

## Esteri metilici ai acizilor grași

### Compuși etalon pentru atribuirea semnalelor în spectrele RMN de rezoluție înaltă ale uleiurilor comestibile

C.Z.: 542.951.3 : 543.422

*<sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR for saturated, unsaturated and polyunsaturated methyl esters of fatty acids are presented. Signal assignments and general features of the spectra are discussed.*

În chimia alimentară tehnicile RMN de rezoluție joasă sunt metode analitice de rutină, în vreme ce spectroscopia RMN de rezoluție înaltă este încă privită exclusiv ca o metodă de cercetare.

Unul dintre domeniile în care protocoalele analitice bazate pe RMN de rezoluție înaltă au șanse să fie acceptate pe scară largă în anii ce vin, ca o alternativă la metodele clasice de analiză în chimia alimentară este acela al uleiurilor comestibile. Studii anterioare [1-2] au demonstrat, atât puterea analitică a metodei (de exemplu posibilitatea de a determina distribuția acizilor grași în cele două poziții marginale sau cea centrală ale trigliceridei), cât și avantajul eliminării prelucrării inițiale a probei (care în cazul cromatografiei de gaze constă în saponificare urmată de esterificare).

În contextul interesului crescut pentru această metodă analitică comodă [13-15], atribuirea semnalelor RMN ale lanțurilor de acizi grași este o condiție esențială pentru alegerea semnalelor optime care să fie integrate.

În această lucrare se prezintă atribuirea semnalelor în spectrele <sup>1</sup>H- și <sup>13</sup>C-RMN ale esterilor metilici ai unor acizi grași aleși ca model pentru trigliceridele acizilor grași.

#### Partea experimentală

Compușii 1-17 sunt probe comerciale. Compușii 1 [CAS Registry Number 106-70-7], 2 [106-73-0], 3 [111-11-5], 4 [1731-84-6], 5 [110-42-9], 6 [1731-86-8], 7 [111-82-0] și 8 [124-10-7] sunt produși de PolyScience Corporation IL și au fost folosiți fără purificare prealabilă. Compusul 9 [112-39-0] este produs de către PolyScience Corporation IL sub forma unei soluții 10% în etilbenzen. Înainte de prepararea soluției în cloroform deuterat etilbenzenul a fost evaporat la vid. Compușii 10 [1120-28-1], 11 [929-77-1], 12 [2442-49-1], 13 [2462-84-2], 14 [112-62-9], 15 [1120-34-9], 16 [112-63-0] și 17 [301-00-8] sunt produși Merck și au fost folosiți fără purificare prealabilă.

Spectrele RMN au fost înregistrate pe un spectrometru de tipul Varian Gemini-300 multinuclear la 300,075 MHz pentru nucleii <sup>1</sup>H și 75,462 MHz pentru <sup>13</sup>C. Probele au fost preparate în tuburi de 5 mm de tipul Norell 507 sub forma unei soluții 1% sau 50% în volume în cloroform deuterat pentru spectrele <sup>1</sup>H-, respectiv <sup>13</sup>C-RMN. Pentru spectrele bidimensionale a fost folosită aceeași concentrație ca și pentru spectrele <sup>13</sup>C-RMN.

Spectrele <sup>1</sup>H-RMN au fost înregistrate cu 16 tranzienți folosind pulsuri de 45°, timpi de achiziție de 2 s și ferestre spectrale de 2,6 KHz.

Spectrele <sup>13</sup>C-RMN rapide au fost înregistrate cu 1024 tranzienți folosind pulsuri de 30°, timpi de achiziție de 0,8 s, ferestre spectrale de 15 KHz și decuplare neselectivă a nucleilor <sup>1</sup>H cu secvența Waltz-16.

