

## СОДРЖИНА НА МАСНИ КИСЕЛИНИ ВО МАСЛОТО ОД СЕМЕТО НА СОРТАТА ТУТУН П-23

М. Србиноска<sup>1</sup>, Н. Герчар<sup>2</sup>, Б. Симоновска<sup>2</sup>, В. Најденова<sup>3</sup>, В. Рафајловска<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт за тутун, Прилеп, Република Македонија

<sup>2</sup>Хемиски институт, Љубљана, Република Словенија

<sup>3</sup>Технолошко-Металуршки факултет, Скопје, Република Македонија

### ВОВЕД

Постојат голем број податоци за застапеноста и компонентниот состав на масните киселини во листот од тутунот (*Nicotiana tabacum L.*), главно поради нивното влијание врз квалитетот на тутунската суровина (Tso, 1990; Leffingwell, 1999). Најзастапени масни киселини кај ферментираниот тутун се палмитинската, олеинската, линолната и линоленската киселина (Court et al., 1986; Yanqiang et al., 2000, Ng, 2002).

Од друга страна, само во неколку трудови е испитувана содржината и составот на масните киселини во семето од тутунот (MacCarthy et al., 1980; Koiwai et al., 1983; Frega et al., 1991; Zlatanov et al., 2002). Семето на оваа култура е богато со масло кое сочинува 30-40% од вкупната маса, а останатиот дел е составен од белковини, растителни влакна, јаглехидрати и неоргански материји (Rubin, 1971; Frega et al., 1991).

Испитувањата на MacCarthy et al. (1980), покажаа дека од масните киселини во маслото издвоено од тутунско семе застапени се линолната (75%), олеинската (15%), палмитинската (7%) и стеаринската киселина (3%). Koiwai et al. (1983), го испитувале квалитативниот состав на масните

киселини кај тутунското семе и одредиле дека со најголемо количество се застапени линолната (65-75%), линоленската и палмитинската киселина.

Според Frega et al. (1991), во маслото од тутунското семе најзастапена е линолната киселина (74-76%), а потоа следуваат палмитинската и олеинската киселина (8-10% и 9-11%, соодветно).

Испитувањата на Zlatanov et al. (2002), покажаа дека во семето од сортата тутун Rila 89 најзастапени се линолната и олеинската киселина, а кај сортата Coker 254 олеинската киселина е застапена со поголемо количество во однос на линолната киселина.

Сепак треба да се нагласи дека составот и количината на масните киселини во тутунското семе зависи од типот на тутунот, како и од климатските и агротехничките услови при неговото одгледувањето (Tso et al., 1990).

Главна цел на овој труд е да се одреди составот на масни киселини во маслото од семето на сортата П-23, со што би се карактеризирало како алтернативен продукт на оваа култура.

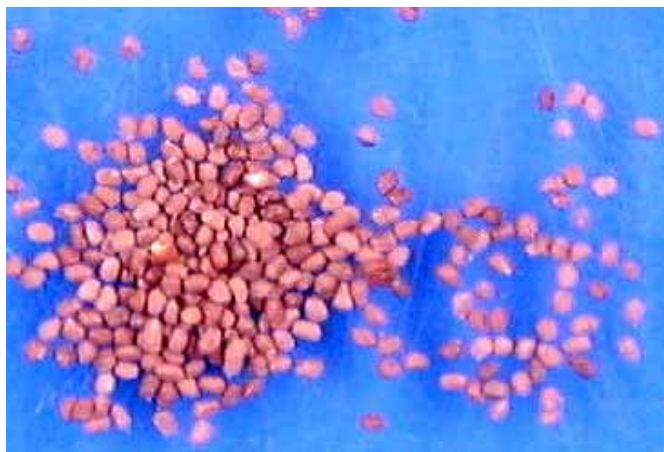
### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ

#### Материјали

• Зрело семе од сортата П-23, реколта 2000 година, произведено според вообичаената производствена практика на Инсти-

тутот за тутун од Прилеп, Република Македонија. Пред мелењето семето беше сушено во сушница, 4h на 40°C.

