

UNIKÁTNÍ DERIVÁTY TOKOFEROLU

UNIQUE TOCOPHEROL DERIVATIVES

František Kreps¹ – Zuzana Krepsová¹

¹Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovensko

<https://doi.org/10.11118/978-80-7509-996-9-0200>



ABSTRAKT

V práci sme sa zamerali na vznik esterov tokoferolov s mastnými kyselinami počas vysokoteplotného spracovania potravín. Oveľa viac pozornosti sa v súčasnosti venuje vzniku tokoferyl chinónov a iným oxidačným produktom tokoferolov. Estery tokoferolov sú preto doposiaľ málo preskúmanými produktami reakcie tokoferolov s mastnými kyselinami. Pomocou modelových experimentov sme dokázali, že počas laboratórnej dezodorizácie, ale aj počas kulinárskej úpravy olejov, vznikajú estery tokoferolov s mastnými kyselinami. Ich obsah v dezodorizovanom oleji je priamo úmerne závislý od obsahu tokoferolov, voľných mastných kyselín a času dezodorizácie. Zistili sme, že každý komerčne dostupný dezodorizovaný olej (rafinovaný) obsahuje 3–12 mg/kg esterov tokoferolov. Pre ľudský organizmus predstavujú zdroj tokoferolov, antioxidantov, ktorých hydroxylová skupina bola pred oxidáciou chránená mastnou kyselinou.

Kľúčové slová: tokoferoly, estery tokoferolov, dezodorizácia, vyprážanie.

ABSTRACT

In this work, we focused on the formation of tocopherol esters with fatty acids during high-temperature food processing. Much more attention is currently being paid to the formation of tocopheryl quinones and other oxidation products of tocopherols. Esters of tocopherols are thus far little-researched products of the reaction of tocopherols with fatty acids. With the help of model experiments, we proved that during laboratory deodorization, but also during the culinary treatment of oils, esters of tocopherols with fatty acids are formed. Their content in deodorized oil is directly proportionally dependent on the content of tocopherols, free fatty acids and the time of deodorization. We found that every commercially available deodorized oil (refined) contains 3–12 mg/kg of tocopherol esters. For the human body, they represent a source of tocopherols, antioxidants whose hydroxyl group was protected from oxidation by a fatty acid.

Keywords: tocopherols, tocopherol esters, deodorization, frying.

ÚVOD / INTRODUCTION

Oxidácia lipidov v potravinách je vážnym problémom, ktorý vedie k zhoršeniu organoleptických vlastností, funkčnosti a nutričnej kvality potravín. Zníženie kvality organoleptických vlastností je spôsobené predovšetkým v dôsledku rozkladu nenasýtených mastných kyselín počas auto oxidácie. Antioxidanty a ich synergenty prirodzene prítomné v potravinách spomaľujú nástup oxidácie alebo spomaľujú rýchlosť oxidácie

mastných kyselín (Schmidt, 2011; Akoh, 2017). Rafináciou olejov a to najmä dezodorizáciou a bielením (prípadne odslizovaním) sa v olejoch významne znižuje obsah týchto zdraviu prospešných látok (Tasan a Demirici 2005; Kreps a Schmidt, 2015). Tento proces zušľachtovania olejov spôsobuje vznik malého množstva degradačných produktov tokoferolov (Verleyen et al., 2002; Verhé et al., 2006; Kreps, et al., 2014, 2015). Pri oxidácii lipidov sa oxiduje aj tokoferol za vzniku radikálov tokoferolu, ktoré sa rýchlo premieňajú na konečné oxidačné produkty tokoferolov, ktorými sú tokoferyl chinóny, diméry a triméry tokoferolov (Velíšek et al., 2009). Ich vznik je katalyzovaný kulinárskou úpravou potravín, fritovaním (180 °C) a pri vyšších teplotách dezodorizácie (220 °C) sa degradujú za vzniku epoxidov a dimérov tokoferolov (Murkovic et al., 1997; Rennick et al., 2006). V tejto práci skúmame, či pri vysoko teplotnom ohreve rastlinných olejov vznikajú estery tokoferolov s mastnými kyselinami. Tieto látky sú prítomné v niektorých listoch a plodoch rastlín (Pereira et al., 2002; Klink et al., 1994) a vznikajú pri výrobe štruktúrnych tukov transesterifikáciou a acidolýzou (Zou et al., 2013; Hamman et al., 2006). Doposiaľ existujú iba dve vlastné práce (Kreps et al., 2016, 2017), ktoré potvrdzujú vznik esterov tokoferolov s mastnými kyselinami v olejoch aj pri vyprážaní, fritovaní a dezodorizácii olejov.

