

AGATA GÓRSKA, EWA OSTROWSKA-LIGĘZA, MAGDALENA WIRKOWSKA,
JOANNA BRYŚ

OCENA PARAMETRÓW UTLENIANIA KWASU LINOŁOWEGO Z WYKORZYSTANIEM RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ

Streszczenie

Szczególną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu człowieka odgrywają niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe - kwas linolowy i α -linolenowy. Jako kwasy wielonienasycone są narażone na utlenianie, na skutek czego tracą aktywność biologiczną. W wyniku ich rozpadu powstaje wiele szkodliwych dla zdrowia substancji, tj. pierwotnych i wtórnych produktów reakcji utleniania. Związki te odpowiedzialne są za powstawanie zjełczałego zapachu i smaku produktów spożywczych. Dlatego tak istotne jest badanie odporności na utlenianie, jako podstawowego wyznacznika przydatności żywieniowej i technologicznej tłuszczów.

Zakres pracy obejmował określenie parametrów termokinetycznych kwasu linolowego z wykorzystaniem testu różnicowej kalorymetrii skaningowej oraz ocenę stabilności oksydatywnej badanego kwasu. W badaniach wykorzystano dynamiczną opcję pracy aparatu DSC, stosując następujące szybkości ogrzewania próbek: 4 K/min; 5 K/min; 7,5 K/min; 10 K/min; 12,5 K/min; 15 K/min. Pomiary nieizotermicznego utleniania kwasu linolowego prowadzone z użyciem skaningowego kalorymetru różnicowego pozwoliły na sprawne wyznaczenie energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji.

Słowa kluczowe: wielonienasycone kwasy tłuszczowe, parametry termokinetyczne, stabilność termooksydacyjna, różnicowa kalorymetria skaningowa

Wprowadzenie

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) należą do niezbędnych składników odżywczych, są potrzebne do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania organizmu. Wśród nich szczególne miejsce zajmują niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) – kwas linolowy (n-6) i α -linolenowy (n-3) [2, 16]. Kwasy te odgrywają ważną rolę jako materiał budulcowy i energetyczny oraz uczestniczą w procesach metabo-

licznych. Organizm człowieka, ze względu na brak odpowiednich układów enzymatycznych, nie potrafi ich syntezować, dlatego muszą być dostarczane z żywnością.

Kwasy wielonienasycone są szczególnie narażone na utlenianie, na skutek czego tracą właściwości biologiczne kwasów niezbędnych. Szybkość i kierunek ich utleniania zależy od wielu czynników, m.in. od temperatury stosowanej podczas procesów i operacji technologicznych oraz warunków przechowywania. W wyniku procesów oksydacyjnych powstaje wiele szkodliwych dla zdrowia substancji, tj. pierwotne i wtórne produkty reakcji utleniania: wodoronadtlenki, ketony, aldehydy, produkty polimeryzacji, izomeryzacji oraz cyklizacji. Niektóre z nich są odpowiedzialne za powstawanie zjełczałego, niepożądanego zapachu i smaku żywności [2, 15]. Należą do nich niskocząsteczkowe substancje lotne, przede wszystkim krótkołańcuchowe aldehydy oraz powstające z nich wskutek utleniania kwasy.

Nadtlenki i rodniki, tworzące się w wyniku oksydacyjnych przemian lipidów, powodują degradację wielu zawartych w żywności witamin; są przyczyną niekorzystnych i nieakceptowanych przez konsumentów zmian sensorycznych oraz biorą udział w procesach kancerogenezy, mutagenezy, stanowiąc zagrożenie dla zdrowia człowieka. Mogą reagować z innymi składnikami żywności, zmniejszając jej wartość odżywczą. Dotyczy to zwłaszcza białek. Aminokwasami najbardziej podatnymi na uszkodzenie są lizyna i aminokwasy zawierające siarkę [5]. Ich straty mają zasadnicze znaczenie, gdyż są to aminokwasy egzogenne i zmniejszenie ich zawartości istotnie ogranicza wartość odżywczą białka spożywanych produktów. Badania nad oddziaływaniem powstałych w wyniku utlenienia kwasu linolowego nadtlenków z białkami rybonukleazy, trypsyny i pepsyny wykazały znaczne straty cennych aminokwasów (metioniny, lizyny, cystyny) [4, 6]. Istotne jest zatem badanie m.in. odporności na utlenianie jako podstawowego wyznacznika przydatności żywieniowej i technologicznej tłuszczów.

