

*Joanna Bryś, Magdalena Wirkowska, Agata Górską,
Ewa Ostrowska-Ligęza, Katarzyna Żubrzycka*

CHARAKTERYSTYKA LIPIDÓW STRUKTURYZOWANYCH OTRZYMANÝCH NA DRODZE PRZEESTRYFIKOWANIA TŁUSZCZU MLECZNEGO I KONCENTRATU OLEJU RYBIEGO

Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie,
Kierownik Zakładu: dr hab. P. Koczoń

W pracy badano właściwości mieszaniny tłuszczu mlecznego z koncentratem oleju rybiego (ROPUFA 30 n-3 FOOD Oil) poddanej procesowi przeestryfikowania. Przeestryfikowanie prowadzono w obecności preparatu enzymatycznego Lipozyme RM IM. W surowcach oraz w mieszaninie po przeestryfikowaniu oznaczano liczbę kwasową, zawartość frakcji polarnej oraz wyznaczono czas indukcji na podstawie przyspieszonego testu na utlenianie.

Hasła kluczowe: przeestryfikowanie enzymatyczne, tłuszcz mleczny, niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe

Key words: enzymatic interesterification, milkfat, essential fatty acids

Rozwój nowoczesnego przemysłu spożywczego stawia coraz większe wymagania odnośnie jakości i właściwości fizykochemicznych tłuszczów. W celu poprawienia wartości żywieniowej lub parametrów funkcjonalnych lipidów poddaje się je różnego typu modyfikacjom (1).

Przeestryfikowanie to jedna z metod modyfikacji struktury i właściwości lipidów. Proces ten zmienia strukturę i skład triacylogliceroli nie zmienia natomiast naturalnej budowy występujących w nich kwasów tłuszczowych. Dzięki temu cenne biologicznie aktywne kwasy tłuszczowe pozostają nienaruszone (2).

Mając na uwadze obniżającą się światową konsumpcję masła spowodowaną między innymi ograniczonymi właściwościami plastycznymi tłuszczu mlecznego (3) w niniejszej pracy podjęto próbę wzbogacenia tego surowca w istotne z żywieniowego punktu widzenia polienowe kwasy tłuszczowe należące do rodziny kwasów omega-3 poprzez enzymatyczną modyfikację. Celem pracy była charakterystyka lipidów strukturyzowanych uzyskanych na drodze przeestryfikowania enzymatycznego tłuszczu mlecznego z koncentratem oleju rybiego.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań była mieszanina tłuszczu mlecznego (MF) i preparatu handlowego ROPUFA 30 n-3 FOOD Oil, w której tłuszcz mleczny stanowił 50% masowych mieszaniny. Tłuszczu mlecznym zawierał około 2% wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (w tym 0,5% kwasów z rodziny omega-3), natomiast w koncentracji oleju rybiego zawartość kwasów polienowych wynosiła około 30% (w tym około 27% kwasów z rodziny omega-3). Mieszaninę przeestryfikowywano w temperaturze 50°C i 80°C przez 2 i 8 godzin w obecności preparatu enzymatycznego Lipozyme RM IM. Preparat ten zawiera lipazę z *Rhizomucor miehei* immobilizowaną na makroporowatej żywicy jonowymienniej, specyficzną w stosunku do wiązań estrowych w pozycjach sn-1 i sn-3 triacylogliceroli. Fabryczna zawartość wody w preparacie Lipozyme RM IM wynosiła 4%. Preparat był dozowany na poziomie 8% względem masy tłuszczu.