- Стандарди од индивидуални метил естри на масни киселини (99% чистота, Supelco, Швајцарија)
- Растворувачи: n-хексан и бензен (Алкалоид, Скопје)
- Безводен натриум сулфат (Алкалоид, Скопје)
- 10% раствор од бортриофлуорид ( $\text{BF}_3$ ) во метанол (Fluka, Швајцарија)



Слика 1. Тутунско семе  
Fig.1 Tobacco seed

### Методи за анализа

*Содржина на сува маса и содржина на неоргански материји:* со сушење на  $105^\circ\text{C}$  до константна маса и со опепелување на  $550^\circ\text{C}$  во муфолна печка до постигнување константна маса, соодветно (Džamić, 1989; Sarić et al., 1990).

*Содржина на липиди:* по Soxlet-овата метода, со n-хексан и бензен (1:1), во времетраење од 7h. Количеството на неосапунета материја е одредено со дестилување со рефлукс на одредено количество масло во раствор од калиум хидроксид во етанол, дестилатот е растворен во етанол, а по отстранувањето на растворувачот, остатокот се суши до константна маса (Džamić, 1989; Sarić et al., 1990).

*Содржина на масни киселини:* масните киселини се одредени како метилни

естри. Одредено количество масло добиено од тутунското семе се раствора во n-хексан со додаток на безводен натриум сулфид. Смешата се меша и се додава 10%  $\text{BF}_3$  во метанол. По повторно мешање смесата се загрева на  $90^\circ\text{C}$ , 1h (Ng, 2002; Rosenfeld, 2002; Brondz, 202). Условите применети за сепарирање на метил естрите на масните киселини со капиларната гасна хроматографија се дадени во Табела 1 (Eiceman et al., 1996; Rezanka et al., 2002; Miwa, 2002).

Идентификација на метил естрите на масните киселини беше направена во споредба со референтни стандарди. Стандардни раствори на метил естри на масните киселини ( $\text{C}_4$ - $\text{C}_{24}$ ) беа подготвени во n-хексан со концентрација од 0.1-0.4 mg/ml.

### РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Споредбата на содржината на масните, белковините, шеќерите, неорганските материји и влагата во семето од сортата П-23 со литературните податоци (Frega et al., 1991) е претставена во Табела 2.

Содржината на вкупните масти во семето од тутунот П-23 е нешто пониска од истата кај тутунот Kentucky 104, Bright Italia и

Bright V, а застапеноста на неосапунетите материји во маслото е приближно еднаква (Frega et al., 1991). Споредено со семето од тутунот Rila 89 и Coker 254, каде соодветно количеството на вкупните масти изнесува 34.5% и 39% (Zlatanov et al., 2002), количината на вкупните масните во семето од П-23 е доста повисока.

Табела 1. Инструмент и услови за капиларна гасна хроматографија (GC)  
Table 1. Instruments and conditions for capillary GC

<b>Инструмент Instrument</b>	
Хроматографски систем Chromatographic system	Varian GC Star 3400 CX
Детектор Detector	FID
Автосамплер Autosampler	Varian GC Star CX
Колона Column	Капиларна DB-23 колона (Agilente) (60m x 0.25mm x 0.25 $\mu$ m)
<b>Експериментални услови</b>	
Experimental conditions	
Температура на инјектирање Injection temperature	210°C
Волумен на инјектирање Injection volume	0.4 $\mu$ l
Сооднос на процеп (split) Split ratio	1:50
Гас носач Gas carrier	хелиум (0.2 ml/min)
Температурен програм Temperature program	160°C (5 min), 4°C/min до 190°C, (5min), 2°C/min до 210°C (20 min)
Температура на детектор Detector temperature	220°C