Celem pracy było określenie parametrów termokinetycznych kwasu linolowego, a także ocena jego stabilności oksydatywnej z wykorzystaniem testu różnicowej kalorymetrii skaningowej.

Material i metody badań

Przedmiotem badań był kwas *Z,Z*-oktadeka-9,12-dienowy (linolowy 18:2) (Sigma, o czystości $\geq 99\%$). W pracy określano parametry termokinetyczne kwasu linolowego, a także oceniano jego stabilność termokinetyczną. W tym celu 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 [7, 9]. Masa badanych próbek wynosiła 3 - 4 mg. Utlenianie próbek związku przeprowadzano w atmosferze tlenu w zakresie temperatury: 30 - 250 °C. W badaniach wykorzystano dynamiczną opcję pracy aparatu, stosując następujące szybkości ogrzewania próbek (β)

[K/min]: 4; 5; 7,5; 10; 12,5; 15. Każdy pomiar wykonano dwukrotnie. Na podstawie uzyskanych termogramów określano: temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania – temperatura onset (T_{on}), w której układ osiąga stały stopień przereagowania oraz maksymalną temperaturę utleniania, odpowiadającą wartości maksimum pików (T_{max}). Energię aktywacji (E_a), czynnik przedpotęgowy (Z) oraz stałą szybkości reakcji utleniania (k) kwasu linolowego wyznaczano metodą Ozawy - Flynna - Walla [3, 14].

Wyniki i dyskusja

Pomiary nieizotermicznego utleniania kwasu linolowego prowadzone z użyciem skaningowego kalorymetru różnicowego pozwoliły na wyznaczenie energii aktywacji, czynnika przedwykładniczego oraz stałej szybkości reakcji. Rejestrowano powtarzalne parametry, tj. temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania (T_{on}) oraz temperaturę odpowiadającą maksimum pików (T_{max}), z uwzględnieniem 6 szybkości ogrzewania. Uzyskane wartości przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Parametry T_{on} i T_{max} uzyskane dla sześciu szybkości ogrzewania próbki w procesach termoutleniania kwasu linolowego.

Parameters T_{on} and T_{max} obtained for six rates of heating sample during the thermo-oxidative processes of linoleic acid.

Rodzaj próbki Type of sample	Szybkość ogrzewania Heating rates [K/min]	T_{on}		T_{max}	
		[°C]	[K]	[°C]	[K]
Kwas linolowy Linoleic acid	4	101,89	375,04	133,36	406,51
	5	105,71	378,86	139,55	412,70
	7,5	112,49	385,64	151,14	424,29
	10	119,27	392,42	162,39	435,54
	12,5	122,93	396,08	169,44	442,59
	15	126,62	399,77	174,90	448,05

Wyniki uzyskane w teście DSC wykazały istotny wpływ szybkości ogrzewania próbek na zarejestrowane wartości temperatury rozpoczęcia procesu utleniania oraz maksymalnej temperatury 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 kwasu linolowego na rozkład termoutleniający. Wartości temperatury T_{on} i T_{max} uzyskane przy różnych wartościach wzrostu szybkości ogrzewania próbki odpowiadały

stałemu stopniowi przereagowania i dlatego mogły być wykorzystane do obliczenia parametrów kinetycznych.

