoradir. Shu sababli ekspertiza masalasida sariyog‘, margarin bilan sariyog‘ omixtasi, kungaboqar, paxta, kannabis yog‘lari berilgan bo‘lsa, tarkibidagi xolesterinni aniqlash orqali ularning turlari yuzasidan xulosa qilish imkoniyati bo‘ladi.

Sariyog‘ hayvon yog‘i bo‘lganligi sababli tarkibida xolesterin bo‘ladi, margarin o‘simlik yog‘i bo‘lganligi sababli uning tarkibida xolesterin moddasi bo‘lmaydi. Shu sababli ularni farqlashdagi eng oddiy va tezkor usul xolesterinni mavjudligi aniqlash hisoblanadi.

Yog‘lar tarkibidagi xolesterin moddasini mavjudligini aniqlashning ko‘plab usullari ishlab chiqilgan.

Jumladan, klassik kimyoviy tahlil orqali fermentativ usul, yuqori effektli suyuqlik xromatografiyasi - mass spektrometriya usullari shular jumlasidandir. Ushbu usullar yog‘lar tarkibidagi xolesterin mavjudligini yuqori aniqlikda tahlil qilsada, tezkor aniqlash imkonini bermaydi. Ya’ni yog‘lar tarkibidagi xolesterinni klassik kimyoviy tahlil orqali fermentativ usulda aniqlashga 1 sutkagacha, yuqori effektli suyuqlik xromatografiyasi - massa spektrometriya usullarida namunalarni tayyorlash jarayoni bilan birga 6 - 8 soatgacha vaqt talab qilinadi. Bojxona ekspertizasi uchun yuborilgan namuna bilan ekspertiza amalga oshirilib, xulosa tayyorlangunga qadar tovar bojxona rasmiylashtiruvi to‘xtatilib turiladi. Bu holat tadbirkorlik subyektlaridan vaqt va mablag‘ xarajatlarini qilishini keltirib chiqaradi. Shu sababli, ekspertizaning tezkorlik bilan o‘tkazilishi ahamiyatli hisoblanib, bojxona ekspertizasini qisqa 3 - 4 soat mobaynida amalga oshirish imkoniyatini beradigan uslublar qo‘llashni taqazo qiladi.

Qon plazmasidagi xolesterin darajasining yurak xastaliklari xavfi bilan bog‘liqligi tufayli xun xolesteroliga jamoatchilik qiziqishi sezilarli darajada oshdi. Bizning tanamizdagi xolesterinning taxminan 20-25% tuxum, maaso, sut mahsulotlari va boshqalar kabi hayvonlarning oziq-ovqatlaridan kelib chiqqanligi sababli. bizning diyetadagi xolesterin konsentratsiyasini bilish muhimdir [5].

Laboratoriyalar oziq-ovqat mahsulotlarini to‘g‘ri yorliqlash uchun oziq-ovqat ishlab chiqaruvchilariga ozuqaviy ma’lumotlarni taqdim etishlari kerak, chunki oziq-ovqat yorliqlari iste’molchilarni sog‘lom ovqatlanish va ozuqa moddalari bilan bog‘liq kasalliklarni kamaytirish uchun to‘g‘ri oziq-ovqat tanlash haqida xabardor qilishi kerak [6]. Shunday qilib, oziq - ovqat mahsulotlari tarkibidagi xolesterin miqdorini baholash juda muhim va xolesterin miqdorini aniqlash texnologiyalarini ishlab chiqishni rag‘batlantiradi [7, 8].

Xolesterinni aniqlash usullari.

Fluorometrik-fermentativ analiz.

LC/LC-MS yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi - mass spektrometriya.

O‘simlik va sut yog‘lari mahsulotlaridan namunalar yoki sinamalarni olish.

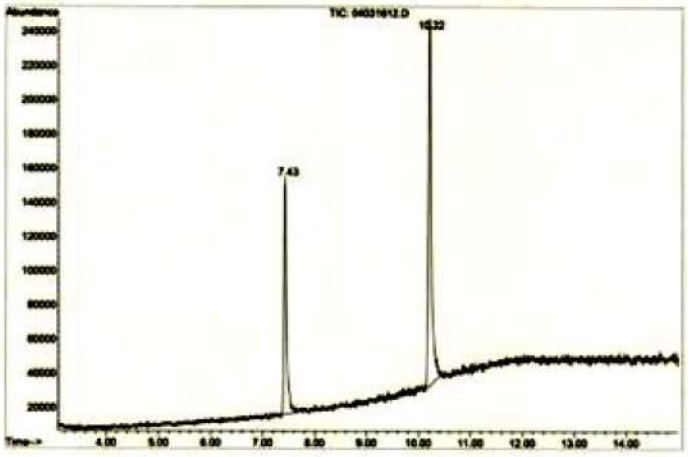
Atrof-muhit haroratida qattiq holatda bo‘lgan moylardan namuna olish qizdirilmasdan amalga oshiriladi. Bojxona rasmiylashtiruvi uchun harorat pasayishi munosabati bilan quyulgan yog‘lar taqdim etilsa, ulardan namunalar sifat ko‘rsatkichlarini o‘zgartirmaydigan usul bilan avvaldan qizdirish yo‘li orqali suyultirilgandan so‘ng olinadi.

Qattiq shakldagi yog‘lardan namuna maxsus sanchiqli namuna olish moslamasi yordamida olinadi. Maxsus sanchiqli namuna olish moslamasi qattiq yog‘ solingan idishga markazidan ko‘ndalang yo‘nalish bo‘ylab kesib, sanchiladi. Namunali maxsus sanchiqli namuna olish moslamasi burash yo‘li bilan chiqarib olinadi.

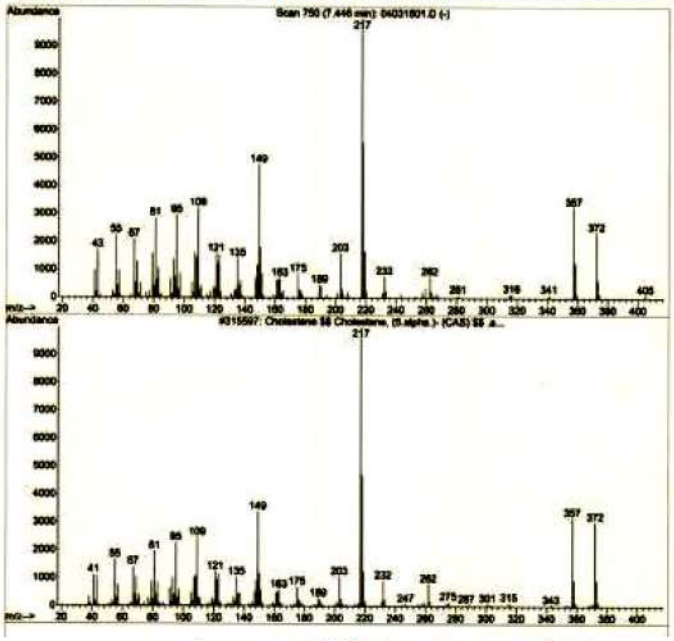


2 - rasm. Maxsus sanchiqli namuna olish moslamasi.