W surowcach oraz w mieszaninie po przeestryfikowaniu oznaczano liczbę kwasową metodą miareczkową oraz zawartość frakcji polarnej metodą chromatografii kolumnowej. Oznaczenia wykonano zgodnie z metodyką opisaną w publikacji (4). W celu określenia stabilności oksydatywnej tłuszczu wyznaczono czas indukcji na podstawie przyspieszonego testu na utlenianie. Oznaczenie to wykonano w urządzeniu Termo Analises DSC Q20. Analizę prowadzono w warunkach izotermicznych. Analizowane próbki utleniano w temperaturze 120°C. Masa próbek użytych do badania wahała się w granicach 3–4 mg. Tłuszcz utleniano tlenem pod ciśnieniem w granicach od 1350 do 1400 kPa.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Głównym produktem procesu przeestryfikowania jest frakcja triacylogliceroli (FN) o zmienionych właściwościach chemicznych i fizycznych w stosunku do tłuszczu wyjściowego. Po przeestryfikowaniu obok frakcji triacylogliceroli pojawiają się również pewne ilości wolnych kwasów tłuszczowych, diacylogliceroli i monoacylogliceroli, stanowiących frakcję polarną (FP). Związki te pełnią rolę związków pośrednich i zalicza się je do produktów ubocznych procesu przeestryfikowania (5). Ilość frakcji nietriacyloglicerolowej jest w dużym stopniu zależna od ilości wody w początkowym układzie reakcyjnym. Im mniejsza zawartość wody, tym mniej frakcji nietriacyloglicerolowej w produkcie (6). Zwiększona zawartość frakcji nietriacyloglicerolowej może obniżać odporność tłuszczu na utlenianie, a także jest przyczyną strat substancji tłuszczowej. Miara zawartości wolnych kwasów tłuszczowych powstających w wyniku zachodzącej obok przeestryfikowania hydrolizy triacylogliceroli jest liczba kwasowa (7).

Analizując wartości liczb kwasowych (LK) dla surowców można stwierdzić, iż tłuszcz mleczny charakteryzował się wyższą liczbą kwasową niż preparat ROPUFA (tab. I). Również zawartość frakcji polarnej w tłuszczu mlecznym była większa niż w koncentracji oleju rybiego, co świadczy o większej zawartości niepełnych acylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mlecznym w porównaniu do preparatu ROPUFA.

Table 1 Liczby kwasowe (LK) oraz zawartość frakcji polarnej (FP) i niepolarniej (FN) w surowcach oraz w mieszaninach po przeestryfikowaniu

Table 1 The acid values (LK) and the concentration of polar (FP) and non polar (FN) fraction for raw materials and for mixtures after interesterification

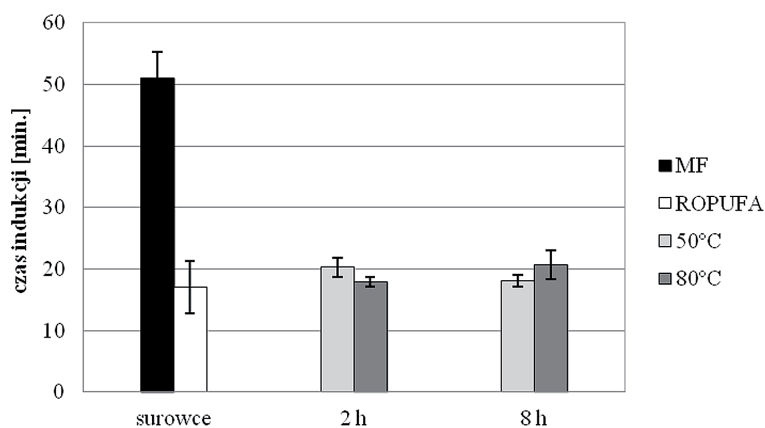
	LK [mg KOH/g]	FP [%]	FN [%]
Surowce			
MF	0,7	2,2	97,8
ROPUFA	0,4	1,2	98,8
Produkty przeestryfikowania			
MF + ROPUFA (1:1); 50°C/2h	4,8	1,8	98,2
MF + ROPUFA (1:1); 50°C/8h	4,9	7,8	92,2
MF + ROPUFA (1:1); 80°C/2h	5,1	6,7	93,3
MF + ROPUFA (1:1); 80°C/8h	5,8	10,0	90,0

Przeestryfikowanie spowodowało wzrost liczby kwasowej oraz obniżenie zawartości frakcji triacyloglicerolowej praktycznie we wszystkich badanych produktach. Mieszaniny po przeestryfikowaniu 8 godzinnym charakteryzowały się większą liczbą kwasową, w porównaniu do mieszanin przeestryfikowanych przez 2 godziny. Liczba kwasowa mieszanin po przeestryfikowaniu w temperaturze 80°C była większa niż mieszanin przeestryfikowanych w 50°C. Analizując otrzymane wyniki stwierdzono również, że im dłuższy czas i wyższa temperatura procesu przeestryfikowania, tym niższa zawartość frakcji triacylogliceroli.