---

Ing. CĂLIN DELEANU, fiz. CLAUDIA ENACHE, dr. ing. MIRON T. CĂPROIU, fiz. GABRIEL CORNILESCU și ing. ANCA HÎRTOPEANU, Academia Română, Institutul de Chimie Organică "Costin D. Nenițescu"

Spectrele  $^{13}\text{C}$ -RMN cantitative au fost înregistrate în condiții similare celor rapide, dar au fost colectați numai 512 tranzienți, folosind o secvență Waltz-16 limitată la perioada anterioară achiziției pentru reducerea efectelor NOE, și introducând o perioadă de relaxare de 20 s după cea de achiziție.

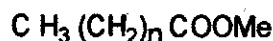
Spectrele H-C COSY au fost înregistrate folosind secvența pusă la dispoziție de firma producătoare a spectrometrului și descrisă în literatură [16-18].

Spectrele Long Range H-C COSY au fost înregistrate cu o secvență COSY, care a fost modificată conform literaturii existente [19].

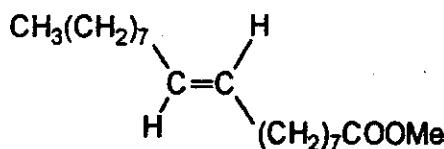
## Rezultate și discuții

### Compușii model

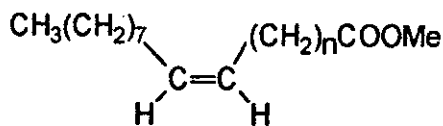
Au fost studiați esterii metilici ai următorilor acizi grași: hexanoic (caproic) (C6:0) (1), heptanoic (oenantic) (C7:0) (2), octanoic (caprilic) (C8:0) (3), nonanoic (pelargonic) (C9:0) (4), decanoic (capric) (C10:0) (5), undecanoic (hendecanoic) (C11:0) (6), dodecanoic (lauric) (C12:0) (7), tetradecanoic (miristic) (C14:0) (8), hexadecanoic (palmitic) (C16:0) (9), eicosanoic (arahidic) (C20:0) (10), docosanoic (behenic) (C22:0) (11), tetracosanoic (lignoceric) (C24:0) (12), *trans*-9-octadecenoic (elaidic) (C18:1 *trans*) (13), *cis*-9-octadecenoic (oleic) (C18:1 *cis*) (14), *cis*-13-docosenoic (erucic) (C22:1 *cis*) (15), *cis*-9-*cis*-13-octadecadienoic (linoleic) (C18:2 *cis*) (16) și *cis*-9-*cis*-12-*cis*-15-octadecatrienoic (linolenic) (C18:3 *cis*) (17).



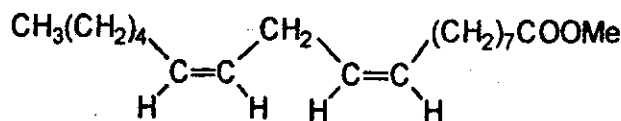
1, n=4; 2, n=5; 3, n=6; 4, n=7; 5, n=8; 6, n=9; 7, n=10;  
8, n=12; 9, n=14; 10, n=18; 11, n=20; 12, n=22.



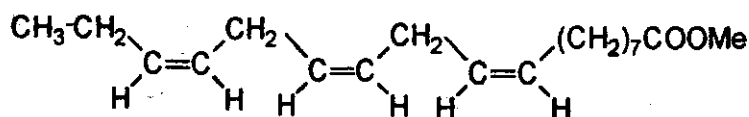
13



14, n=7; 15, n=11



16



### Aspecte generale ale spectrelor RMN

Spectre tipice  $^1\text{H}$ - și  $^{13}\text{C}$ -RMN ale compușilor studiați sunt prezentate în figurile 1 și 2 pentru cazul esterului 16. Astfel, în spectrul  $^1\text{H}$ -RMN (fig. 1) se pot distinge ușor semnalele protonilor grupei MeO (3,66 ppm, s) celor două legături duble (5,25-5,45 ppm, m) grupei  $\text{CH}_2$  din poziția  $\alpha$  față de grupa COO (2,30 ppm, t) grupei  $\text{CH}_2$  din poziția  $\beta$  față de COO (1,62 ppm, cvintet larg), grupei  $\text{CH}_2$  care separă cele două legături duble (2,77 ppm, t), celor două grupe  $\text{CH}_2$  care flanchează sistemul legăturilor duble (2,00-2,10 ppm, m) și al grupei  $\text{CH}_3$  marginale (0,89 ppm, triplet deformat). Toate celelalte grupe  $\text{CH}_2$  apar sub