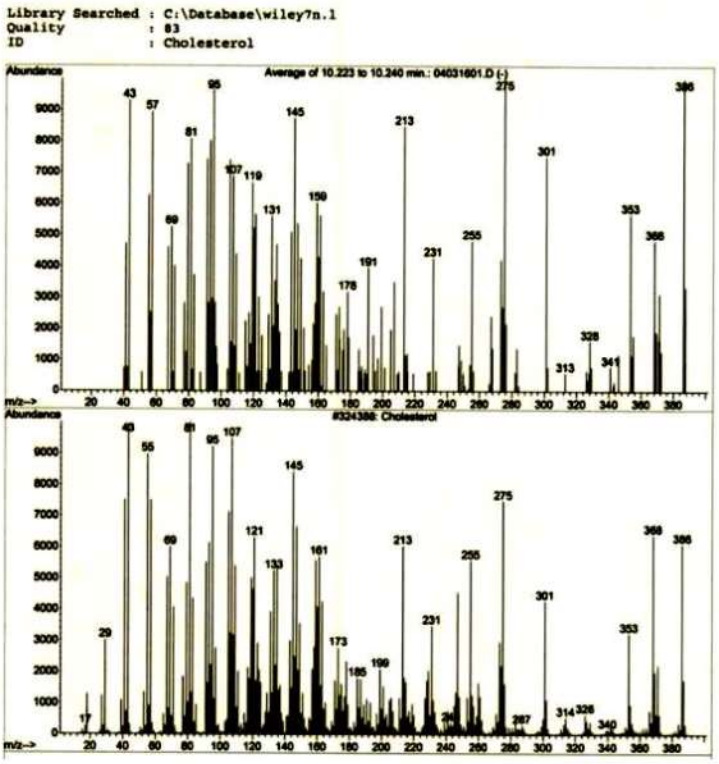
Analiz qismi. Analiz natijasida 3 – rasmdagi xromatogrammalar olindi. Xromatogramma va mass spektrlarni tahlili asosan xolestan moddasi 7,43 minut ushalish vaqtida qayd qilingan bo‘lsa, xolesterin moddasi 10,21 minut ushalish vaqtida qayd qilingan. Ushbu natijalarga ko‘ra margarin namunasida xolesterin mavjud emas, margarin va sariyog‘ omixtasida ozroq, sariyog‘da esa ko‘proq miqdorda mavjud.



3 - rasm. Xolestan va xolesterin aralashmasi xromatogrammasi.



4 - rasm. Xolestan mass spektri.



5 - rasm. Xolesterin mass spektri.

Namunalardagi xolesterin moddasining miqdorini aniq bilish uchun mazkur sharoitlarda xromatogrammalari olingan barcha standartlar va namunalarni xromatografik qiymatlari tahlil qilindi va quyidagi qiymatlar olindi:

Xolesterin miqdori = (xromatogramma yuzasi miqdori) * xolestan miqdori (mg)/namuna miqdori g.)

Margarindagi xolesterin miqdori = 0,0 (miqdoriy yuza) * 0,5 mg (xolestan miqdori) / 4,9993 gramm (namuna miqdori = 0,0 mg/g;

sariyog‘ va margarin omixtasidagi xolesterin miqdori = 0,6 (miqdoriy yuza) * 0,5 mg (xolestan miqdori) / 4,9949 gramm (namuna miqdori = 0,06 mg/g;

sariyog‘dagi xolesterin miqdori = 5,4 (miqdoriy yuza) * 0,5 mg (xolestan miqdori) / 1,0158 gramm (namuna miqdori = 2,66 mg/g.

Tajriba qism. O‘simlik va sut yog‘lari mahsulotlari tarkibidagi xolesterinni aniqlash uchun avvaldan bir qator eritmalar tayyorlanishi zarur bo‘ladi.

Birinchi eritma, ya’ni 1,1 mol/l KONning etil spirtidagi eritmasini tayyorlash uchun 28,1 mg KON olib 500 millilitrgacha etil spirtida eritiladi.

Ikkinchi eritma, ya’ni standart xolesterinning 1 mg/ml eritmasini tayyorlash uchun 25 mg xolesterin olib 25 millilitrgacha n-Geksanda eritiladi.

Uchinchi eritma, ya’ni standart xolestanning 1 mg/ml eritmasini tayyorlash uchun 25 mg xolestan olib 25 millilitrgacha n-Geksanda eritiladi.

Standartlarni analizga tayyorlash maqsadida 6 dona ikkinchi eritma uchun va 6 dona uchinchi eritma uchun 10 milllitrli o‘lchov kolbalari olindi va ularga quyidagicha miqdorda:

Ikkinchi eritmadan: 1) 0,5 ml; 2) 1,0 ml; 3) 2,0 ml; 4) 3,0 ml; 5) 4,0 ml; 6) 5,0 ml. Uchinchi eritmadan: 1) 0,5 ml; 2) 0,5 ml; 3) 0,5 ml; 4) 0,5 ml; 5) 0,5 ml; 6) 0,5 ml quyildi. Barcha kolbalardagi eritmalar ustidan, umumiy xajm 10 ml bo‘lgunga qadar n-Geksan moddasi quyildi va xromatomass-spektrometrda analiz qilish uchun olib qo‘yildi.

Namunani analizga tayyorlash uchun sariyog‘da xolesterinning miqdori ko‘p bo‘lishidan kelib chiqib 1,0 gramm, sariyog‘ va margarin omixtasida kam bo‘lganligi uchun 5-marta ko‘p,

shuningdek margarinda ham xolesterin bor yo‘qligini bilish uchun 5,0 gramm namuna olish maqsadga muvofiq hisoblanadi. Namunalardan olinadigan miqdorlar eksperimentlarning 10-martagacha takrorlanishidan kelib chiqib belgilangan.

O‘lchab olinayotgan namunalar asosida ularning tarkibidagi xolesterining miqdori yuzasidan xulosa qilinishi sababli yuqori aniqlikdagi tarozida verguldan keyin to‘rta raqam aniqligida o‘lchab olindi.

Yuqoridagilarga ko‘ra sariyog‘dan 1,0158 gramm, sariyog‘ va margarin omixtasidan 4,9949 gramm, margarindan 4,9993 gramm olindi hamda 200 millilitrli Erlenmeyer kolbasiga solindi. Unga 0,5 millilitr uchinchi eritmadan va 50 millilitr birinchi eritmadan quyildi.

