

Dr Agata GÓRSKA
Dr inż. Ewa OSTROWSKA-LIGĘZA
Dr inż. Joanna BRYŚ
Dr inż. Magdalena WIRKOWSKA
Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności, SGGW w Warszawie

OCENA PARAMETRÓW UTLENIANIA OLEJU Z NASION WIESIOŁKA Z WYKORZYSTANIEM RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ®

Zakres przeprowadzonej pracy badawczo-doświadczalnej obejmował określenie parametrów termokinetycznych oraz ocenę stabilności oksydatywnej oleju z wiesiołka z wykorzystaniem testu różnicowej kalorymetrii skaningowej. Odporność na utlenianie, jako istotny wskaźnik jakościowy olejów, determinuje ich przydatność żywieniową oraz technologiczną. Olej z nasion wiesiołka charakteryzował się wysokimi temperaturami rozpoczęcia procesu utleniania oraz wysoką stabilnością oksydacyjną. Wyznaczona wartość energii aktywacji dla temperatury onset była wyższa niż dla temperatury maksymalnej. Stała szybkości reakcji k przy uzyskaniu temperatury 100°C (373,15 K) dla oleju z nasion wiesiołka wyniosła $6,8 \cdot 10^{-3}$ l/min.

WSTĘP

Oleje o wysokiej zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych stanowią jeden z ważniejszych elementów diety, nie tylko ze względu na wartość energetyczną, ale przede wszystkim ze względu na zawartość cennych składników odżywczych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego. Olej z nasion wiesiołka jest bogatym źródłem kwasu linolowego ($C_{18:2 \Delta 9,12}$) oraz γ -linolenowego ($C_{18:3 \Delta 6,9,12}$), należących do rodziny n-6. Kwas linolowy należy do niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Organizm człowieka, z uwagi na brak odpowiednich układów enzymatycznych, nie potrafi go syntezować, dlatego kwas linolowy musi być dostarczany z pożywieniem. W ustroju człowieka, w wyniku elongacji (wydłużenia łańcucha węglowego) oraz desaturacji (wprowadzenia dodatkowych wiązań podwójnych) z kwasu linolowego syntetyzowany jest kwas γ -linolenowy, a następnie kwas arachidonowy ($C_{20:4 \Delta 5,8,11,14}$). Pozytywny wpływ kwasu γ -linolenowego na organizm człowieka jest szczególnie widoczny w chorobach układu krążenia [5, 6, 9, 17].

Duża zawartość kwasów nienasyconych powoduje, że oleje roślinne są podatne na procesy utleniania, co istotnie ogranicza możliwości ich szerszego wykorzystania. Szybkość i kierunek utleniania zależą od wielu czynników, m.in. od temperatury stosowanej podczas procesów i operacji technologicznych oraz warunków przechowywania [2, 26]. Powstające w trakcie przemian oksydacyjnych nadtlarki i rodniki inicjują wiele niekorzystnych zmian, obniżających jakość żywności oraz negatywnie wpływających na cechy sensoryczne produktów spożywczych [1, 4, 7, 22]. Dlatego tak istotne jest badanie (obok innych podstawowych analiz) stabilności oksydatywnej czyli odporności na utlenianie jako podstawowego wyznacznika przydatności żywieniowej i technologicznej olejów roślinnych.

Jedną z metod termoanalitycznych pozwalających na określenie parametrów utleniania tłuszczu jest różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC – ang. Differential Scanning Calorimetry). Polega ona na pomiarze zmian temperatury w funkcji dostarczonego ciepła. Rejestrowane są efekty cieplne zachodzące w badanej próbce w odniesieniu do próbki

wzorcowej znajdującej się w tej samej temperaturze, co próbka badana. Często jako próbkę wzorcową stosuje się pustą naczynko aluminiowe identyczne z naczynkiem, w którym umieszcza się próbkę. Stosowane są dwa rozwiązania metodyczne: analiza izotermiczna i politermiczna. W badaniach politermicznych, próbkę otoczoną przez powietrze lub tlen ogrzewa się w liniowo zaprogramowany wzrost temperatury. Parametrami charakteryzującymi jest przepływ ciepła w funkcji temperatury lub maksymalnej szybkości wydzielania ciepła utleniania. Ciągły zapis przepływu ciepła od lub do próbki w danym zakresie temperatur pozwala wykreślić linię zmian termicznych zachodzących w próbce [12, 16, 24].