Wykorzystując wartości temperatury T_{on} oraz T_{max} kwasu linolowego, a także szybkość ogrzewania próbki sporządzono wykresy przedstawiające zależność logarytmu szybkości ogrzewania ($\log \beta$) od odwrotności temperatury ($1/T_{on}$; $1/T_{max}$) (rys. 1 i 2).

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

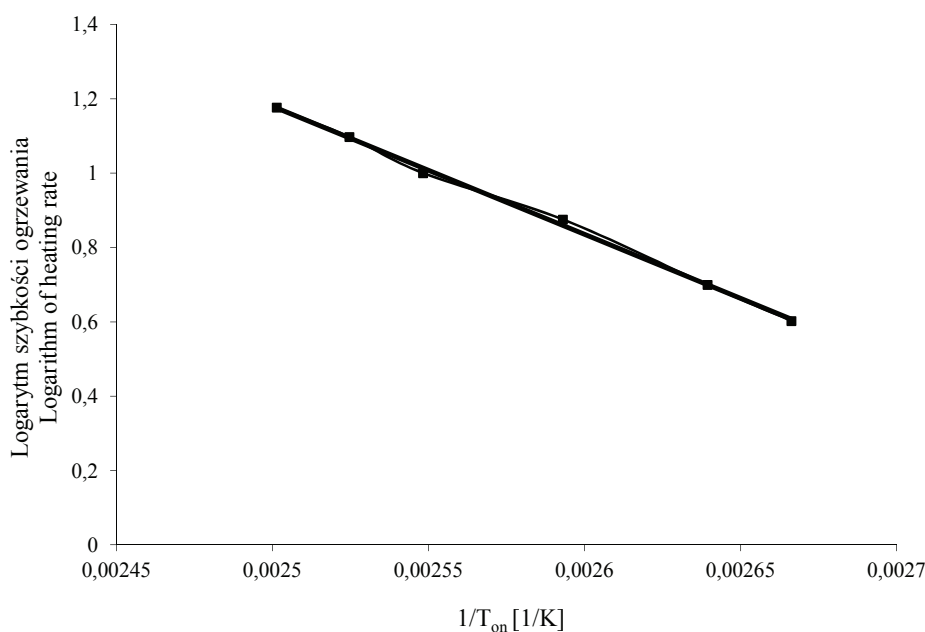
$$\log \beta = a(1/T_{on} \text{ lub } 1/T_{max}) + b \quad (1)$$

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

Współczynnik kierunkowy wyznaczony z równania (1):

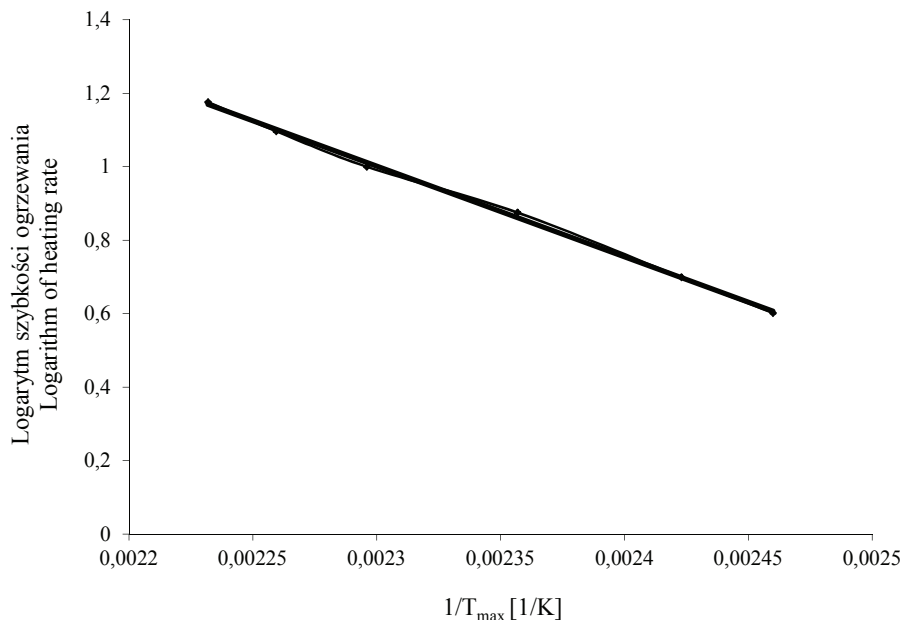
$$a = (d \log \beta / dT^{-1}) \quad (2)$$