Kolba og‘zi nayli tiqin (probka) bilan yopildi va 1 soat mobaynida 80°C suv hammomida chayqatilgan holda qizdirildi. Navbatda kolba og‘zi ochilib aralashmaga 50 millilitr distillangan suv va 50 millilitr petroley efiri quyildi. Yaxshilab chayqatilib 700 millilitrli ajratish voronkasiga quyildi hamda ajratish voronkasini tez-tez og‘zini ochib yopgan holatda 1 minut davomida chayqatib turildi.

So‘ngra uni tindirib, suv qismi alohida ajratib olindi. Ajratish voronkasidagi qolgan eritmaning efirli qoldig‘i shunday qoldiqlarni yig‘ish uchun alohida olib qo‘yilgan idishga solindi. Bo‘shatilgan ajratish voronkasiga ajratib olingan suv quyildi va unga 50 millilitr petroley efiri qo‘shildi. Aralashma 1 minut davomida chayqatilib turildi va tindirish, suv qismini alohida ajratib olish jarayoni qaytadan bajarildi. Ajratish voronkasida qolgan eritmaning efirli qoldig‘i esa efirli qoldiqlar yig‘ilayotgan idishdagi efirli qoldiqqa qo‘shildi. Ajratib olingan suv bo‘shatilgan ajratish voronkasiga quyildi va jarayon yana qaytarildi. Ushbu jarayon fenolftalein eritmasining rangi o‘zgarmagunga qadar davom ettirildi. So‘ngra petroley efirli eritmaga natriy sulfat tuzi solib quritildi va filtrlab rotorli bug‘latkichda haydaldi. Qolgan eritmani 10 millilitrli o‘lchov kolbasiga quyib, belgiga qadar n-geksan bilan to‘ldirildi va standart eritmalar bilan ketma-ket xromatomass spektrometrda analiz qilindi.

Xromatomass spektrometrda analizlar quyidagi sharoitda olib borildi:

HP-5MS kapillyar kolonkasi (5%-fenil) – metilpolisiloksan;

kolonka uzunligi – 30 m, ichki diametr – 0.32 mm;

harakatsiz faza – 0.25 mkm;

gaz-tashuvchi – geliy gazi, kolonka orqali oqimi doimiy harakatda;

injektor harorati – 3000S;

kolonka rejimi – boshlang‘ich harorat 250°S (3 minut), tezlik 5°/minut, oxirgi harorat 280°S (4 minut);

bug‘latkich: oqim bosimi (split) 30:1;

kiritilayotgan namuna miqdori 1 mkl;

detektor interfeysi harorati 280°S;

detektor: kvadrupol mass-spektrometr Agilent 5977 A;

ionizatsiya turi: elektron zarba (70 eV);

ionn manbasi harorati 230°S;

spektr 30-650 m/z diapazonida registratsiya qilindi.

Xulosa. O‘zbekiston Respublikasiga import qilinayotgan margarin yoki sariyog‘ va margarin omixtasidagi xolesterinning mavjud emasligi yoki uning miqdorining kam bo‘lishidan kelib chiqib, mazkur mahsulotlar TIF TNning 15 guruhida tasniflanadi, agar, sariyog‘ deb qaralayotgan tovar tarkibida xolesterin moddasi ko‘p bo‘lsa TIF TNning 04 guruhida tasniflanadi va qonunchilikda belgilangan stavkalarda bojxona to‘lovlari undiriladi.

Введение. Сливочное масло считается животным жиром, полученным из молочного жира, то есть сливок, и классифицируется в группе 04 по товарной номенклатуре внешнеэкономической деятельности (ТН ВЭД). При комнатной температуре находится в твердом состоянии, так как температура плавления находится в диапазоне 32 - 35°C. Растительные масла классифицируются в 15 группе ТН ВЭД. Тот факт, что имеется резкое

различие таможенной стоимости товаров групп 04 и 15 ТН ВЭД, влечет за собой взимание с них таможенных платежей в разных размерах. В соответствии с этим проведение лабораторных экспертизных испытаний при таможенном оформлении товаров групп 04 и 15 ТН ВЭД обеспечивает правильное и полное поступление средств в государственный бюджет.

Вещество холестерин, содержащееся в сливочном масле, не содержится в растительных жирах. Это состояние объясняется наличием холестерина в нервной, жировой ткани, яйцеклетках и сперматозоидах, печени, надпочечниках и др животных.

Холестерин-это органическое вещество, которое на латыни означает твердая желчь.

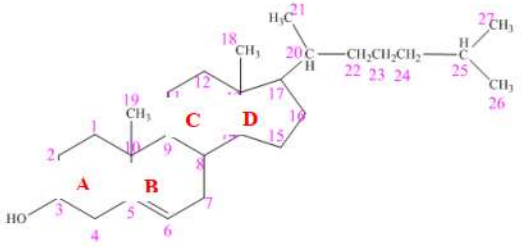


Рис - 1. Структура холестерина (нумерация атомов углерода).

Молекула холестерина состоит из трех основных частей:

1) тетрациклическое углеродное кольцо (A-D) как ядро стероидов;

2) полярная гидроксильная группа, присоединенная к кольцу А;

3) короткая неполярная углеродная цепь, прикрепленная к D - образному кольцу [1, 2].

Холестерин является основой стероидов, таких как тестостерон и эстроген, а также холестерин является основным компонентом липопротеинов [3].

Поскольку все четыре кольца стерольной группы находятся в транс-конформационном состоянии, это придает молекуле холестерина строительный характер. Двойная связь между С5 и С6 способствует поддержанию жесткости холестерина. Более 90% холестерина в клетках содержится в плазматических мембранах [4].

Холестерин нерастворим в воде, хорошо растворяется в жирах и органических растворителях, синтезируется в организме из жиров, глюкозы и аминокислот. За сутки образуется 2,5 г холестерина, а 0,5 г часть поступает с пищей.

В плазме крови холестерин находится в виде сложного эфира вместе с высокими жирными кислотами (олеиновой кислотой). В организме холестерин участвует в обмене гормонов надпочечников, желчных кислот, витамина D и других. В крови человека в среднем содержится 150 - 200 мг % холестерина. У людей, которые едят больше жирной пищи, повышается уровень холестерина, что приводит к образованию камней в желчном пузыре, накоплению холестерина в стенке кровеносных сосудов и нарушению обмена веществ. Характерным условием, присущим всем животным жирам, является наличие в их составе вещества холестерина. Холестерин содержится в животных жирах и не содержится в растительных жирах.