MATERIÁL A METODIKA / MATERIAL AND METHODS

Slnečnicový olej (Vénusz, Maďarsko) s návažkom 20 g bol ohrievaný pri fritovacej teplote 180 °C prístrojom Rancimat 743, po dobu 10 h. V prvom experimente bol slnečnicový olej ohrievaný za prítomnosti vzdušného kyslíka. V druhom experimente bol olej prebublávaný vzdušným kyslíkom (20 L/h). Olej obsahoval 564 mg/kg alfa-tokoferolu (spolu 38 mg/kg β , γ , δ - tokoferolov), 0,3 % hm. VMK, 32 % hm. kyseliny olejovej, 58 % hm. kyseliny linolovej a mal peroxidové číslo 0,8 mmol 0,5 O₂/kg.

Na laboratórnu dezodorizáciu bol použitý destilačný zvyšok z molekulovej destilácie slnečnicového oleja. Ten obsahoval v priemere 25 mg/kg tokoferolov, 99,00 % rel. triacylglycerolu, 0,42 % rel. monoacylglycerolu, 0,60 % rel. diacylglycerolu a 0,08 % rel. VMK. Relatívne percentá vzhľadom na TLC stanovené lipidické triedy. Olej mal peroxidové číslo s hodnotou 0,5 mmol 0,5 O₂/kg. Ďalej bol obohatený prídavkom 583 a 844 mg/kg alfa-tokoferolu a 2 % hm. prídavkom kyseliny palmitovej. Vďaka tejto príprave sme získali modelovú vzorku TAG, kde počas laboratórnej dezodorizácie vznikali výhradne estery jedného typu tokoferolu (alfa-tokoferol) s jedným typom mastnej kyseliny (palmitová).

Laboratórna dezodorizácia 260 °C $\pm$ 0,5 °C sa uskutočnila v Muflovej peci, ktorej ohrev riadil PID regulátor (Omega, USA). Merací člen zapichnutý v pilinách hliníka meral teplotu v priestore medzi šamotovými stenami pece a sklom skúmavky. Olej bol v skúmavke premiešavaný dusíkom (5,0) za mierného prebublávania (25 L/h). Spolu s dusíkom sa do oleja dostával aj kyslík (0,05 mol/h) z dusíkovej tlakovej nádoby.

Analýza esterov tokoferolov bola uskutočnená až po izolácii esterov tokoferolov z olejov. Tá bola uskutočnená kolónovou chromatografiou z ohrievaných olejov. Ponúkala vyššiu účinnosť separácie ako destilácia

molekulovou odparkou. Na kolónovú chromatografiu so stacionárnou fázou silikagel sme použili 2–4 g oleja. Ohrievané oleje sme rozpustili v n-hexáne a na separáciu sme požili mobilnú fázu pozostávajúcu zo 100 ml n-hexánu, 250 ml zmesi n-hexánu : dietyléteru (95:5) a 400 ml zmesi n-hexánu : dietyléteru (90:10). Na základe TLC analýzy sme vybrali frakcie obsahujúce estery tokoferolov s MK.

Estery tokoferolov s mastnými kyselinami boli kvantitatívne analyzované pomocou HPLC-UV (1100 series, Agilent, USA) pri vlnovej dĺžke 284 nm ($\lambda_{\max}$ pre α -tokoferyl palmitát). Nastrekovali sme 20 mikrolitrov vzorky rozpustnej v izopropanole v koncentrácii 10 – 20 mg/ml. Analyty sme separovali v dvoch spojených kolónach Reprosil 100 C18, 250 × 4 mm, veľkosť čiaščiek 5 μ m a Nucleosil 125 C 18, 125 × 4 mm, veľkosť čiaščiek 5 μ m (Watrex, Česko). Mobilná fáza obsahovala metanol a izopropanol v pomere 65:35 a rýchlosť prietoku mobilnej fázy bola 1 ml/min. Obsah esterov tokoferolov s MK sme stanovili z rovnice kalibračnej krivky.