został użyty do obliczenia wartości energii aktywacji.



Rys. 1. Temperaturowe przesunięcie onset w zależności od logarytmu szybkości ogrzewania termoutleniającego rozkładu kwasu linolowego.

Fig. 1. Temperature shift of the onset depending on the logarithm of heating rate of the thermooxidative decomposition of linoleic acid.



Rys. 2. Temperaturowe przesunięcie maksimum pików w zależności od logarytmu szybkości ogrzewania termoutleniającego rozkładu kwasu linolowego.

Fig. 2. Temperature shift of the peak maximum depending on the logarithm of heating rate of the thermo-oxidative decomposition of linoleic acid.

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:

$$E_a = -2,19 R \frac{d \log \beta}{d(1/T)} \quad (3)$$

Natomiast współczynnik przedpotęgowy obliczono z zależności:

$$Z = \frac{\beta E_a e^{\frac{E_a}{RT}}}{RT^2} \quad (4)$$

Uzyskane w wyniku obliczeń kinetyczne parametry opisujące termoutleniający rozkład kwasu linolowego przedstawiono w tab. 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 uzyskali Kasprzycka-Guttman [7], Kowalski [9] i Litwinienko [13].

Tabela 2

Statystyczne i kinetyczne parametry charakteryzujące termoutleniający rozkład kwasu linolowego.
Statistical and kinetic parameters characterizing thermal-oxidative decomposition of linoleic acid.

Parametr Parameter	Wartości liczone z T_{on} T_{on} based values	Wartości liczone z T_{max} T_{max} based values
a	-3445,1	-2469,1
b	9,79	6,68
R^2	0,99	0,99
Energia aktywacji [kJ/mol] Activation energy [kJ/mol]	62,72	44,95
Współczynnik przedpotęgowy Z Z – Pre-exponential factor	$1,7 \times 10^8$	$1,83 \times 10^5$

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

$$k = Z \exp(-E_a/RT) \quad (5)$$

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

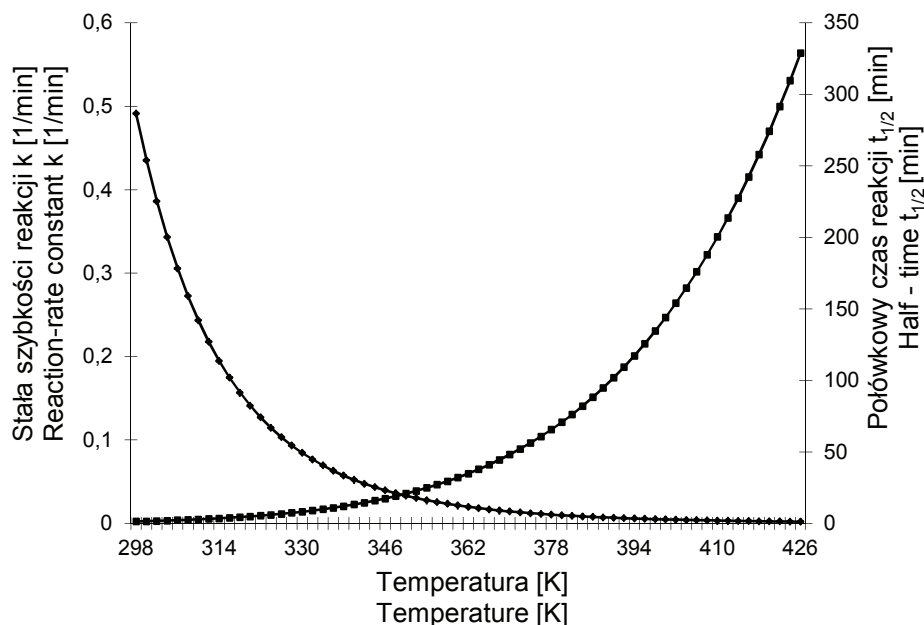
Następnie korzystając z równania:

$$t_{1/2} = \ln 2/k \quad (6)$$

wyznaczono połowkowe czasy reakcji. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 3.

Uzyskana wartość E_a obliczona przy osiągnięciu temperatury onset w przypadku kwasu linolowego wyniosła 62,72 kJ/mol i była znacznie niższa od energii kwasu laurynowego (118,7 kJ/mol) i oleinowego (88,4 kJ/mol) oraz nieco wyższa od energii kwasu linolenowego (60,3 kJ/mol) [11, 12, 13].

W przypadku kwasu linolowego energia aktywacji obliczona przy osiągnięciu temperatury onset miała wyższą wartość (62,72 kJ/mol) niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej (44,95 kJ/mol). Podobną zależność współczynników przedpotęgowych wykazali Litwinienko i wsp. [11, 12] w badaniach z wykorzystaniem nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz ich estrów. Wykazali również wyższą wartość energii aktywacji wyznaczonej przy uzyskaniu temperatury onset niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej. Przykładowo energia aktywacji kwasu oleinowego wynosiła przy T_{on} 88,4 kJ/mol, natomiast przy uzyskaniu T_{max} 74,5 kJ/mol; w przypadku kwasu laurynowego odpowiednio 118,7 kJ/mol i 80,2 kJ/mol. Wpływ na uzyskane różnice wartości 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 [1, 11].



Rys. 3. Zależność stałej szybkości reakcji (k) i połówkowego czasu reakcji ($t_{1/2}$) od temperatury termoutleniającego rozkładu kwasu linolowego.

Fig. 3. Dependency of reaction-rate constant (k) and half-time ($t_{1/2}$) on temperature of thermal-oxidative decomposition of linoleic acid.

Uzyskane wartości k świadczą o tym, że utlenianie kwasu linolowego jest reakcją pierwszego rzędu. Z dostępnych danych literaturowych wynika, że w ustalonych warunkach inicjacji procesy utleniania tłuszczów są reakcjami pierwszego rzędu [8, 9]. Obliczona stała szybkości k kwasu linolowego przy uzyskaniu temp. 100 °C (373,15 K) wyniosła $2,65 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$. Kowalski [10], analizując olej rzepakowy i słonecznikowy, uzyskał wartości k wynoszące odpowiednio $1,04 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ oraz $1,98 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$.

Na podstawie otrzymanych wartości energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji można wnioskować o niskiej stabilności oksydatywnej kwasu linolowego.

Wnioski

1. Pomiary nieizotermicznego utleniania kwasu linolowego prowadzone z użyciem skaningowego kalorymetru różnicowego pozwoliły na sprawne wyznaczenie energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji.

2. Obliczona energia aktywacji kwasu linolowego przy uzyskaniu temperatury onset osiągnęła wyższą wartość niż przy uzyskaniu temperatury maksymalnej. Podobną zależność uzyskano w odniesieniu do współczynników przedpotęgowych.
3. Wartości energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji wskazują na niską stabilność termooksydacyjną kwasu linolowego.