Поскольку сливочное масло получают из животного жира, то есть сливок, оно содержит холестерин. Отсутствие в масле вещества холестерина является признаком того, что оно получено из растений. Поэтому, если поступила для экспертизы сливочное масло, смесь сливочного масла с маргарином, подсолнечное, хлопковое, конопляное масла, то будет возможность сделать выводы по их видам, определив содержание в них холестерина. Поскольку сливочное масло это животный жир, оно будет содержать холестерин, а поскольку маргарин это растительный жир, он не будет содержать холестеринового вещества. Поэтому

самым простым и быстрым способом их дифференциации является определение наличия холестерина.

Было разработано множество методов определения наличия холестерина в жирах.

К ним относятся ферментативный метод классического химического анализа, высокоэффективная жидкостная хроматография масс спектрометрия.

Хотя эти методы анализируют наличие холестерина в жирах с высокой точностью, они не позволяют быстро определить его. То есть для ферментативного определения холестерина в жирах классическим химическим анализом требуется до 1 суток, а в высокоэффективной жидкостной хроматографии - масс-спектрометрии вместе с процессом подготовки образцов до 6 - 8 часов. Таможенное оформление товара приостанавливается до тех пор, пока экспертиза не будет проведена с образцом, отправленным на таможенную экспертизу, и не будет подготовлено заключение. Это обстоятельство приводит к тому, что субъекты предпринимательства несут затраты времени и средств. Поэтому оперативность проведения экспертизы считается существенной и требует применения методик, позволяющих провести таможенную экспертизу в короткие 3 - 4 часа.

Общественный интерес к диетическому холестерину значительно возрос из-за связи уровня холестерина в плазме крови с риском сердечных заболеваний. Поскольку около 20 - 25% холестерина в нашем организме поступает из продуктов животного происхождения, таких как яйца, массо, молочные продукты и т. д. важно знать концентрацию холестерина в нашем рационе [5].

Лаборатории должны предоставлять информацию о питательных веществах производителям пищевых продуктов, чтобы правильно маркировать продукты, поскольку этикетки на пищевых продуктах должны информировать потребителей о правильном выборе продуктов питания для здорового питания и снижения риска заболеваний, связанных с питательными веществами [6]. Таким образом, оценка уровня холестерина в пищевых продуктах имеет решающее значение и стимулирует разработку технологий определения уровня холестерина [7, 8].

Методы определения холестерина.

Флюорометрическо-ферментативный анализ.

ЖХ/ЖХ МС высокоэффективная жидкостная хроматография-масс-спектрометрия.

Отбор проб и образцов из твёрдого растительного масла и сливочного масла.

Отбор проб масел, находящихся в твердом состоянии при температуре окружающей среды, производится без нагрева. В случае представления на таможенное оформление масел, отлитых в связи с понижением температуры, пробы из них отбирают после разбавления методом предварительного нагрева методом, не изменяющим качественных показателей.

Отбор проб масел в твердом виде производится с помощью специального штифтового пробоотборника. Специальный штифтовый пробоотборник врезается в сосуд с твердым жиром, разрезая его в поперечном направлении от центра. Образец извлекается поворотом пробоотборника со специальным штифтом.



Рис - 2. Специальный штыревой пробоотборник.

Аналитическая часть. В результате анализа были получены хроматограмма на рисунке 3. Приведенная хроматограмма и анализ масс-спектров показывают, что временем удерживания холестана было зарегистрировано 7,43 минуты, тогда как у вещества холестерин время удерживания было зарегистрировано 10,21 минуты.

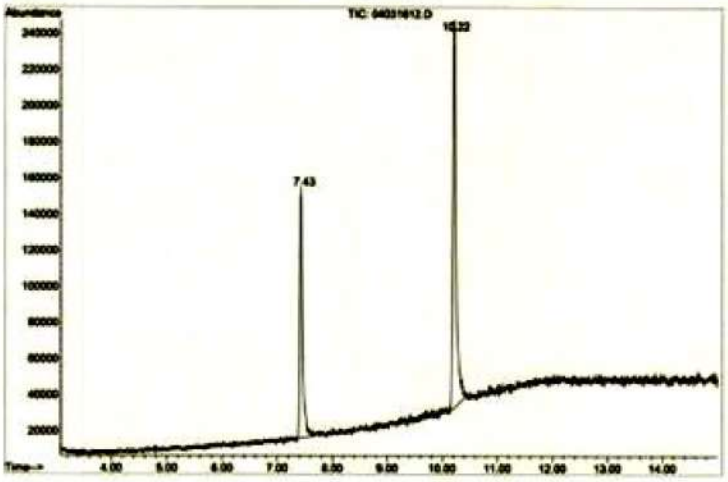


Рис - 3. Хроматограмма смеси холестана и холестерина.

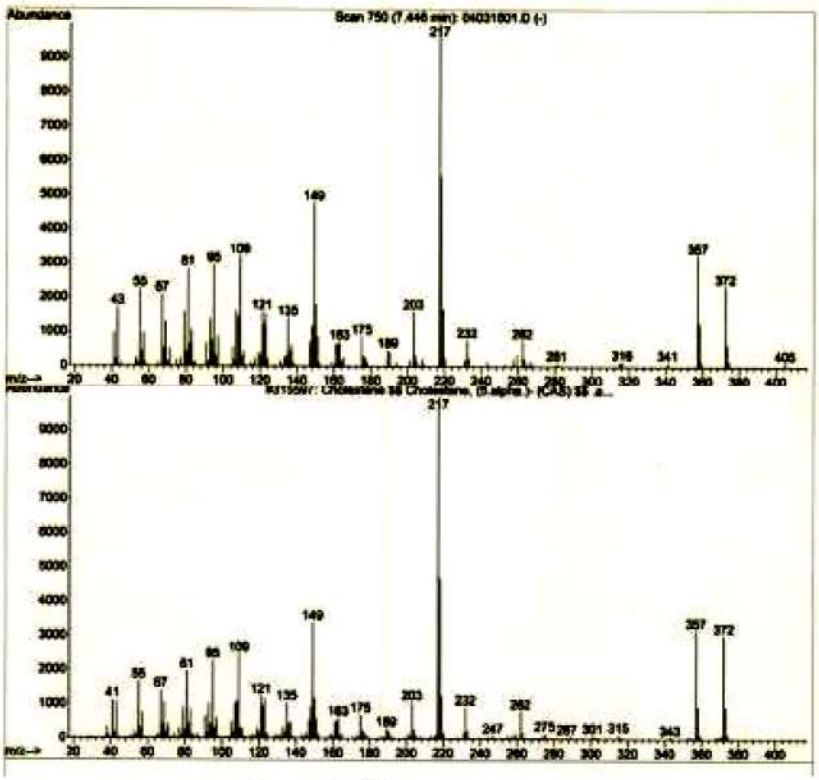


Рис - 4. Масс спектр холестана.