Badania wielu autorów (8, 9) potwierdzają, iż w efekcie hydrolizy i resyntezy nowych wiązań estrowych podczas procesu przeestryfikowania enzymatycznego tłuszczu mlecznego następuje wzrost ilości wolnych kwasów tłuszczowych oraz frakcji polarnej w produkcie.

Utlenianie tłuszczów jest przyczyną zmian chemicznych prowadzących do pogorszenia smaku, zapachu oraz psucia żywności. Powstające jako produkty pośrednie rodniki mogą być przyczyną rozwoju nowotworu. Do czynników powodujących utlenianie tłuszczów zalicza się między innymi światło, tlen i wysoką temperaturę (10). Do najważniejszych czynników wpływających na szybkość utleniania należą skład kwasów tłuszczowych, a także obecność prooksydantów i przeciwutleniaczy (11). Najbardziej narażone są tłuszcze, oleje zawierające wielonienasycone kwasy tłuszczowe (10, 11). Wykorzystana w niniejszej pracy metoda może służyć do monitorowania kinetyki krystalizacji, określenia parametrów termodynamicznych oraz określenia jakości lipidów i stabilności oksydacyjnej (12). W celu określenia stabilności oksydacyjnej tłuszczu wyznaczono czas indukcji na podstawie przyspieszonego testu na utlenianie. W badaniach stabilności tłuszczów przyjmuje się zasadę, że im dłuższy czas indukcji tym większa stabilność oksydacyjna tłuszczu (13).

Spośród badanych tłuszczów (ryc. 1) najdłuższym czasem indukcji charakteryzował się tłuszcz mleczny (51 min.).



Ryc. 1 Czasy indukcji dla surowców i produktów przeestryfikowania

Fig.1 Induction time for raw materials and for mixtures after interesterification

Duża stabilność oksydacyjna tłuszczu mlecznego może wynikać z obecności w nim związków antyoksydacyjnych: witaminy E (95% w postaci α -tokoferolu), witaminy A i D3 oraz CLA (z ang. conjugated linoleic acids – skoniungowany kwas linolowy), koenzymu Q10, fosfolipidów (14). W porównaniu do tłuszczu mlecznego czas indukcji dla preparatu ROPUFA był znacznie krótszy i wyniósł 17,03 minuty. Oznacza to, że preparat ten charakteryzował się niską stabilnością oksydacyjną.

Przeestryfikowanie enzymatyczne spowodowało znaczne obniżenie stabilności przeciwutleniającej wszystkich badanych mieszanin, bez względu na warunki procesu. Otrzymane wyniki znajdują potwierdzenie w badaniach *Wirkowskiej* i in. (15), w których przeestryfikowane enzymatycznie mieszaniny tłuszczu mlecznego z olejem rzepakowym badano metodą Rancimat. *Kowalski* i in. (13) na podstawie wyników swoich badań stwierdzili, że metody Rancimat i PDSC są spójne i powinny prowadzić do wysnucia podobnych wniosków. Obniżenie stabilności oksydacyjnej może być spowodowane wbudowaniem w pozycje zewnętrzne triacyloglicerolu polienowych kwasów tłuszczowych, co ułatwiło dostęp tlenu do tych kwasów i łatwiejsze ich utlenianie (7).

WNIOSKI

1. Tłuszcz mleczny charakteryzuje się większą zawartością niepełnych acylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych w porównaniu do koncentratu oleju rybiego.

2. Przeestryfikowanie spowodowało wzrost liczby kwasowej oraz obniżenie zawartości frakcji triacyloglicerolowej praktycznie we wszystkich badanych produktach.

3. Spośród badanych tłuszczów najdłuższym czasem indukcji charakteryzował się tłuszcz mleczny.

4. Proces enzymatycznego przeestryfikowania spowodował znaczne obniżenie stabilności przeciwutleniającej wszystkich badanych mieszanin, bez względu na warunki procesu.