forma unui siglet larg la 1,31 ppm. Spectrele  $^1\text{H-RMN}$  ale compușilor 1-17 sunt similare. Prezența sau absența unora dintre semnalele descrise, ca și variații ale integralelor acestor semnale indică prezența sau absența legăturilor duble ca și numărul grupelor  $\text{CH}_2$  din lanțul hidrocarbonat. Tabelul 1 prezintă deplasările chimice din spectrele  $^1\text{H-RMN}$  ale compușilor studiați.

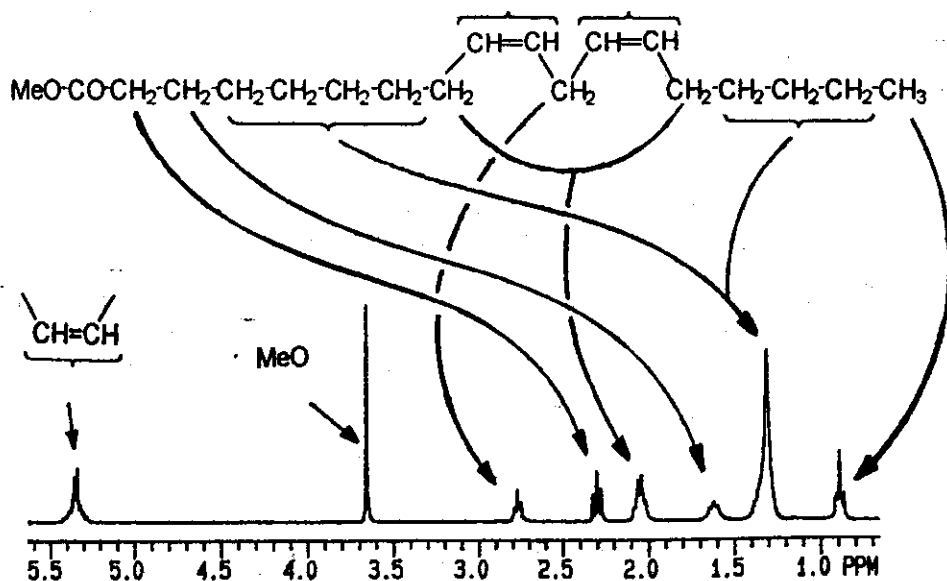


Fig. 1. Spectrul  $^1\text{H-RMN}$  al esterului metilic al acidului linoleic (16)