Celem artykułu jest prezentacja wyników przeprowadzonej pracy badawczo-doświadczalnej, dotyczącej analizy termokinetycznej oraz określenia stabilności oksydatywnej oleju z nasion wiesiołka, jako istotnego wyróżnika jego przydatności żywieniowej i technologicznej. Parametry termokinetyczne wyznaczono z zastosowaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej.

METODYKA BADAŃ

Materiałem badawczym był handlowy preparat, stanowiący suplement diety, w skład którego wchodził olej z nasion wiesiołka z mieszaniną tokoferoli. W celu wyznaczenia parametrów termokinetycznych oleju z wiesiołka stosowano skaningowy kalorymetr różnicowy – DSC (ang. Differential Scanning Calorimeter), Q200, TA Instruments. Aparat skalibrowano przy użyciu czystego indu. Warunki przeprowadzenia doświadczenia ustalono na podstawie danych literaturowych [8, 10]. Masa badanych próbek wynosiła 3 – 4 mg. Utlenianie próbek przeprowadzono w atmosferze tlenu w zakresie temperatur: 30-250°C. W badaniach wykorzystano dynamiczną opcję pracy aparatu, stosując następujące szybkości ogrzewania próbek (β): 4 K/min; 5 K/min; 7,5 K/min; 10 K/min; 12,5 K/min; 15 K/min. Każdy pomiar wykonano trzykrotnie. Na podstawie uzyskanych termogramów określono: temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania – temperaturę onset (T_{on}), w której układ osiąga stały stopień przereagowania oraz maksymalną temperaturę utleniania, odpowiadającą wartości maksimum pików (T_{max}). Energię aktywacji (E_a),

współczynnik przedpotęgowy (Z) oraz stałą szybkości reakcji utleniania (k) dla oleju z wiesiołka wyznaczono metodą Ozawy - Flynna - Walla [3, 20].

W analizowanym oleju określono również skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej [21] stosując aparat firmy Shimadzu GC 17A, wyposażony w kolumnę kapilarną wypełnioną fazą stacjonarną BPX 70 o dł. 30 m, \varnothing wewnętrznej 0,22 mm i grubości filmu 0,25 μm , jako gaz nośny stosowano azot. Warunki rozdzielania estrów metyloowych kwasów tłuszczowych: temp. początkowa 60°C przez 1 min; przyrost temp. od 60 do 170°C w tempie 10°C/min.; przyrost temp. od 170 do 230°C w tempie 3°C/min.; temp. końcowa 230°C przez 15 min.; temp. injektora 225°C, temp. detektora 250°C, całkowity czas analizy 47 min.

OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW

Pomiary nieizotermicznego utleniania oleju z nasion wiesiołka prowadzone z użyciem skaningowego kalorymetru różnicowego pozwoliły na wyznaczenie energii aktywacji, współczynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji.

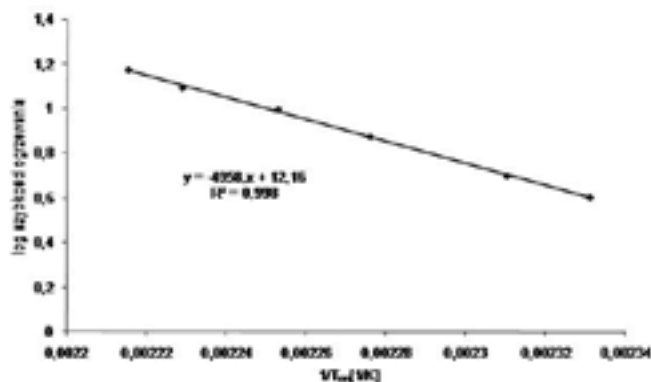
Rejestrowano powtarzalne parametry, tj. temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania (T_{on}) oraz temperaturę odpowiadającą maksimum pikowi (T_{max}) dla 6 szybkości ogrzewania. Uzyskane wartości przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Parametry T_{on} i T_{max} dla sześciu szybkości ogrzewania próbki w procesach termoutleniania oleju z nasion wiesiołka