J. Bryś, M. Wirkowska, A. Górską,
E. Ostrowska-Ligęza, K. Żubrzycka

CHARACTERISTICS OF THE STRUCTURED LIPIDS OBTAINED BY INTERESTERIFICATION
OF MILKFAT WITH FISH OIL CONCENTRATE

Summary

The objective of this study was to investigate the properties of the mixture of milkfat with fish oil concentrate (ROPFA) after the interesterification process.

The fats were interesterified enzymatically using Lipozyme RM IM. The following parameters were determined in the raw materials and in the mixtures after the interesterification process: fatty acid values, polar fraction content and determination of induction time based on the accelerated oxidation test.

PIŚMIENNICTWO

1. *Gunstone F. D.*: Movements towards tailor-made fats. *Prog. Lipid. Res.*, 1998; 5 (37): 277-305. – 2. *Jeyarami T., Yella Redy S.*: Effect of enzymatic interesterification on physicochemical properties of mahua oil and kokum fat blend. *Food Chem.* 2010; 123(2): 249-253. – 3. *Marangoni A. G., Rousseau D.*: Chemical and enzymatic modification of butterfat and butterfat-canola oil blends. *Food Res. Int.*, 1998; 31 (8): 595-599. – 4. *Bryś J., Gruczyńska E., Kowalski B., Tarnowska K.*: Przeestryfikowanie mieszanin tłuszczu mlecznego i oleju rzepakowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004; 3(40) Suplement: 18-26. – 5. *Tynek M., Ledóchowska E.*: Zmiana właściwości fizycznych tłuszczu mlecznego oraz jego wysokotopliwej frakcji w wyniku przeestryfikowania olejem słonecznikowym. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, 3-4 (38): 104-117. – 6. *Tarnowska K., Bryś J., Kostecka M., Wirkowska M., Kowalski B.*: Wpływ ilości wody w katalizatorze na właściwości przeestryfikowanych mieszanin łożu wołowego i oleju rzepakowego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 3: 339-343. – 7. *Ledóchowska E., Datta I.*: Wpływ frakcji nietriacyloglicerolowej na stabilność oksydacyjną tłuszczu przeestryfikowanego chemicznie i enzymatycznie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999; 18 (1): 15-23. – 8. *Bryś J., Wirkowska M., Kowalski B.*: Przeestryfikowanie mieszanin tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym w obecności preparatu Novozym 435. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006; 2 (47) Suplement: 28-35. – 9. *Shin J., Akoh C.C., Lee K.*: Enzymatic interesterification of anhydrous butterfat with flaxseed oil and palm stearin to produce low-trans spreadable fat. *Food Chem.*, 2010; 120: 1-9. – 10. *Thurgood J., Ward R., Martini S.*: Oxidation kinetics of soybean oil/anhydrous milk fat blends: A differential scanning calorimetry study. *Food Res. Int.*, 2007; 40: 1030-1037. – 11. *Yankah V.V., Akoh C.C.*: Batch enzymatic synthesis, characterization and oxidative stability of DHA-containing structured lipids. *J. Food Lipids*, 2000; 7: 247-261. – 12. *Reamy A., Lambelet P., Rousset P.*: Calorimetric information about food and food constituents w: *The nature of biological systems as revealed by thermal methods*, red. Dénes Lőrinczy. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2004; 69-98. – 13. *Kowalski B., Ratusz K., Kowalska D., Bekas W.*: Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat measurements. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2004; 106: 165-169. – 14. *Cichosz G.*: Tłuszcz mlekowy – fakty i mity cz. 2. *Przegląd Mleczarski*, 2009; 12: 14 - 17. – 15. *Wirkowska M., Bryś J., Kowalski B.*: Stabilność przeciwutleniająca przeestryfikowanych mieszanin tłuszczu mlekowego z olejem rzepakowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005; 2 (43) Suplement: 256-274.

Adres: 02-787 Warszawa, ul. Nowoursynowska 166.

Badania były finansowane ze środków budżetowych na naukę w latach 2010–2012 jako projekt badawczy Nr N N312 068439