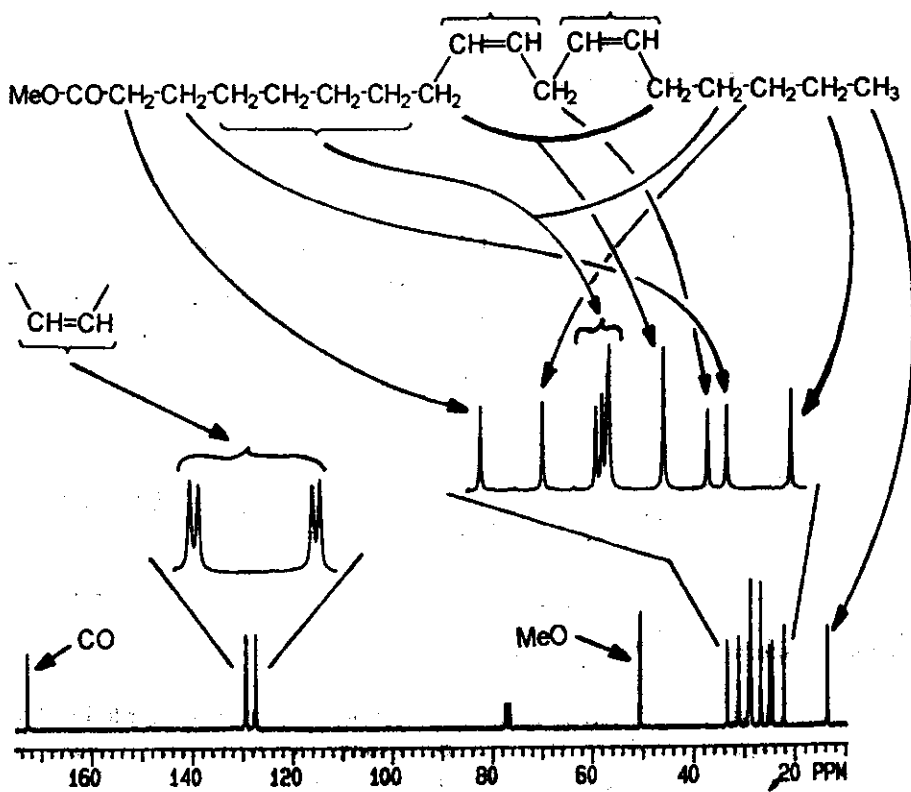


Fig. 2. Spectrul  $^{13}\text{C-RMN}$  al esterului metilic al acidului linoleic (16)

Deși tipul de acid gras poate fi ușor determinat din spectrul  $^1\text{H-RMN}$ , utilitatea acestor spectre, pentru amestecuri de acizi grași, este relativ limitată. Suprapunerea semnalelor grupelor similare aparținând unor tipuri diferite de acizi grași reduce utilitatea spectrelor  $^1\text{H-RMN}$  la o imagine mai mult calitativă asupra amestecului.

Un spectru tipic  $^{13}\text{C-RMN}$  este prezentat în figura 2 pentru cazul aceluiași ester (16). Pot fi distinse cinci zone principale în spectrul  $^{13}\text{C-RMN}$ . Semnalul grupei COO la 174 ppm, zona legăturilor duble între 125-132 ppm, grupa MeO la 51 ppm, grupele  $\text{CH}_2$  între 19-35 ppm și grupa  $\text{CH}_3$  terminală la 14 ppm.

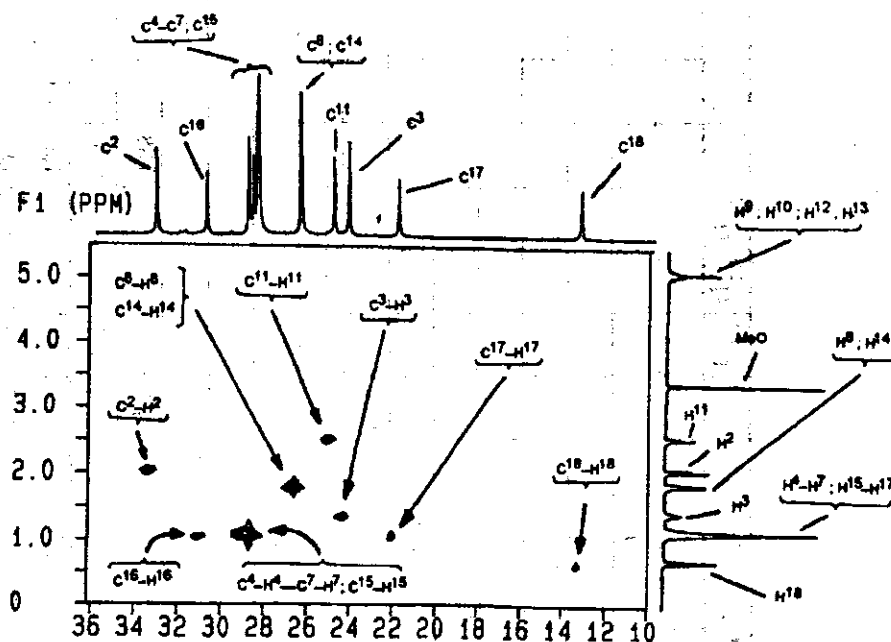


Fig. 3. Detaliu din spectrul H-C COSY al esterului metilic al acidului linoleic (16)