Табела 2. Хемиски состав на семето од сортата тутун П-23  
Table 2. Chemical composition of seed from tobacco variety P-23

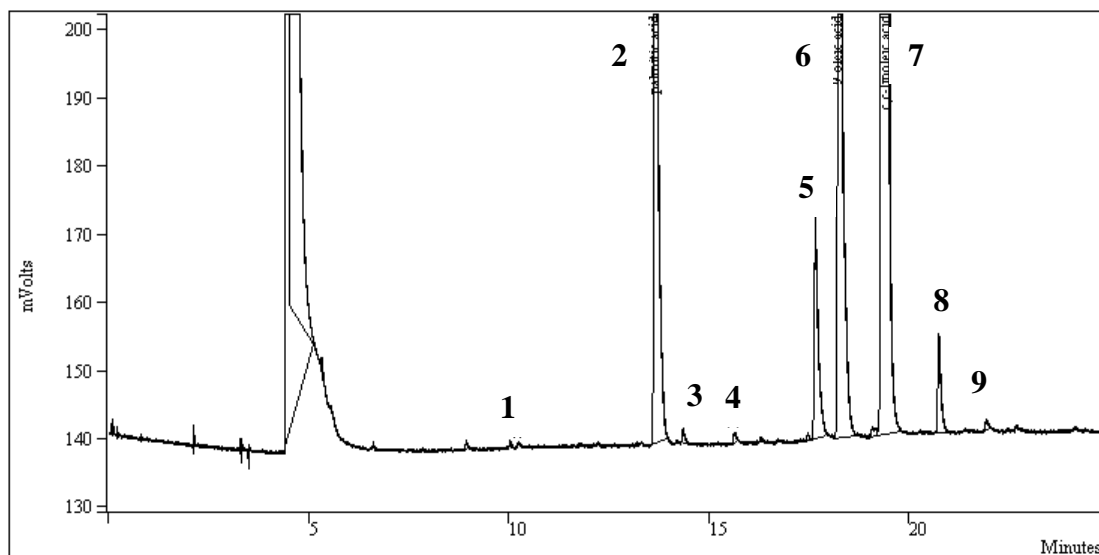
Компонента (% од сува маса) Component (dry mass%)	Тип на тутун			
	П-23	Kentucky 104	Bright Italia	Bright V
Влага Moisture	5.20	5.10	5.10	5.30
Белковини Proteins	23.90	25.00	25.30	25.90
Масти Lipids	43.40	48.00	47.80	47.20
Неосапунета фракција Unsaponifiable fraction	1.20	1.20	1.50	1.50
Вкупни шеќери Total sugars	2.61	2.20	2.00	2.70
Неоргански материи Inorganic compounds	3.60	3.20	3.60	3.20

На Слика 2 е претставен GC-хроматограмот на метил естрите на масните киселини одредени во маслото од семето на сортата тутун П-23.

Во Табела 3 е дадена количинската застапеност на масните киселини во маслото

од испитуваното семе на сортата П-23.

Во маслото издвоено од семето на сортата П-23, најзастапена масна киселина е линолната, потоа доаѓаат олеинската и палмитинската (Табела 3).



Слика 2. GC- хроматограм на метил естрите на масните киселини од маслото на семето на сортата тутун П-23 на капиларна DB-23 колона

- 1- миристинска киселина (C14:0), 2- палмитинска киселина (C16:0)  
 3- палмитолеинска киселина (C16:1, *cis* 9), 4- маргаринска киселина (C17:0)  
 5- стеаринска киселина (C18:0), 6- олеинска киселина (C18:1, *cis* 9)  
 7- линолна киселина (C18:2 *cis* 9,12), 8- линоленска киселина (C18:3, *cis* 9, 12, 15)  
 9- гадолеинска киселина (C20:1)

Fig.2 Chromatogram of methyl esters of fatty acids from seed oil of the variety P-23 on capillary DB-23 column