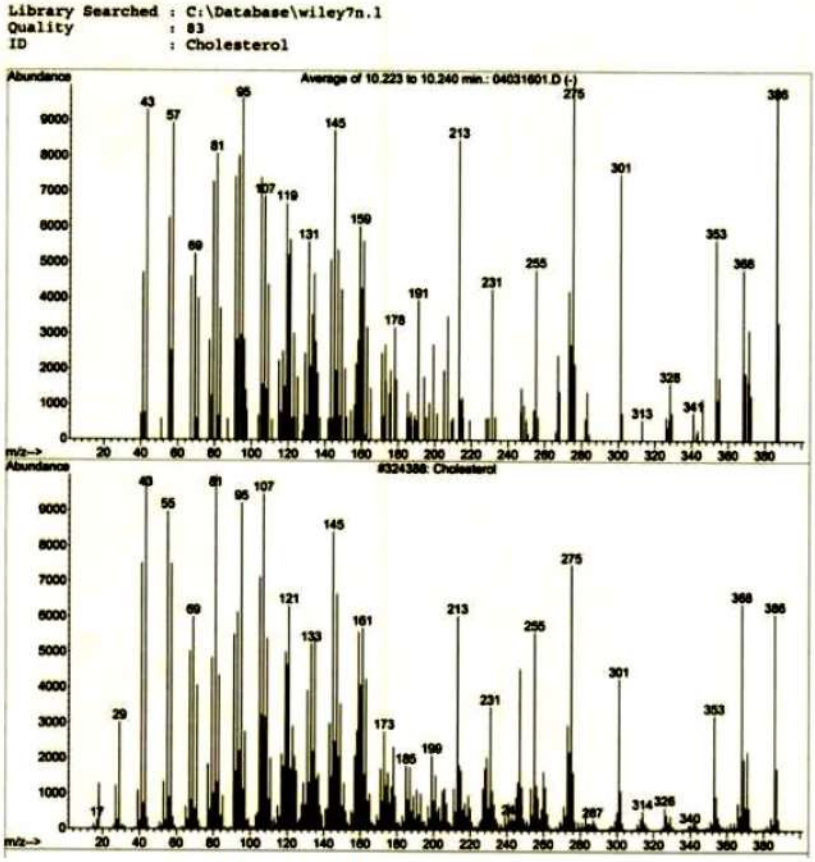


Рис - 5. Масс спектр холестерина.

Согласно результатам хроматограммы образец маргарина не содержит холестерина, при этом смесь маргарина и сливочного масла содержат меньшее количество и сливочное масло большее количество холестерина.

Для точного определения содержания холестерина в образцах были проанализированы хроматографические значения всех стандартов и образцов, по хроматограммам которых были получены в одинаковых условиях следующие значения:

Количество холестерина = (количество поверхности хроматограммы) * количество холестерина (мг) / количество образца г.)

Содержание холестерина в маргарине = 0,0 (количественная поверхность) * 0,5 мг (количество холестерина) / 4,9993 г (Количество пробы = 0,0 мг/г;

содержание холестерина в омихте масла и маргарина = 0,6 (количественная поверхность) * 0,5 мг (количество холестерина) / 4,9949 г (Количество пробы = 0,06 мг/г;

содержание холестерина в сливочном масле = 5,4 (количественная поверхность) * 0,5 мг (количество холестерина) / 1,0158 г (Количество пробы = 2,66 мг/г.

Опытная часть. Для определения холестерина в растительных и молочных жирных продуктах необходимо заранее приготовить ряд растворов.

Для приготовления первого раствора, то есть 1,1 моль/л раствора в этиловом спирте, взяли 28,1 мг раствора и растворяют в 500 миллилитрах этилового спирта.

Для приготовления второго раствора, то есть 1 мг/мл раствора стандартного холестерина, взяли 25 мг холестерина и растворяют в n-гексане до 25 миллилитров.

Для приготовления третьего раствора, 1 мг/мл раствора стандартного холестерина, взяли 25 мг холестерина и растворяют в 25 миллилитрах n-гексана.

В целях подготовки нормативов к анализу были взяты мерные колбы по 6 миллилитров для второго раствора и по 6 миллилитров для третьего раствора и помещены в них в следующих количествах:

Из второго раствора: 1) 0,5 мл; 2) 1,0 мл; 3) 2,0 мл; 4) 3,0 мл; 5) 4,0 мл; 6) 5,0 мл. Из третьего раствора выливали: 1) 0,5 мл; 2) 0,5 мл; 3) 0,5 мл; 4) 0,5 мл; 5) 0,5 мл; 6) 0,5 мл. Поверх растворов во все колбы наливали вещество n-гексан до тех пор, пока общий объем не достиг 10 мл, и вынимали для анализа на хроматомасс-спектрометре.

Для подготовки пробы к анализу целесообразно взять пробу в 1,0 грамма из-за высокого содержания холестерина в сливочном масле, в 5 раз больше из-за низкого содержания смеси сливочного масла и маргарина, а также 5,0 грамма, чтобы удостоверится, что маргарин не содержит холестерина. Количества, которые должны быть взяты из образцов, определяются путем повторения экспериментов до 10-го раза.

На основании того что количественный состав холестерина требует высокой точности взятых образцов, использовали весы с точностью до четырех цифр после запятой.

Согласно вышесказанному, из сливочного масла было взято 1,0158 грамм, из смеси сливочного масла и маргарина 4,9949 грамма и из маргарина 4,9993 грамма и помещено в 200 миллилитровую колбу эрленмейера. В него влили 0,5 миллилитра третьего раствора и 50 миллилитров первого.

Горлышко трубки закрывали пробкой (пробкой) с трубочкой и нагревали в течение 1 часа, встряхивая на водяной бане 80°C. Поочередно с открытым горлышком колбы в смесь наливали 50 миллилитров дистиллированной воды и 50 миллилитров петролейного эфира. Его хорошо встряхивали и наливали в 700 миллилитровую разделительную воронку, часто встряхивая разделительную воронку с открытыем и закрытыем горлышко в течение 1 минуты.

Затем его ошпаривали и отдельно выделяли водяную порцию. Эфирный остаток оставшегося раствора в разделительной воронке помещали в отдельно взятый контейнер для сбора таких остатков. В опорожненную сепарационную воронку наливали выделившуюся воду и добавляли в нее 50 миллилитров петролейного эфира. Смесь встряхивали в течение 1 минуты, и процесс настаивания, отделения части воды, был повторен. С другой стороны, эфирный остаток раствора, оставшийся в разделительной воронке, добавлялся к эфирному остатку в контейнере, где собирались эфирные остатки. Извлеченная вода выливалась в опорожненную сепарационную воронку, и процесс снова повторяли. Этот процесс продолжался до тех пор, пока не изменился цвет раствора фенолфталеина. Затем петролейнқй эфир сушили, добавляя соль сульфата натрия в эфирный раствор, и перегоняли в роторном испарителе путем фильтрации. Оставшийся раствор переливали в 10 миллилитровую мерную колбу, наполняли n-гексаном до отметки и анализировали на хроматометре последовательно со стандартными растворами.