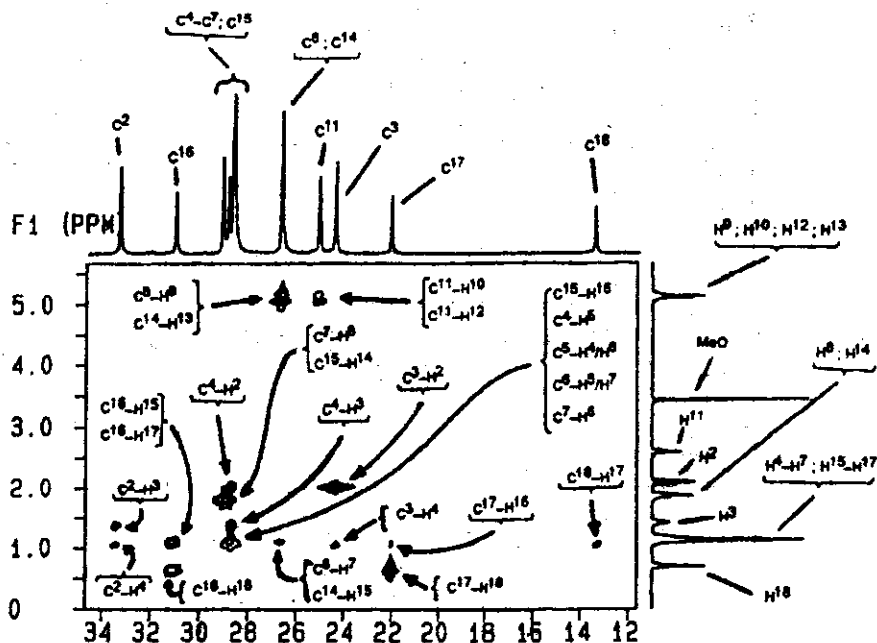


Fig. 4. Detaliu din spectrul Long Range H-C COSY al esterului metilic al acidului linoleic (16)

Tabelul 1

SPECTRELE <sup>1</sup>H-RMN ALE COMPUSILOR 1-17 ÎN CLOROFORM DEUTERAT  
 DEPLASĂRILE CHIMICE SUNT EXPRESATE ÎN ppm CA VALORI ȘI SUNT REFERITE LA TMS CA STANDARD INTERN. DEPLASĂRILE CHIMICE ALE PROTONILOR  
 APARTINAND LEGĂTURILOR DUBLE SUNT SUBLINATE

	MeO	H <sup>2</sup>	H <sup>3</sup>	H <sup>4</sup>	H <sup>5</sup>	H <sup>6</sup>	H <sup>7</sup>	H <sup>8</sup>	H <sup>9</sup>	H <sup>10</sup>	H <sup>11</sup>	H <sup>12</sup>	H <sup>13</sup>	H <sup>14</sup>	H <sup>15</sup>	H <sup>16</sup>	H <sup>17</sup>	H <sup>18</sup>	H <sup>19</sup>	H <sup>20</sup>	H <sup>21</sup>	H <sup>22</sup>	H <sup>23</sup>	H <sup>24</sup>	
1 (C6:0)	3,66	2,31	1,63	1,20-1,40	0,90																				
2 (C7:0)	3,66	2,31	1,62	1,20-1,40	0,89																				
3 (C8:0)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88																				
4 (C9:0)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88																
5 (C10:0)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88																
6 (C11:0)	3,65	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88																
7 (C12:0)	3,65	2,29	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88																
8 (C14:0)	3,67	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88																
9 (C16:0)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88																
10 (C20:0)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88												0,88				
11 (C22:0)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88												0,88				
12 (C24:0)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	0,88				0,88												0,88				
13 (C18:1-o)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	1,96	5,38	1,96	5,38	1,96	1,96	1,96	1,96	1,96	1,20-1,40	1,20-1,40	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88					
14 (C18:1-e)	3,67	2,30	1,62	1,20-1,40	2,01	5,35	2,01	5,35	2,01	2,01	2,01	2,01	2,01	1,20-1,40	1,20-1,40	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88					
15 (C22:1-e)	3,65	2,29	1,62	1,20-1,40	2,01	5,35	2,01	5,35	2,01	2,01	2,01	2,01	2,01	1,20-1,40	1,20-1,40	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88					
16 (C18:2-e)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	2,05	5,36	2,77	5,36	2,77	2,77	2,77	2,77	2,77	1,20-1,40	1,20-1,40	0,89	0,89	0,89	0,89	0,89					
17 (C18:3-e)	3,66	2,30	1,62	1,20-1,40	2,05	5,35-5,37	2,80	5,35-5,37	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	1,20-1,40	1,20-1,40	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97					