Tabuľky a grafy boli spracované v programe MS Excel 365 (Microsoft Corporation, USA).

Výber použitých vzoriek a ich označenie:

α -T – alfa-tokoferol, So – slnečnicový olej, SoM – modelový slnečnicový olej.

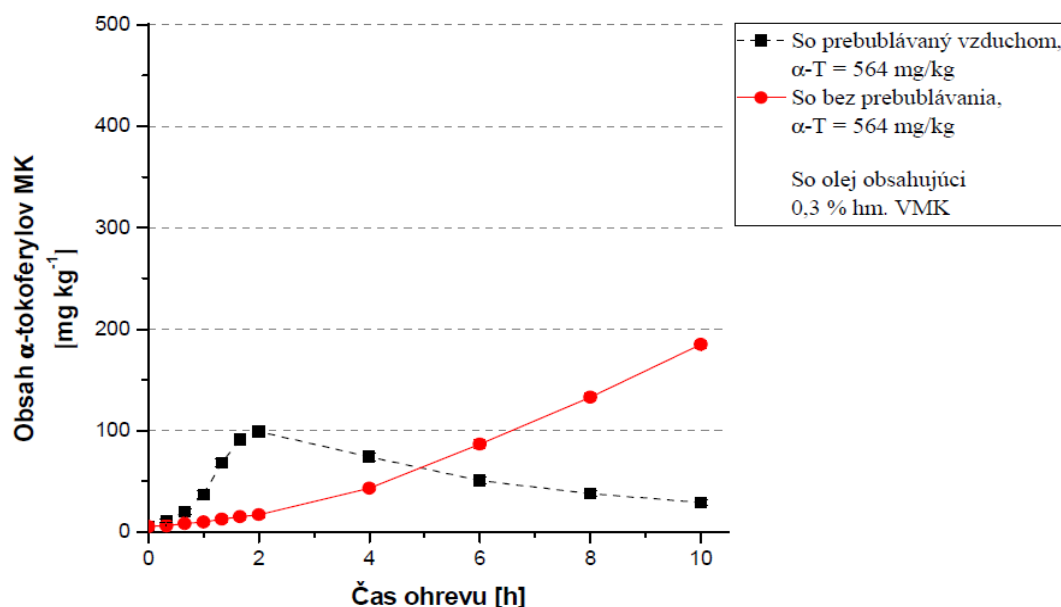
VÝSLEDKY A DISKUSIA / RESULTS AND DISCUSSION

V našom experimente sme povrchové vyprážanie simulovali prebublávaním slnečnicového oleja v skúmavke vzdušným kyslíkom a hlboké vyprážanie bolo uskutočnené bez prebublávania slnečnicového oleja. V slnečnicovom oleji ohrievanom 10 h v otvorenej skúmavke pri teplote 180 °C, plynule rástol obsah esterov tokoferolov mastných kyselín (obr. 1) z 5 mg/kg na 185 mg/kg. Ich obsah bol v 10 h ohrevu skoro dvojnásobne väčší ako v prebublávanom slnečnicovom oleji (20 L/h vzdušného kyslíka), kde bolo maximum v čase 2 h ohrevu. Ohrev oleja prebublávaním sa vyznačoval oveľa rýchlejším vznikom ($k_1 = 0,018 \text{ h}^{-1}$) a degradáciou esterov tokoferolov ($k_2 = 0,529 \text{ h}^{-1}$), ktoré sa dali popísať diferenciálnou rovnicou. Naproti tomu, pri ohreve oleja v otvorenej skúmavke, rýchlosť vzniku a degradácie esterov tokoferolov bola limitovaná difúziou kyslíka. Tieto výsledky sú v zhode s našou publikáciou (Kreps et al., 2016) a korelujú s technikou ohrevu rastlinných olejov podľa Barrera-Arellano et al. (2002). Doposiaľ neexistujú ďalšie štúdie, ktoré skúmajú vznik esterov tokoferolov za podmienok vyprážania. Výsledky Barrera-Arellana et al. (2002) a Fisnar et al. (2014) ukázali, že smaženie na panvici spôsobuje väčšie straty tokoferolov ako hlboké vyprážanie.