В хроматомасс спектрометре анализы проводились в следующих условиях:

Капиллярная колонка HP-5ms (5% - фенил) - метилполисилоксан;

длина колонки – 30 м, внутренний диаметр – 0,32 мм;

неподвижная фаза – 0,25 мкм;

газ носитель – газообразный гелий;

температура инжектора – 300°C;

режим колонки – начальная температура 250°C (3 минуты), скорость 5°C/минуту, конечная температура 280°C (4 минуты);

испаритель давление потока (сплит) 30:1;

вводимое количество пробы составляет 1 мкл;

температура интерфейса детектора 280°C;

детектор: квадрупольный масс-спектрометр Agilent 5977A;

тип ионизации – электронный удар (70 эВ);

температура ионного источника 230°C;

спектр регистрировался в диапазоне 30-650 m /z.

Вывод. В связи с отсутствием или низким содержанием холестерина в маргарине или в смеси сливочного масла и маргарина, импортируемых в Республику Узбекистан, продукты классифицируются в группе 15 ТН ВЭД, если товар, рассматриваемый как сливоное масло, содержит большое количество холестерина, классифицируются в группе 04 ТН ВЭД и взимаются таможенные пошлины по ставкам, установленным законодательством.

Introduction. Butter is considered animal fat obtained from milk fat, that is, cream, and is classified in group 04 according to the Harmonized System - *a standardized numerical method of classifying traded products* (HS). At room temperature, it is in a solid state, since the melting point is in the range of 32 - 35°C. Vegetable oils are classified in the 15th group of HS. The fact that there is a sharp difference in the customs value of goods of groups 04 and 15 HS, entails the collection of customs duties from them in different amounts. In accordance with this, carrying out laboratory examination tests during customs clearance of goods of groups 04 and 15 of the HS ensures the correct and full receipt of funds to the state budget.

The substance cholesterol contained in butter is not contained in vegetable fats. This condition is explained by the presence of cholesterol in the nervous, adipose tissue, eggs and spermatozoa, liver, adrenal glands and other animals.

Cholesterol is an organic substance, which in Latin means solid bile.

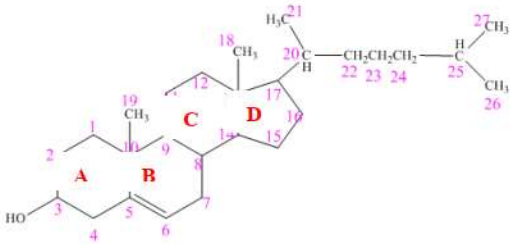


Fig - 1. Structure of cholesterol (numbering of carbon atoms).

The cholesterol molecule consists of three main parts:

1) tetracyclic carbon ring (A-D) as the core of steroids;

2) polar hydroxyl group attached to ring A;

3) a short nonpolar carbon chain attached to a D-ring [1, 2].

Cholesterol is the basis of steroids such as testosterone and estrogen, and cholesterol is the main component of lipoproteins [3].

Since all four rings of the sterol group are in a trans-conformational state, this gives the cholesterol molecule a building character. The double bond between C5 and C6 helps maintain cholesterol rigidity. More than 90% of cholesterol in cells is contained in plasma membranes [4].

Cholesterol is insoluble in water, well soluble in fats and organic solvents, synthesized in the body from fats, glucose and amino acids. 2.5 g of cholesterol is formed per day, and 0.5 g of it comes from food.

In the blood plasma, cholesterol is in the form of an ester along with high fatty acids (oleic acid). In the body, cholesterol is involved in the metabolism of adrenal hormones, bile acids, vitamin D and others. On average, human blood contains 150-200 mg% cholesterol. In people who eat more fatty foods, cholesterol levels rise, which leads to the formation of gallstones, the accumulation of cholesterol in the wall of blood vessels and metabolic disorders. A characteristic condition inherent in all animal fats is the presence of cholesterol in their composition. Cholesterol is found in animal fats and is not found in vegetable fats.

Since butter is obtained from animal fat, that is, cream, it contains cholesterol. The absence of cholesterol in the oil is a sign that it is obtained from plants. Therefore, if butter, a mixture of butter with margarine, sunflower, cotton, hemp oil has been received for examination, then it will be possible to draw conclusions on their types by determining the cholesterol content in them. Since

butter is animal fat, it will contain cholesterol, and since margarine is vegetable fat, it will not contain cholesterol. Therefore, the easiest and fastest way to differentiate them is to determine the presence of cholesterol.

Many methods have been developed to determine the presence of cholesterol in fats.

These include the enzymatic method of classical chemical analysis, high-performance liquid chromatography mass spectrometry.

Although these methods analyze the presence of cholesterol in fats with high accuracy, they do not allow you to quickly determine it. That is, for the enzymatic determination of cholesterol in fats by classical chemical analysis, it takes up to 1 day, and in high-performance liquid chromatography - mass spectrometry together with the sample preparation process- up to 6-8 hours. The customs clearance of the goods is suspended until the examination is carried out with the sample sent for customs examination and a conclusion is prepared. This circumstance leads to the fact that business entities incur costs of time and money. Therefore, the efficiency of the examination is considered essential and requires the use of techniques that allow customs examination to be carried out in a short 3 - 4 hours.

Public interest in dietary cholesterol has increased significantly due to the association of cholesterol levels in blood plasma with the risk of heart disease. Since about 20-25% of cholesterol in our body comes from animal products, such as eggs, mass, dairy products, etc. it is important to know the concentration of cholesterol in our diet [5].

Laboratories should provide nutritional information to food manufacturers in order to label products correctly, since food labels should inform consumers about the right food choices for a healthy diet and reduce the risk of nutrient-related diseases [6]. Thus, the assessment of cholesterol levels in food is crucial and stimulates the development of technologies for determining cholesterol levels [7, 8].

Methods for determining cholesterol.

Fluorometric-enzymatic analysis.

LC/LC MS high-performance liquid chromatography-mass spectrometry.

Sampling and sampling of solid vegetable oil and butter.

Sampling of oils in a solid state at ambient temperature is carried out without heating. In the case of submission for customs clearance of oils cast due to a decrease in temperature, samples from them are taken after dilution by preheating by a method that does not change the quality indicators. Sampling of oils in solid form is carried out using a special pin sampler. A special pin sampler cuts into a vessel with solid fat, cutting it in the transverse direction from the center. The sample is extracted by turning the sampler with a special pin.



Fig - 2. A special pin sampler.

The analytical part. As a result of the analysis, the following chromatograms were obtained.