Tabelul 2

SPECTRELELE <sup>13</sup>C-RMN ALE COMPUȘILOR 1-17 ÎN CLOROFORM DEUTERAT DEPLASĂRILE CHIMICE SUNT EXPRIMATE ÎN ppm CA VALORI δ ȘI SUNT REFERITE LA SEMNALUL CDCl<sub>3</sub> (77,00 ppm) CA STANDARD INTERN. DEPLASĂRILE CHIMICE ALE ATOMILOR DE CARBON APARTINÂND LEGĂTURILOR DUBLE SUNT SUBLINIATE

	MeO	CO <sup>1</sup>	C <sup>2</sup>	C <sup>3</sup>	C <sup>4</sup>	C <sup>5</sup>	C <sup>6</sup>	C <sup>7</sup>	C <sup>8</sup>	C <sup>9</sup>	C <sup>10</sup>	C <sup>11</sup>	C <sup>12</sup>	C <sup>13</sup>	C <sup>14</sup>	C <sup>15</sup>	C <sup>16</sup>	C <sup>17</sup>	C <sup>18</sup>	C <sup>19</sup>	C <sup>20</sup>	C <sup>21</sup>	C <sup>22</sup>	C <sup>23</sup>	C <sup>24</sup>		
1	51,11	173,98	33,81	24,46	31,14	22,14	13,64																				
2	51,42	174,31	34,15	25,01	28,93	31,56	22,57	14,05																			
3	51,19	174,07	33,92	24,83	28,81	28,98	31,53	22,46	13,87																		
4	51,09	173,95	33,87	24,79	28,99	28,99	29,08	31,66	22,47	13,84																	
5	51,04	173,87	33,84	24,77	28,99	29,10	29,26	29,10	31,70	22,48	13,82																
6	51,01	173,83	33,83	24,77	28,99	29,14	29,30	29,39	29,14	31,73	22,49	13,82															
7	50,93	173,70	33,78	24,74	28,97	29,09	29,28	29,42	29,42	29,15	31,73	22,47	13,78														
8	51,35	174,26	34,11	24,96	29,15	29,24	29,43	29,57	29,62	29,63	29,62	29,32	31,90	22,66	14,06												
9	51,37	174,31	34,12	24,96	29,15	29,24	29,44	29,65	29,65	29,65	29,65	29,65	29,65	29,34	31,91	22,67	14,07										
10	51,42	174,34	34,11	24,96	29,15	29,26	29,45	29,60	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,35	31,93	22,69	14,11			
11	51,34	174,25	34,12	24,97	29,17	29,25	29,45	29,59	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,69	29,70	29,70	29,36	31,93	22,67	14,07	
12	51,38	174,31	34,13	24,98	29,17	29,26	29,45	29,59	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,70	29,36	31,93	22,69	14,08
13	51,33	174,21	34,08	24,94	28,91	29,10	29,16	29,29	32,52	130,45	130,18	32,57	29,64	29,54	29,47	29,10	31,88	22,65	14,05								
14	51,37	174,24	34,10	24,96	29,09	29,13	29,31	29,31	27,16	129,74	125,99	27,22	29,77	29,68	29,52	29,13	31,90	22,67	14,07								
15	51,17	173,39	33,94	24,85	29,07	29,18	29,22	29,22	29,37	29,46	29,53	29,53	27,10	129,70	129,70	27,10	29,68	29,68	29,68	29,68	29,68	29,22	31,83	22,59	13,97		
16	51,34	174,19	34,08	24,94	29,11	29,11	29,32	29,57	27,18	130,00	127,87	25,63	128,01	130,17	27,18	29,11	31,51	22,54	14,00								
17	51,20	174,01	33,93	24,80	28,98	28,98	28,99	29,44	27,07	130,06	127,61	25,49	128,11	128,11	25,40	126,99	131,75	20,42	14,11								