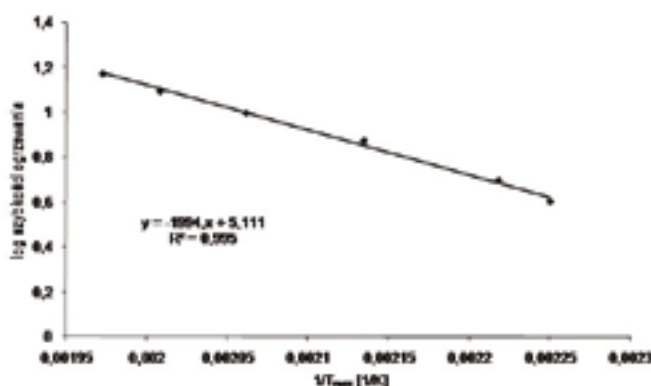
Szybkość ogrzewania [K/min]	T_{on}		T_{max}	
	[°C]	[K]	[°C]	[K]
4	155,83	428,98	171,21	444,36
5	159,69	432,84	177,61	450,76
7,5	166,20	439,35	195,26	468,41
10	170,69	443,84	211,90	485,05
12,5	175,48	448,63	224,82	497,97
15	178,22	451,37	233,81	506,96

Wyniki uzyskane w teście DSC wykazały wpływ szybkości ogrzewania próbek na zarejestrowane wartości temperatury rozpoczęcia procesu utleniania oraz temperatury maksymalnej utleniania. Wraz ze wzrostem szybkości utleniania rosła wartość temperatury T_{on} i T_{max} . W ustalonych warunkach prowadzenia procesu szybkość ogrzewania próbki była stała, zatem uzyskane wartości temperatury, charakterystyczne dla danego układu, mogły być uznane jako parametry różnicujące odporność oleju z wiesiołka na utlenianie. Temperatury T_{on} i T_{max} uzyskane dla różnych wartości wzrostu szybkości ogrzewania próbki odpowiadały stałemu stopniowi przereagowania i dlatego mogły być wykorzystane do obliczenia parametrów kinetycznych.

Wykorzystując uzyskane wartości temperatur T_{on} oraz T_{max} dla oleju z nasion wiesiołka, a także szybkość ogrzewania próbki sporządzono wykresy przedstawiające zależność logarytmu szybkości ogrzewania ($\log \beta$) od odwrotności temperatur ($1/T_{\text{on}}$; $1/T_{\text{max}}$) (rys.1, rys. 2).



Rys. 1. Temperaturowe przesunięcie onset w zależności od logarytmu szybkości ogrzewania termoutleniającego rozkładu oleju z nasion wiesiołka.



Rys. 2. Temperaturowe przesunięcie maksimum pikowe w zależności od logarytmu szybkości ogrzewania termoutleniającego rozkładu oleju z nasion wiesiołka.

Przedstawione na rys. 1 i 2 zależności można przedstawić w postaci równania regresji typu:

$$\log \beta = a(1/T_{\text{on}} \text{ lub } 1/T_{\text{max}}) + b \quad (1)$$

gdzie: β – szybkość ogrzewania, a – współczynnik kierunkowy prostej, b – współczynnik przesunięcia prostej, T – temperatura [K].

Jeżeli temperatura maksymalna wzrasta w sposób liniowy, wtedy do wyznaczenia energii aktywacji E_a oraz współczynnika przedpotęgowego Z można stosować metodę Ozawy – Flynna – Walla. Wykorzystując temperaturę, w której układ osiągnął stały stopień przereagowania (T_{on} , T_{max}) obliczono przybliżoną wartość energii aktywacji korzystając z równania:

$$E_a = -2,19 R \frac{d \log \beta}{d(1/T)} \quad (2)$$

Uzyskane w wyniku obliczeń kinetyczne parametry opisujące termoutleniający rozkład oleju z wiesiołka przedstawiono w tabeli 2. Wysokie współczynniki determinacji (R^2) wskazują, że otrzymane linie trendu pokrywają się prawie w 100% z punktami otrzymanymi podczas badań. Równie wysoki współczynnik determinacji w swoich badaniach uzyskali Kasprzycka – Guttman [8], Kowalski [11], Litwinienko [15].