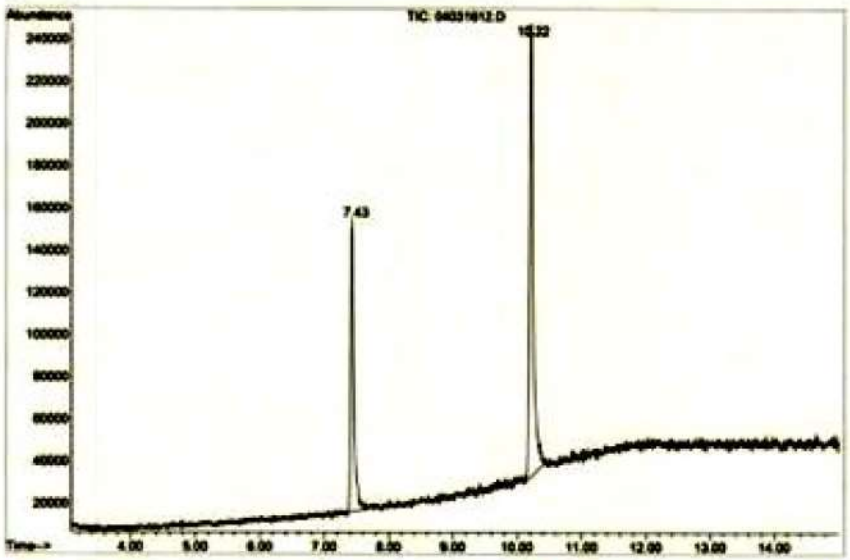


Fig - 3. Chromatogram of a mixture of cholesterol and cholesterol.

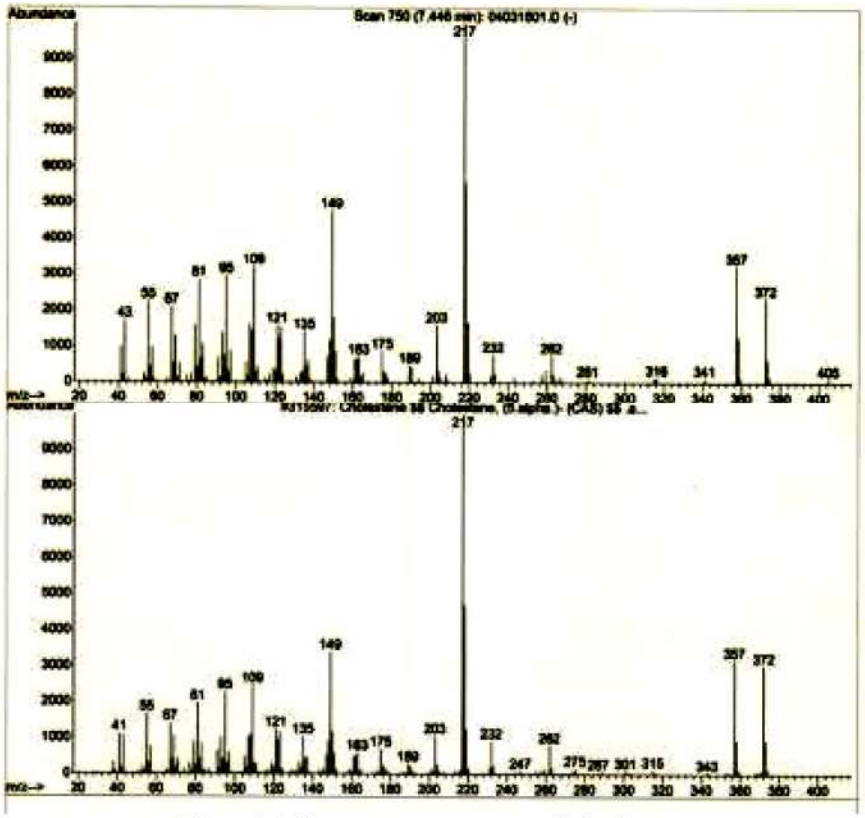


Fig - 4. The mass spectrum of cholestan.

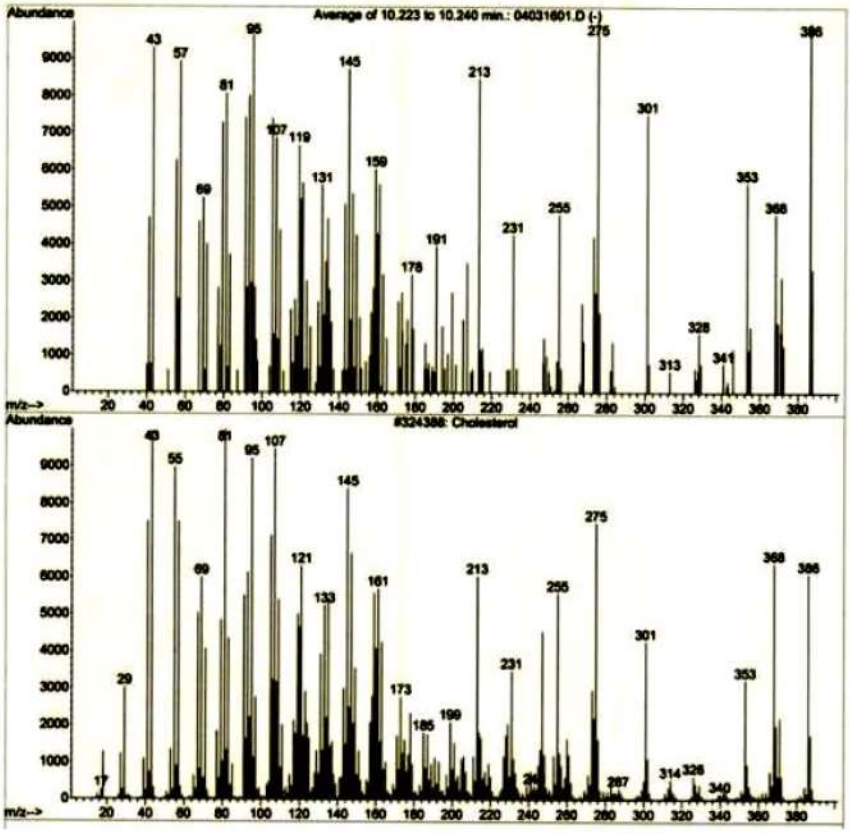


Fig - 5. The mass spectrum of cholesterol.

The above chromatogram and mass spectrum analysis show that the retention time of cholesterol was recorded at 7.43 minutes, whereas the retention time of the substance cholesterol was recorded at 10.21 minutes. According to the results of the chromatogram, the margarine sample does not contain cholesterol, while the mixture of margarine and butter contains a smaller amount and butter contains a larger amount of cholesterol. To accurately determine the cholesterol content in the samples, the chromatographic values of all standards and samples were analyzed, according to the chromatograms of which the following values were obtained under the same conditions:

Amount of cholesterol = (amount of chromatogram surface) * amount of cholesterol (mg) / amount of sample g.)