- 1- myristic acid (C14:0), 2- palmitic acid (C16:0)  
 3- palmitoleic acid (C16:1, *cis* 9), 4- margaric acid (C17:0)  
 5- stearic acid (C18:0), 6- oleic acid (C18:1, *cis* 9)  
 7- linoleic acid (C18:2 *cis* 9,12), 8- linolenic acid (C18:3, *cis* 9, 12, 15)  
 9- gadoleic acid (C20:1)

Табела 3. Масни киселини во маслото од семето на сортата тутун П-23

Table 3. Fatty acids in seed oil of variety P-23

Општ назив Common name	Кратенка Abbreviation	Содржина Yield (%)
Миристинска	14:0	0.02
Палмитинска	16:0	10.13
Палмитолеинска	16:1 <i>cis</i> -9	0.09
Маргаринска	17:0	0.05
Стеаринска	18:0	2.67
<i>cis</i> -9 Олеинска	18:1 <i>cis</i> -9	13.71
<i>cis</i> -9,12 Линолна	18:2 <i>cis</i> -9,12	72.34
<i>cis</i> -9,12,15 Линоленска	18:3 <i>cis</i> -9,12,15	0.94
Гадолеинска	20:1	0.05

Табела 4. Содржина на масните киселини во масло од различни тутунски семиња  
Table 4. Fatty acids content in oil of various tobacco seeds

Тип тутун Tobacco type	C <sub>14:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>16:1</sub>	C <sub>17:0</sub>	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>20:1</sub>
П-23	0.02	10.13	0.09	0.05	2.67	13.71	72.34	0.94	0.05
Kentucky 104	0	9.50	0.10	0.10	2.80	10.60	74.90	1.10	0.10
Bright Italia	0	9.20	0.10	0.10	2.50	9.50	76.10	1.40	0.10
Bright V	0	8.90	0.10	0.10	2.60	11.10	75.10	1.10	0.10
Rila 89	6.10	17.00	1.10	1.00	1.30	23.30	48.80	0.70	0
Coker 254	8.70	29.00	1.10	0.70	1.40	43.80	14.90	0.10	0

Табела 5. Содржина на масните киселини во масло од семиња на различни култури  
Table 5. Fatty acids content in oil of seeds of various crops

Растение Crop	C <sub>14:0</sub>	C <sub>16:0</sub>	C <sub>16:1</sub>	C <sub>18:0</sub>	C <sub>18:1</sub>	C <sub>18:2</sub>	C <sub>18:3</sub>	C <sub>20:1</sub>
Тутун сорта П-23 Tobacco variety P-23	0.02	10.13	0.09	2.67	13.71	72.34	0.94	0.05
Соја Soybean	0.004-0.1	9.2-9.9	0.01-0.09	3.0-4.1	21.6-34.2	46.2	6.3-7.6	0
Сончоглед Sunflower	0	6.6	0.1	4.4	27.9	59.5	0.6	0
Грозје Grapes	0	9.2	0.2	3.4	16.5	70.1	0.2	0
Лен Linen	0	5.9	0	4.2	15.4	14.7	59.2	0.2
Маслена перка Rape	0	4.3	0.1	1.9	66.2	17.6	7.9	1.2
Коноп Hemp	0	7.5	0	2.6	11.8	56.4	20.1	0.4
Орев Walnut	0	7.5	0.1	2.3	16.6	61.0	12.3	0.2

Добиените резултати за количината на масните киселини од маслото на ова семе се во согласност со резултатите дадени од MacCarthy et al. (1980), Koiwai et al. (1983), Frega et al. (1991) и (Zlatanov et al., 2002), каде како најзастапена масна киселина се јавува линолната киселина. Исклучок се јавува во маслото изолирано од семето на сортата Coker 254, каде најзастапена масна киселина е олеинската, а следуваат палмитинската и линолната киселина (Zlatanov et al., 2002).