Tabela 2. Statystyczne i kinetyczne parametry charakteryzujące termoutleniający rozkład oleju z nasion wiesiołka

Parametr	Wartości liczone z T_{on}	Wartości liczone z T_{max}
a	-4958,9	-1994,3
b	12,161	5,112
R ²	0,99	0,99
Energia aktywacji [kJ/mol]	90,26	36,30
Współczynnik przedpotęgowy Z	2,76·10 ⁰	6,12·10 ³

Znajomość wartości współczynnika Z oraz wartości energii aktywacji pozwala obliczyć stałą szybkości danej reakcji w różnych temperaturach, oraz pośrednio wnioskować o pewnych elementach mechanizmu badanej reakcji.

Po wyznaczeniu wartości E_a oraz Z, korzystając z równania Arrheniusa, obliczono wartości stałych szybkości reakcji k:

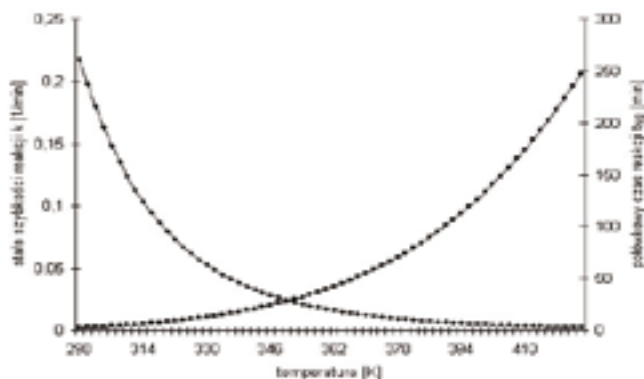
$$k = Z \exp(-E_a/RT) \quad (3)$$

gdzie: Z – współczynnik przedpotęgowy, E_a – energia aktywacji, R – stała gazowa, T – temperatura [K].

Wyznaczono również połówkowe czasy reakcji korzystając z następującego wzoru:

$$t_{1/2} = \ln 2/k \quad (4)$$

Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 3.



Rys. 3. Wykres zmian stałej szybkości reakcji (k) i połówkowego czasu reakcji ($t_{1/2}$) od temperatury termoutleniającego rozkładu oleju z nasion wiesiołka.

Tabela 3. Podstawowy skład kwasów tłuszczowych oleju z nasion wiesiołka

Kwas tłuszczowy	Procentowy udział poszczególnych kwasów [%]
kwas palmitynowy (16:0)	8,25
kwas stearynowy (18:0)	1,63
kwas oleinowy (18:1)	5,96
kwas linolowy (18:2)	74,70
kwas γ -linolenowy (18:3)	9,45

W przypadku oleju z wiesiołka energia aktywacji wyznaczona z temperatury onset miała zbliżoną wartość do wyników, które uzyskali inni autorzy dla oleju z ziaren kukurydzy, oleju z nasion gorczycy, oleju sojowego, tłuszczu mlecznego oraz kwasu oleinowego i laurynowego (tabela 4) [23].

Tabela 4. Porównanie energii aktywacji obliczonej dla T_{on} i T_{max} dla wybranych tłuszczów

Rodzaj tłuszczu	Energia aktywacji z T_{on} [kJ/mol]	Energia aktywacji z T_{max} [kJ/mol]
Olej z wiesiołka	90,3	36,3
Olej z ziaren kukurydzy ^{*[19]}	109,8	46,3
Olej z nasion gorczycy ^{*[17]}	90,6	88,7
Olej sojowy ^{*[23]}	89,6	70,7
Tłuszcz mleczny ^{*[23]}	93,6	57,5
Kwas oleinowy ^{*[13]}	88,4	74,5
Kwas laurynowy ^{*[14]}	118,7	80,2

* dane literaturowe

Energia aktywacji obliczona z temperatury onset miała znacznie wyższą wartość niż energia aktywacji obliczona z temperatury maksymalnej. Podobną zależność zaobserwowano w wynikach uzyskanych przez innych badaczy (tabela 4). Wartości współczynników przedpotęgowych również wykazywały podobną tendencję. Wpływ na uzyskane różnice w wartościach energii aktywacji wyznaczonej przy uzyskaniu temperatury onset oraz przy uzyskaniu temperatury maksymalnej może mieć mechanizm reakcji autooksydacji. W procesach inicjacji i propagacji tworzą się pierwsze produkty utleniania, zatem wymagany jest duży nakład energetyczny [13, 14].