Zonele grupelor COO (estic) și CH (legăturile duble) sunt cel mai ușor de analizat. Din acest motiv cele mai multe studii RMN ale uleiurilor comestibile s-au concentrat asupra acestor semnale. În ciuda numărului relativ mic de semnale și a ușurii în atribuirea lor la amestecuri, integrarea acestora este mai puțin exactă decât pentru celelalte semnale datorită, pe de o parte, timpilor de relaxare mari pentru grupele COO și, pe de altă parte, nevoii de mărire a rezoluției atât pentru semnalele COO, cât și pentru CH.

Dintre semnalele aparținând grupelor CH<sub>2</sub> unele pot fi atribuite fără ambiguitate. Astfel, cele patru semnale marginale din zona grupelor CH<sub>2</sub> sunt atribuite următoarelor grupe: 22,00-22,60 ppm semnalul ultimei grupe CH<sub>2</sub> din lanțul hidrocarbonat (α față de CH<sub>3</sub>), 24,45-25,00 ppm a doua grupă CH<sub>2</sub> din catenă (C<sup>3</sup>, β față de COO), 31,10-31,95 ppm penultima grupă CH<sub>2</sub> din catenă (β față de CH<sub>3</sub>) și 33,80-34,14 ppm semnalul corespunzând primei grupe din catenă (C<sup>2</sup>, α față de COO). Toate celelalte grupe CH<sub>2</sub> rezonează între 27,05-27,25 ppm. În cazul în care există legături duble în catenă, în spectrul <sup>13</sup>C-RMN mai apar încă unul sau mai multe semnale tipice. Astfel, cele două grupe CH<sub>2</sub>, care flanchează o legătură dublă *cis* sau un sistem format din mai multe legături *cis*, apar între 27,05-27,25 ppm. Dacă legătura dublă are configurația *trans*, aceste semnale sunt deplasate la aproximativ 32,5 ppm. Dacă o legătură dublă se află în poziția β față de grupa CH<sub>3</sub> terminală, atunci ultima grupă CH<sub>2</sub> din catenă (α față de CH<sub>3</sub>) apare la aproximativ 20 ppm în loc de 22 ppm cât este valoarea normală.

Pentru grupele CH<sub>2</sub> din mijlocul catenei la care (în funcție de lungimea catenei și tăria câmpului magnetic al spectrometrului) apar suprapuneri ale semnalelor au fost sugerate diferite atribuții la compuși înrudiți cu catene lungi saturate [20-21].

Pentru compușii 1-17 analizați ca soluții în cloroform deuterat, s-au atribuit experimental primele patru poziții din catenă (C<sup>1</sup>-C<sup>4</sup>) și ultimele trei poziții (C<sup>n</sup>-C<sup>n-2</sup>). Un exemplu de atribuție este prezentat pentru compusul 16. Figurile 3 și 4 prezintă experimente H-C COSY și respectiv Long Range H-C COSY pentru acest caz. Spectrele complete <sup>13</sup>C-RMN pentru compușii 1-17 sunt prezentate în tabelul 2. Pozițiile din mijlocul catenei au fost atribuite în acord cu regula stabilită de Bengsch [21].