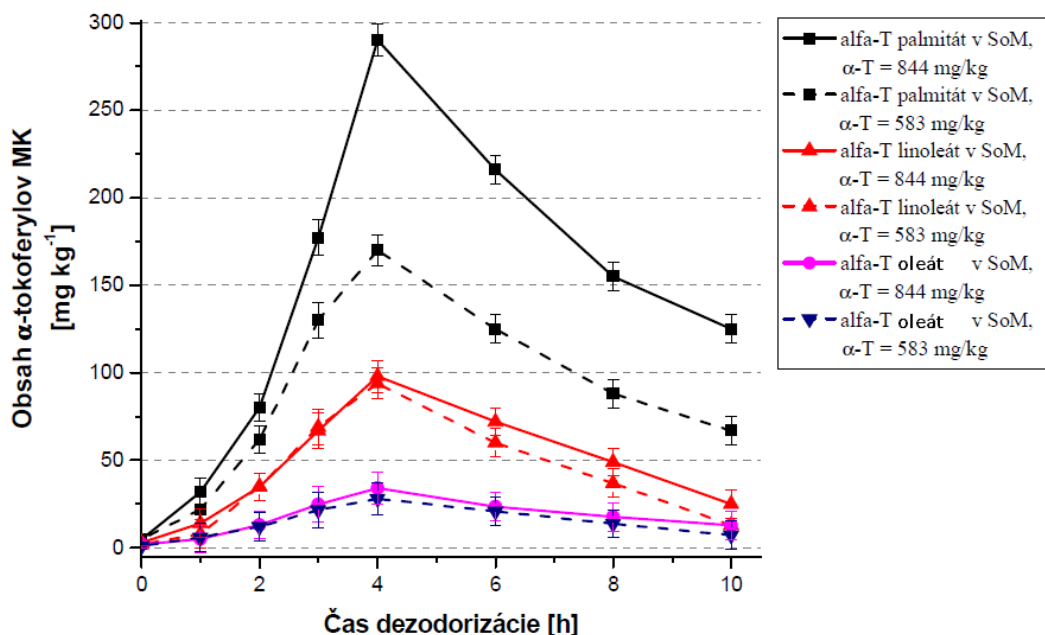
Veľký povrch oleja, rýchla difúzia kyslíka do oxidačných reakcií mastných kyselín umožňuje rýchlejšiu tvorbu degradačných produktov mastných kyselín a tokoferolov. Tieto tvrdenia sú v zhode s našimi výsledkami, pretože prebublávanie oleja vzdušným kyslíkom viedlo k rýchlej difúzii kyslíka, spojenej s rýchlou hydrolýzou mastných kyselín a vznikom esterov tokoferolov s mastnými kyselinami.

Ohrev slnečnicového oleja pod dusíkom pri 260 °C simuloval podmienky dezodorizácie olejov, ako finálnej úpravy olejov počas rafinácie. Priebeh vzniku a degradácie esterov tokoferolov s mastnými kyselinami (obr. 2) mal podobný kinetický priebeh ako pri vyprážaní. Ale s tým rozdielom, že dezodorizácia prebiehala

bez kyslíka a spôsobila významnejšie zmeny obsahu esterov tokoferolu ako pri vyprážaní. Pri dezodorizácii je teplota tak vysoká, že sa disociuje väčšie množstvo voľných mastných kyselín, ktoré sa môžu stať kyslými katalyzátormi esterifikácie. Voľné mastné kyseliny, tak pri vysokých teplotách esterifikujú tokoferoly (Krebs et al., 2017). Potvrdzuje to aj Velíšek et al., (2009), kde karboxylová skupina mastnej kyseliny ďalej môže reagovať s hydroxylovou skupinou hydroxykyselín vznikajúcich pri oxidácii olejov. V komerčnom slnečnicovom a repkovom oleji sme stanovili 3 – 8 mg/kg esterov tokoferolov s MK.