Uzyskane wartości k świadczą o tym, że utlenianie oleju z wiesiołka jest reakcją pierwszego rzędu. Dostępne dane literaturowe potwierdzają tę zależność [10]. Stała szybkości reakcji k dla oleju z wiesiołka przy uzyskaniu temperatury 100°C (373,15 K) wyniosła 6,8·10⁻³ 1/min. Kowalski, badając olej rzepakowy i słonecznikowy otrzymał k o wartości odpowiednio 1,04·10⁻² 1/min oraz 1,98·10⁻² 1/min. Stała szybkości dla oleju kukurydzianego kształtowała się natomiast na poziomie 7,85·10⁻³ 1/min. [19].

Pomimo, że olej z nasion wiesiołka zawierał w swoim składzie znaczną ilość kwasów nienasyconych, bardziej podatnych na utlenianie (90,11%) (tab. 3), to temperatura rozpoczęcia procesu i temperatura maksymalnego utleniania charakteryzowały się wysokimi wartościami (tab. 1). Świadczy to o tym, że w kształtowaniu stabilności oksydatywnej tłuszczów, obok składu kwasów tłuszczowych, istotne znaczenie ma również jakość i ilość frakcji nietriacyloglicerolowej [18, 25]. Dodana mieszanina tokoferoli wykazuje działanie przeciwutleniające.

WNIOSKI

1. Pomiary nieizotermicznego utleniania oleju z nasion wiesiołka prowadzone z użyciem skaningowego kalorymetru różnicowego pozwoliły na wyznaczenie energii aktywacji, współczynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji.

2. Energia aktywacji obliczona dla oleju z wiesiołka przy uzyskaniu temperatury onset osiągnęła wyższą wartość niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej. Podobną zależność wykazano dla współczynników przedpotęgowych.

3. Na podstawie otrzymanych wartości energii aktywacji, współczynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji można wnioskować, że stabilność oksydacyjna oleju z nasion wiesiołka jest wysoka.