Cholesterol content in margarine = 0.0 (quantitative surface) * 0.5 mg (amount of cholesterol) / 4.9993 g (Amount of sample = 0.0 mg/g;

the cholesterol content in the oil and margarine mixture = 0.6 (quantitative surface) * 0.5 mg (amount of cholesterol) / 4.9949 g (Sample amount = 0.06 mg/g;

the cholesterol content in butter = 5.4 (quantitative surface) * 0.5 mg (amount of cholesterol) / 1.0158 g (Sample amount = 2.66 mg/g.

The experimental part. To determine cholesterol in vegetable and dairy fatty foods, it is necessary to prepare a number of solutions in advance.

To prepare the first solution, that is, 1.1 mol / l of the solution in ethyl alcohol, 28.1 mg of the solution was taken and dissolved in 500 milliliters of ethyl alcohol.

To prepare the second solution, that is, 1 mg / ml of a standard cholesterol solution, 25 mg of cholesterol was taken and dissolved in n-hexane to 25 milliliters.

To prepare the third solution, 1 mg / ml of a standard cholesterol solution, 25 mg of cholesterol was taken and dissolved in 25 milliliters of n-hexane.

In order to prepare the standards for analysis , measuring flasks of 6 milliliters for the second solution and 6 milliliters for the third solution were taken and placed in them in the following quantities:

From the second solution: 1) 0.5 ml; 2) 1.0 ml; 3) 2.0 ml; 4) 3.0 ml; 5) 4.0 ml; 6) 5.0 ml. From the third solution was poured: 1) 0.5 ml; 2) 0.5 ml; 3) 0.5 ml; 4) 0.5 ml; 5) 0.5 ml; 6) 0.5 ml. Over the solutions, the substance n-hexane was poured into all flasks until the total volume reached 10 ml, and taken out for analysis on a chromatomass spectrometer.

To prepare a sample for analysis, it is advisable to take a sample of 1.0 grams due to the high cholesterol content in butter, 5 times more due to the low content of a mixture of butter and margarine, as well as 5.0 grams to make sure that margarine does not contain cholesterol. The quantities to be taken from the samples are determined by repeating the experiments up to the 10th time.

Based on the fact that the quantitative composition of cholesterol requires high accuracy of the samples taken, scales with an accuracy of up to four digits after the decimal point were used.

According to the above, 1.0158 grams were taken from butter, 4.9949 grams from a mixture of butter and margarine and 4.9993 grams from margarine and placed in a 200 milliliter Erlenmeyer flask. 0.5 milliliters of the third solution and 50 milliliters of the first were poured into it.

The neck of the tube was closed with a stopper (stopper) with a tube and heated for 1 hour, shaking in a water bath 80 ° C. Alternately, 50 milliliters of distilled water and 50 milliliters of petroleum ether were poured into the mixture with the flask neck open. It was shaken well and poured into a 700 milliliter separation funnel, often shaking the separation funnel with the neck open and closed for 1 minute.

Then he was scalded and a water portion was isolated separately. The ether residue of the remaining solution in the separation funnel was placed in a separate container for collecting such residues. The released water was poured into the emptied separation funnel and 50 milliliters of petroleum ether were added to it. The mixture was shaken for 1 minute, and the process of infusing, separating part of the water, was repeated. On the other hand, the ether residue of the solution remaining in the separation funnel was added to the ether residue in the container where the ether residues were collected. The extracted water was poured into the emptied separation funnel, and the process was repeated again. This process continued until the color of the phenolphthalein solution changed. Then petroleum ether was dried by adding sodium sulfate salt to the ether solution, and distilled in a rotary evaporator by filtration. The remaining solution was poured into a 10 milliliter volumetric flask, filled with n-hexane to the mark and analyzed on a chromatometer sequentially with standard solutions.

In the chromatomass spectrometer, the analyses were carried out under the following conditions:

Capillary column HP-5ms (5% - phenyl) - methylpolysiloxane;
column length – 30 m, inner diameter – 0.32 mm;
stationary phase – 0.25 microns;
carrier gas – gaseous helium;
injector temperature – 300°C;
column mode – initial temperature 250°C (3 minutes), speed 5°C/minute, final temperature 280°C (4 minutes);
evaporator flow pressure (split) 30:1;
the injected amount of the sample is 1 µl;
detector interface temperature 280°C;
Detector: quadrupole mass spectrometer Agilent 5977A;
type of ionization – electronic shock (70 eV);
ion source temperature 230 ° C;
the spectrum was recorded in the range 30-650 m/z.

Conclusion. Due to the absence or low content of cholesterol in margarine or in a mixture of butter and margarine imported into the Republic of Uzbekistan, products are classified in the 15 HS

group, if the goods considered as butter contains a large amount of cholesterol, are classified in the 04 HS group and customs duties are levied at the rates established by law.

References

1. Zhou Y, Briand V, Sharma N, Ahn S, Kasi R. Polymers comprising cholesterol: synthesis, self-assembly, and applications. Materials (Basel) 2009.

2. Song Y, Kenworthy AK, Sanders CR. Cholesterol as a cosolvent and a ligand for membrane proteins. Protein Sci 2014.

3. Mauvais-Jarvis F, editor. Sex and gender factors affecting metabolic homeostasis, diabetes and obesity, vol. 1043. Cham: Springer International Publishing; 2017.

4. Goluszko P, Nowicki B. Membrane cholesterol: a crucial molecule affecting interactions of microbial pathogens with mammalian cells. Infect Immun 2005.

5. Clayton ZS, Fusco E, Kern M. Egg consumption and heart health: a review. Nutrition 2017.

6. Rimpeekool W, Yiengprugsawan V, Kirk M, Banwell C, Seubsman S, Sleigh A. Nutrition label experience, obesity, high blood pressure, and high blood lipids in a cohort of 42,750 Thai adults. PloS One 2017.

7. Park J-M, Jeong I-S, Kwak B-M, Ahn J-H, Leem D, Jeong J, et al. Application of rapid sample preparation method and monitoring for cholesterol content in chicken egg and egg powder. Korean J Food Sci Anim Resour 2013.

8. Al-Balaa D, Rajchl A, Gr_egrov_a A, _Sev_cı´k R, _Cı´_zkov_a H. DART mass spectrometry for rapid screening and quantitative determination of cholesterol in egg pasta. J Mass Spectrom 2014.

Author Biographies

Bakhtiyor Yo. Abduganiyev*, Customs institute of the customs committee of the Republic of Uzbekistan*

Associate Professor of the Department of Chemistry, Doctor of Philosophy in Chemistry.

Ibrogim R. Asqarov*, Andijan State University*

Professor of the Department of Chemistry, Honored Inventor of Uzbekistan, Chairman of the TABOBAT Academy of Uzbekistan