Споредбата на составот на масните киселини на маслото од семето на тутунот П-23 со литературните податоци од испитувањата на Frega et al. (1991) и Zlatanov et al. (2002) е дадена во Табела 4.

Овие разлики во квалитативниот и квантитативниот состав на маслото добиено од различните типови семе доаѓаат согласно различните генотипови и климатските и агротехничките услови при одгледувањето на тутунските растенија.

Потребни се натамошни испитувања

за да се одреди влијанието на овие фактори врз хемискиот состав на масните киселини во маслото од тутунското семе.

Линолната киселина како најзастапена масна киселина се наоѓа во маслото издвоено од семето на сончогледот, грозјето, сојата, конопот, оревите и др. Споредбата на содржината на масните киселини во маслото од тутунското семе и семињата на различни култури (Gercaj., 2003) е дадена во Табела 5.

Маслото издвоено од семето на тутунот од сортата П-23 има сличен квалитативен и квантитативен состав на масните киселини со маслото од семчињата на грозје.

Доста јасно е дека тутунското семе е богат извор на линолната киселина, а истата е есенцијална масна киселина која со  $\alpha$ -линолната киселина го сочинува витаминот F. Од ова произлегува дека линолната киселина издвоена од тутунското семе може да најде широка примена во козметичката, прехранбената и индустријата за бои.

## ЗАКЛУЧОК

Врз основа на експерименталните резултати добиени со одредување на содржината на одредени компоненти и составот на масните киселини во маслото од семето на ориенталската сорта тутун П-23, се извлекуваат следниве сознанија:

- содржината на испитуваните компоненти во семето од сортата П-23, т.е. содржината на белковини, масти и неосапунета фракција, вкупни шеќери, неорганички материји, е во границите на литературните податоци за овој вид на растителен материјал

- GC/FID постапката изведена со програмиран температурен програм на колона со

цианопропиленска стационарна фаза овозможи од маслото на испитуваното тутунското семе успешно сепарирање на масните киселини и нивните цис и транс изомери

- маслото од семето на сортата тутун П-23 е составено од миристинска, палмитинска, *cis*-9 палмитолеинска, маргаринска, стеаринска, *cis*-9 олеинска, цис 9,12 линолната, *cis*-9,12,15 линоленска и гадолеинска киселина

- со најголема количина е застапена *cis*-9,12 линолната киселина, потоа следуваат *cis*-9 олеинската и палимитинската киселина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Aversano B., Castelli F., Greco P., 2000. Contenuto in acidi grassi volatili di alcuni tabacchi Bright e Orientale coltivati in Italia, // *Tabacco*, 8, 1-7

2. Brondz I., 2002. Development of Fatty Acids Analysis by High-Performance Liquid Chromatography, Gas Chromatography, and Related Techniques, *Anal. Chim. Acta* 465, 1-37

3. Court W.A., Hendel J.G., 1986. Capillary Gas Chromatography of Nonvolatile Or-

ganic Acids, Fatty Acids, and Certain Carbohydrates in Flue-Cured Tobacco, *Tob. Sci.*,30, 56-59

4. David F., Sandra P., Wylie P., 2002. Improving the Analysis of Fatty acid Methyl Esters Using Retention Time Locked Methods and Retention Time Databases, 1-11, Agilent Technologies, Application