LITERATURA

- [1] BRÜHL L., MATTHÄUS B., FEHLING E., WIEGE B., LEHMANN B., LUFTMANN H., BERGANDER K., QUIROGA K., SCHEIPERS A., FRANK O., HOFMANN T. 2007. *Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 7864-7868.
- [2] CHOE E., MIN D.B. 2006. *Mechanisms and factors for edible oil oxidation*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 5, 169-186.
- [3] FLYNN J.H., WALL L.A. 1966. *A quick direct method for determination of activation energy from thermogravimetric data*. Journal of Polymer Science B, 4, 323-328.
- [4] HEŚ M., KORCZAK J., GÓRECKA D., GRAMZA A., JĘDRUSEK-GOLIŃSKA A. 2005 b. *Stopień oddziaływania produktów utleniania tłuszczu na zmiany ilościowe dostępnej lizyny i metioniny w układach modelowych o zróżnicowanym odczynie środowiska*. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, supl., 455-460.
- [5] HORROBIN D.F. 1992. *Nutritional and medical importance of gamma-linolenic acid*. Progress in Lipid Research, 31, 163-194.
- [6] HORROBIN D.F. 1993. *Fatty acid metabolism in health and disease: the role of D6-desaturase*. American Journal of Clinical Nutrition, 57, 732-736.
- [7] KAMAL-ELDIN A., YANISHLIEVA N.V. 2002. *N-3 fatty acids for human nutrition: stability considerations*. European Journal of Lipid Science and Technology, 104, 825-836.
- [8] KASPRZYCKA-GUTTMAN T., JAROSZ-JARSZEWSKA M., LITWINIENKO G. 1995. *Specific heats and kinetic parameters of thermo – oxidative decomposition of peanut oil*. Thermochimica Acta, 250, 197-205.
- [9] KŁOSIEWICZ-LATOSZEK L. 2002. *Znaczenie kwasów tłuszczowych omega-3 w profilaktyce chorób sercowo-naczyniowych*. Żywnienie Człowieka i Metabolizm, 29, 78-86.
- [10] KOWALSKI B. 1994. *Termokinetyczna analiza utleniania olejów i tłuszczów jadalnych*. Praca habilitacyjna, Wyd. SGGW, Warszawa, 24-59.
- [11] KOWALSKI B. 1995. *Oxidative stabilities of engine oil contaminated by vegetable oil*. Thermochimica Acta, 250, 55-63.
- [12] KOWALSKI B., RATUSZ K., KOWALSKA D., BEKAS W. 2004. *Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat methods*. European Journal of Lipid Science and Technology, 106, 165-169.
- [13] LITWINIENKO G., DANILUK A., KASPRZYCKA-GUTTMAN T. 2000. *Study on autoxidation kinetics of fats by differential scanning calorimetry. 1. Saturated C12-C18 fatty acids and their esters*. Industrial and Engineering Chemistry Research, 39, 7-12.
- [14] LITWINIENKO G., KASPRZYCKA-GUTTMAN T. 2000. *Study on autoxidation kinetics of fat components by differential scanning calorimetry. 2. Unsaturated fatty acids and their esters*. Industrial and Engineering Chemistry Research, 39, 13-17.
- [15] LITWINIENKO G. 2001. *Autoxidation of unsaturated fatty acids and their esters*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 65, 639-646.
- [16] LITWINIENKO G. 2005. *Analysis of lipid oxidation by differential scanning calorimetry*. In: Analysis of Lipid Oxidation, JAOCS Press, Champaign, IL, 152-193.
- [17] LITWINIENKO G., KASPRZYCKA-GUTTMAN T. 1998. *A DSC study on thermoxidation kinetics of mustard oil*. Thermochimica Acta, 319, 185-191.
- [18] MAŁECKA M. 1995. *Składniki frakcji nieglicerydowej olejów roślinnych jako przeciwutleniacze*. Tłuszcze Jadalne, 30, 123-130.
- [19] OSTROWSKA – LIGEŻA E., WIRKOWSKA M., KOWALSKI B. 2009. *Termokinetyczna analiza tłuszczu z kukurydzy z wykorzystaniem różnicowej kalorymetrii skaningowej*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1 (62), 128 – 139.
- [20] OZAWA T. 1970. *Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2, 301-324.
- [21] PN-EN ISO 5508: 1996. *Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej*.
- [22] POKORNY J., DAVIDEK J., CHOCHOLATA V., PANEK J., BULANTOVA H., JANITZ W., VALENTOVA H., VIERECLOVA M. 1990. *Interaction of oxidized ethyl linoleate with collagen*. Nahrung, 34, 159-169.
- [23] THURGOOD J., WARD R., MARTINI S. 2007. *Oxidation kinetics of soybean oil/anhydrous milk fat blends: a differential scanning calorimetry study*. Food Research International, 40, 1030 – 1037.
- [24] ULKOWSKI M., MUSIALIK M., LITWINIENKO G. 2005. *Use of differential scanning calorimetry to study lipid oxidation. 1. Oxidative stability of lecithin and linolenic acid*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 9073-9077.
- [25] WIRKOWSKA M., BRYŚ J., RATUSZ K., KOWALSKI B. 2006. *Stabilność przeciwutleniająca lipidów kukurydzy*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2, 356-362.
- [26] WIRKOWSKA M., BRYŚ J. 2009. *Jakość frakcji lipidowej w ciastkach zbożowych*. Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego, WSM, Warszawa, 2, 69-71.

**THE EVALUATION OF THE EVENING
PRIMROSE OIL OXIDATIVE STABILITY
BY DIFFERENTIAL SCANNING
CALORIMETRY**

SUMMARY

The objective of this study was to measure the thermo-kinetic parameters and to assess the oxidative stability of Evening Primrose Oil with the use of differential scanning calorimetry. Oxidation resistance, as an important factor of oils quality, determines their nutritional and technological utility. The Evening Primrose Oil was characterized by high oxidative stability and high starting temperatures of oxidative process. The obtained value of activation energy at the onset temperature was higher than at the maximum temperature. The calculated reaction rate constant at the temperature of 100°C (373,15 K) for Evening Primrose Oil was $6,8 \cdot 10^{-3}$ 1/min.