Obrázok 1: Vplyv ohrevu (180 °C) slnečnicového oleja za simulovaných podmienok povrchového a hlboko vedeného vyprážania, na obsah esterov alfa-tokoferolu s mastnými kyselinami. Pozn.: α -T: alfa-tokoferol, So: slnečnicový olej



Obrázok 2: Vplyv ohrevu (260 °C) modelového slnečnicového oleja (SoM) za simulovaných podmienok dezodorizácie, na obsah esterov alfa-tokoferolu s mastnými kyselinami. Pozn.: SoM obsahoval 2 % kyseliny palmitovej a rôzny vstupný obsah alfa-tokoferolu (α -T)

Dezodorizácia v priemyselných podmienkach pri 260 °C trvá 20 až 40 min. V našej modelovej dezodorizácii sme oleje ohrievali 10 h, vďaka tomu sme mohli vidieť dynamiku vzniku a degradácie esterov tokoferolov. Pokus sme zjednodušili tým, že sme na dezodorizácie použili iba TAG slnečnicového oleja, zbavené všetkých tokoferolov a mastných kyselín. Pred dezodorizáciou sme do modelového oleja pridali 583, alebo 844 mg/kg alfa-tokoferolu a 2 % kyseliny palmitovej. Vďaka tomu môžeme na obr. 2 sledovať, že čím je systém bohatší na tokoferoly, tým viac vznikne ich esterov s mastnými kyselinami. Ďalej nám výsledky (obr. 2) odhaľujú, že pri vysokých dezodorizačných teplotách dochádza k disociácii mastných kyselín zo štruktúry TAG. Triacylglyceroly slnečnicového oleja sú primárne bohaté na kyselinu linolovú 58 % a olejovú 32 %. Primárne teda vznikajú estery alfa-tokoferolu s kyselinou linolovou a potom s kyselinou olejovou. Vo výsledkoch na obr. 2 prevažuje obsah esteru tokoferolu s kyselinou palmitovou, ale to iba vďaka jeho 2 % prídavku pred dezodorizáciou. Tieto výsledky sú v zhode s našou publikáciou (Kreps et al., 2017) a korelujú s dvomi prácami (Verleyen et al., 2002; Verhé et al., 2006), ktoré potvrdili, že počas dezodorizácie olejov vznikajú doposiaľ málo preskúmané estery tokoferolov s mastnými kyselinami. Doposiaľ neexistujú ďalšie štúdie, ktoré skúmajú vznik esterov tokoferolov za podmienok dezodorizácie.

ZÁVER / CONCLUSIONS

Tokoferoly reagujú v slnečnicovom oleji ohrievanom pri teplote 180 °C s voľnými mastnými kyselinami, za vzniku ich esterov. Hlboké vyprážanie v otvorenej skúmavke bolo sprevádzané pomalým nástupom vzniku esterov tokoferolov, vďaka limitovanej difúzii kyslíka cez povrch oleja. Napriek tomu ich obsah bol ďaleko väčší ako v oleji použitom pri simulovanom povrchovom vyprážaní. Ďalší vysokoteplotný (260 °C) experiment pri podmienkach dezodorizácie, bez prístupu kyslíka potvrdil, že estery tokoferolov na svoj vznik potrebujú iba vysokú teplotu a prítomnosť tokoferolov a mastných kyselín. Pri vysokých dezodorizačných teplotách dochádza k disociácii mastných kyselín zo štruktúry TAG. Tie sa správajú ako katalyzátory reakcie a zároveň do nej vstupujú s tokoferolmi za vzniku ich esterov s mastnými kyselinami. Doposiaľ sa nevedelo, že rafinované oleje, ktoré prešli dezodorizáciou obsahujú zdraviu prospešné estery tokoferolov s mastnými kyselinami.

POĎAKOVANIE / ACKNOWLEDGEMENT

Tento výskum podporila Vedecká Grantová Agentúra MŠVVaŠ SR a SAV (VEGA) na základe zmluvy Vega 1/0141/23. Ďalej bol tento výskum financovaný Agentúrou na Podporu Výskumu a Vývoja (APVV) na základe zmluvy APVV-16-0088.