## Concluzii

Atribuirea fără echivoc a mai multor semnale ale grupelor CH<sub>2</sub> în spectrele <sup>13</sup>C-RMN ale esterilor acizilor grași saturați, mononesaturați și polinesaturați ar trebui să permită analiza cantitativă a amestecurilor acestor esteri sau a uleiurilor alimentare pe baza integrării exclusiv a semnalelor de tip CH<sub>2</sub>. Integrarea semnalelor grupelor CH<sub>2</sub> în spectrele <sup>13</sup>C-RMN se face cu precizie mai bună, decât în cazul semnalelor grupelor COO sau CH, atât problemele legate de timpii de relaxare, cât și cele legate de rezoluție, nefiind atât de critice.

\*\*\*

Autorii mulțumesc Comisiei Europene pentru proiectul de cercetare ERBCIPECT 926128 care le-a permis să realizeze studiul descris în această lucrare și să se integreze în Acțiunea Concertată Nr. 1 FLAIR/QUEST și în programul COST 901.

C. Deleanu mulțumește D-nei Sarah Biffen pentru sprijinul oferit în cadrul inițiativei Spectroteam for Romania.

## Bibliografie

1. SCHAEFER, J. și STEJSKAL, E.O., J. Amer. Oil Chem. Soc., **51**, 1974, p. 210
2. SCHAEFER, J. și STEJSKAL, E.O., J. Amer. Oil Chem. Soc., **51**, 1975, p. 366
3. CHEN, S.-C., ELOFSON, R.M. și MacTAGGART, J.M., J. Agric. Food Chem., **27**, nr. 2, 1979, p. 435
4. WOLLENBERG, K.F., J. Amer. Oil Chem. Soc., **67**, nr. 8, 1990, p. 487
5. BONNET, M., DENOYER, C. și RENOUI, J.P., Int. J. Food Sci. Tech., **25**, 1990, p. 399
6. BONNET, M. și RENOUI, J.P., Analisus, **18**, 1990, p. 122
7. SACCHI, R., PAOLILLO, L., GIUDICIANNI, I. și ADDEO, F., Ital. J. Food Sci., **3**, nr. 4, 1991, p. 253
8. SACCHI, R., ADDEO, F., GIUDICIANNI, I. și PAOLILLO, L., Ital. J. Food Sci., **4**, nr. 2, 1992, p. 117
9. WOLLENBERG, K., J. Amer. Oil Chem. Soc., **68**, nr. 6, 1991, p. 391
10. SACCHI, R., MEDINA, L., AUBOURG, S.P., ADDEO, F. și PAOLILLO, L., J. Amer. Chem. Oil Soc., **70**, nr. 3, 1993, p. 225
11. GUNSTONE, F.D., J. Amer. Oil Chem. Soc., **70**, nr. 4, 1993, p. 361
12. GAYDOU, E.M., RAMANDELINA, A.R.P., RASOARAHONA, J.R.E. și COMBRES, A., J. Agric. Food Chem., **41**, nr. 1, 1993, p. 64
13. SCOTTER, C., Food Technol. Int. Eu., 1991, p. 247
14. SCOTTER, C., Eu Food Drink Rev., nr. 2, 1993, p. 82
15. DELEANU, C., HIRTOPEANU, A., CAPROIU, M.T. și SCOTTER, C., Rev. Chim. (București), **44**, nr. 11, 1993, p. 941
16. BAX, A. și MORRIS, G.A., J. Magn. Reson., **42**, 1981, p. 501
17. BAX, A., J. Magn. Reson., **53**, 1983, p. 512
18. RUTAR, V., J. Magn. Reson., **58**, 1984, p. 306
19. QUAST, M., ZEKTZER, A.-S., MARTIN, G.E. și CASTLE, R.N., J. Magn. Reson., **71**, 1987, p. 554
20. BARTON II, F.E., HIMMELSBACH, D.S. și WALTERS, D.B., J. Amer. Oil Chem. Soc., **55**, 1978, p. 574
21. BENSCH, E., PERLY, B., DELEUZE, C. și VALERO, A., J. Magn. Reson., **68**, 1986, p. 1

Întriat în redacție: 22 IX 1994