5. Džamić M., 1989. "Praktikum iz biohemije, Naučna knjiga" Beograd, VI izdanje

6. Eiceman G.A., Hill Jr H.H., Davani B., Gardea-Torresday J., 1996. Gas Chromatography, *Anal. Chemistry, Vol 68*, No 12, 291R-302R
7. Frega N., Bocci F., Conte L.S., Testa F., 1991. Chemical Composition of Tobacco Seeds (*Nicotiana tabacum* L), *JAOCS. Vol.68*, no1, 29-33
8. Gercar N., 2003. Proučevanje na izomerizacijata na *cis,cis*-linolnata i *cis,cis,cis*-linolenskata kiselina, Magisterska rabota, Univerzitet vo Ljubljana, str.32
9. Gutnikov G., Scott N., 2000. Encyclopedia of Separation Science III/Acids/Gas Chromatography, Academic Press, 1847-1854
10. Koiwai A., Suzuki F., Matsuzaki T., Kawashima N., 1983. The Fatty Acid Composition of Seeds and Leaves of *Nicotiana* Species, *Phytochem.*, 22,1409-1412
11. Leffingwell J.C., 1999. Basic Chemical Constituent of Tobacco Leaf and Differences Among Tobacco Types in Tobacco Production, Chemistry and Technology, Davis D. L and Nielsen M. T., Blackwell Science, Ltd , 265-291
12. MacCarthy J.J., Stumpf P.K., 1980., The Effect of Different temperature on Fatty Acid Synthesis and Polysaturation in Cell Suspension Cultures, *Planta* 147(5),389-395
13. Miwa H., 2002. Review. High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Free Fatty Acids and Esterified Fatty Acids in Biological Materials as Their 2-nitrophenylhydrazides, *Anal. Chim. Acta* 465, 237-255
14. Ng L-K., 2002. Analysis by Gas Chromatography/Mass Spectrometry of Fatty Acids and Esters in Alcoholic Beverages and Tobaccos, *Anal. Chim. Acta* 465,309-318
15. Rezanka T., Votruba J., 2002. Review. Chromatography of Very Long-Chain Fatty Acids from Animal and Plant Kingdoms, *Anal. Chim. Acta* 465, 273-297
16. Rosenfeld J.M., 2002. Review. Application of Analytical Derivatization to the Quantitative and Qualitative Determination of Fatty Acids, *Anal. Chim. Acta* 465,93-100
17. Rubin A. B., 1971. Fiziologija selkohozojstveni rastenija. Tom XI. Fiziologija tabaka. Izd.univerz. Moskva
18. Sarić M., Kastori R., Petrović M., 1990. "Praktikum iz fizilogije biljaka, Drugo izdanje, Naučna knjiga" Beograd
19. Tso T C., 1990. Production, Physiology, and Biochemistry of Tobacco Plant, Ideals, Inc., Beltsville, MD
20. Yanqiang L., Kefa X., Mingue Z., Qiaoling X., 2000. Studies on the Free and Bound Acidic Components in Yunnan and Henan Flue-cured Tobacco, CORESTA Proceedings: Group of Smoke and Technology. Lisbon, Portugal, October 16-19, 1-7
21. Zlatanov M., Menkov N., 2002. Phospholipid and Fatty Acid Composition of Bulgarian Tobacco Seeds, *Tutun. Vol.52*, No 9-10, 284-287

## FATTY ACIDS CONTENT IN OIL OF THE SEED OF TOBACCO VARIETY P -23

M Srbinoska, Tobacco Institute - Prilep, Macedonia

N. Gercar, B. Simonovska, Institute of Chemistry-Ljubljana, Slovenia

V. Najdenova, V. Rafajlovska, Faculty of Technology and Metallurgy - Skopje, Macedonia

### SUMMARY

Chemical characterization of tobacco seed is a very interesting field, primarily because of obtaining an alternative product from this economically important culture.

The content of total fats, proteins, sugars and inorganic matters in the seed of oriental tobacco variety P-23 was determined in this paper.

For qualitative and quantitative determination of fatty acids in oil separated from seeds, a GC/FID procedure was developed, by which successful separation of the present acids and their *cis* and *trans* isomers was made. According to the fatty acids composition, the oil separated from seed has a high content of linolenic acid and is characterized as a linolenic oil, i.e. it belongs to the semidryable oils and can be potentially applied in dye industry.

Author's address:

M.Sc. Marija Srbinoska

Tobacco Institute-Prilep

Kicevski pat bb, 7500 Prilep

Republic of Macedonia