LITERATÚRA / REFERENCES

- Akoh, C. C. (2017): Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology, CRC press. ISBN: 0824707494
- Barrera-Arellano, D., Ruiz-Méndez, V., Velasco, J., Márquez-Ruiz, G., Dobarganes, C. (2002): Loss of tocopherols and formation of degradation compounds at frying temperatures in oils differing in degree of unsaturation and natural antioxidant content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(14), 1696–1702.
- Fišnar, J., Doležal, M., Réblová, Z. (2014): Tocopherol losses during pan-frying. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(12), 1694–1700.
- Hamman, F., Shahidi, F. (2006): Acidolysis reactions lead to esterification of endogenous tocopherols and compromised oxidative stability of modified oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, p. 7319–7323.
- Klink, G., Buchs, A., Gulacar, F. O. (1994): Tocopheryl esters from *Nymphaea alba* and *Nuphar luteum*, *Phytochem*, vol. 36, p. 813–814.
- Kreps, F., Kyselka, J., Burčová, Z., Schmidt, Š., Filip, V., Dubaj, T., Gajdoš, P., Čertík, M. (2016): Synthesis and analysis of tocopheryl quinone and tocopherol esters with fatty acids in heated sunflower oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, ISSN: 1438-2377, vol. 118, no. 5, p. 788–802.
- Kreps, F., Kyselka, J., Burčová, Z., Schmidt, Š., Rajchl, A., Filip, V., Ház, A., Jablonský, M., Sládková, A., Šurina, I. (2017): Influence of deodorization temperature on formation of tocopherol esters and fatty acids polymers in vegetable oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, ISSN: 1438–7697, vol. 119, no. 3, Article number: 1600027, DOI: 10.1002/ejlt.201600027.
- Kreps, F., Schmidt, Š. (2015): Vplyv ohrevu rastlinných olejov na degradáciu tokoferolov a vznik tokoferolových mastných kyselín. Dizertačná práca. FCHPT-STU, 2015.
- Kreps, F., Vrbíková, L., Schmidt, Š., Tmáková, L., Hlásniková, J., Sekretár, S. (2014): Vplyv laboratórnej dezodorizácie na obsah tokoferolov slnečnicového oleja. In 52. Mezinárodní konference o olejích a tucích, Humpolec, ČR, 14. - 16.5.2014: Zborník prednášok. Praha: Česká společnost chemická, Odborná skupina pro tuky, detergenty a kosmetickou chemii, s. 68–72. ISBN 978-80-86238-67-8.
- Murkovic, M., Wiltschko, D., Pfannhauser, W. (1997): Formation of α -tocopherolquinone and α -tocopherolquinone epoxides in plant oil, *Lipid*, vol. 99, p. 165–169.
- Pereira, A. S., Siqueira, D. S., Elias, V. O., Simoneit, B. R., Cabral, J. A., Neto, F. R. A. (2002): Three series of high molecular weight alkanolates found in Amazonian plants. *Phytochemistry*, 61(6), p. 711–719.
- Rennick, K. A., Warner, K. (2006): Effect of elevated temperature on development of tocopherolquinones in oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), p. 2188–2192.

Schmidt, Š. (2011): Antioxidanty a oxidačné zmeny tukov v potravinách, monografia, 1. vyd. - 1. dotlač. STU, Bratislava, 2011, ISBN 978-80-227-3491-2.

Tasan, M., Demirici, M. (2005): Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining, *European Food Research and Technology*, 2005, vol. 220 p. 251–254

Velíšek, J., Hajšlová, J. (2009): Chemie potravin. 1 zväzok, 3. vyd. Osis, Tábor, ISBN 978-80-86659-15-2.

Verhé, R., Verleyen, T., Hoed, V. V., Greyt, W. D. (2006): Influence of refining of vegetable oils on minor components. *Journal of Oil Palm Research*, p. 168–179.

Verleyen, T., Kamal-Eldin, A., Mozuraityte, R., Verhé, R., Dewettinck, K., Huyghebaert, A., De Greyt, W. (2002): Oxidation at elevated temperatures: competition between α -tocopherol and unsaturated triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(4), p. 228–233.

Zou, I., Akoh, C. C. (2013): Identification of tocopherols, tocotrienols, and their fatty acid esters in residues and distillates of structured lipids purified by short-path Didistillation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 6, p. 238–246.

Kontaktná adresa / Contact Information: doc. Ing. František Kreps, Ph.D., Ústav potravinárstva a výživy, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: frantisek.kreps@stu.sk