Literatura

- [1] Choe E., Min D.B.: Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comp. Rev. Food Sci. Food Safety*, 2006, **5**, 169 - 186.
- [2] Drozdowski B.: Lipidy. Charakterystyka ogólna tłuszczów jadalnych. W: *Chemia żywności, sacharydy, lipidy, białka – pod red. Z.E. Sikorskiego*. Wyd. V. WNT, Warszawa 2007.
- [3] Flynn J.H., Wall L.A.: A quick direct method for determination of activation energy from thermogravimetric data. *J. Polym. Sci. B, Polym. Lett.*, 1966, **4**, 323-328.
- [4] Friedman M.: Nutritional value of proteins from different food sources. *J. Agric. Food Chemistry*, 1996, **44**, 6-9.
- [5] Heś M., Korczak J., Górecka D., Gramza A., Jędrusek-Golińska A.: Stopień oddziaływania produktów utleniania tłuszczu na zmiany ilościowe dostępnej lizyny i metioniny w układach modelowych o zróżnicowanym odczynie środowiska. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, Supl., 455-460.
- [6] Kanner J.: Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 169-189.
- [7] Kasprzycka-Guttman T., Jarosz-Jarszewska M., Litwinienko G.: Specific heats and kinetic parameters of thermo-oxidative decomposition of peanut oil. *Thermochim. Acta*, 1995, **250**, 197-205.
- [8] Kowalski B.: Thermoanalytical investigations of edible oils and fats. I. Kinetics of thermal-oxidative decomposition of rapeseed oil. *Acta Alimen. Pol.*, 1988, **14**, 195-206.
- [9] Kowalski B.: Termokinetyczna analiza utleniania olejów i tłuszczów jadalnych. Praca habilitacyjna, Wyd. SGGW, Warszawa 1994, ss. 24-59.
- [10] Kowalski B., Ratusz K., Kowalska D., Bekas W.: Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat methods. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2004, **106**, 165-169.
- [11] Litwinienko G., Daniluk A., Kasprzycka-Guttman T.: Study on autoxidation kinetics of fats by differential scanning calorimetry. 1. Saturated C12-C18 fatty acids and their esters. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2000, **39**, 7-12.
- [12] Litwinienko G., Kasprzycka-Guttman T.: Study on autoxidation kinetics of fat components by differential scanning calorimetry. 2. Unsaturated fatty acids and their esters. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2000, **39**, 13-17.
- [13] Litwinienko G.: Autoxidation of unsaturated fatty acids and their esters. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2001, **65**, 639-646.
- [14] Ozawa T.: Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis. *J. Therm. Anal.*, 1970, **2**, 301-324.
- [15] Pokorny J., Davidek J., Chocholata V., Panek J., Bulantova H., Janitz W., Valentova H., Viereclova M.: Interaction of oxidized ethyl linoleate with collagen. *Nahrung*, 1990, **34**, 159-169.
- [16] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991.

ASSESSMENT OF LINOLEIC ACID OXIDATION PARAMETERS USING DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY**S u m m a r y**

Essential unsaturated fatty acids: linoleic and α -linolenic play a specific role in the proper functioning of human body. As polyunsaturated acids, they are exposed to oxidation, and, as a result, they lose their biological activity. As a consequence of their degradation, many health-destructive substances are formed, i.e. the primary and secondary oxidation products. Those compounds are responsible for the rancid smell and taste of food products. Therefore, it is so important to assess the oxidative stability since it is the main indicator of the wholesomeness and technological usefulness of fats.

The scope of the paper included the determination of thermo-kinetic parameters of linoleic acid using a differential scanning calorimetry test, as well as the assessment of oxidative stability of the acid analyzed. A dynamic option of DSC apparatus was used in the analysis and the following rates of heating samples were applied: 4 K/min; 5 K/min; 7.5 K/min; 12.5 K/min; 15 K/min. The non-isothermal process of linoleic acid oxidation was measured using a differential scanning calorimeter; owing to this, it was possible to efficiently determine the activation energy, pre-exponential factor, and the reaction-rate constant.

Key words: polyunsaturated fatty acids, thermo-kinetic parameters, thermo-oxidative stability, and differential scanning calorimetry ☒