

І.Г. Радзівська, О.П. Мельник

Національний університет харчових технологій, Київ

КІНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ РОСЛИННИХ ОЛІЙ



Проведено визначення показників окиснюваності соняшникової, кукурудзяної, горіхової, пальмової та пальмоядрової олій графічним методом Цепалова та методом DPPH. Показано вплив природних антиоксидантів олій та ступеня ненасиченості жирних кислот на швидкість процесу окиснення. Методи можуть бути використані з метою прогнозування окиснювальної стабільності олій при зберіганні.

Ключові слова: олії, окиснення, графічний метод Цепалова, кінетичні параметри, метод DPPH, антиоксидантна активність.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Погіршення якості багатьох харчових продуктів під час зберігання обумовлено взаємодією їх ліпідів з киснем. Важливе значення серед продуктів харчування надається олієжировим продуктам, оскільки вони є одними з основних джерел енергії для організму людини.

Швидкість окиснення олієжирових продуктів визначається будовою радикалів жирних кислот, що входять до складу тригліцеридів, температурними умовами, присутністю каталізаторів та інгібіторів окиснення, дією світла та радіації. При цьому утворюються активовані похідні молекулярного кисню або активні форми кисню, які беруть участь у реакціях вільнорадикального окиснення, в т.ч. і перекисного окиснення ліпідів, що призводить до зниженої стійкості таких продуктів при зберіганні.

Проблема підвищення стійкості олієжирових продуктів пов'язана з дослідженням активності і механізму дії природних антиоксидантів (токоферолів), що входять до їх складу.

Антиоксиданти відносяться до класу біологічно активних речовин, які зв'язують зайві

вільні радикали, перешкоджають прискореному окисненню ліпідів і утворенню небажаних продуктів окиснення [1].

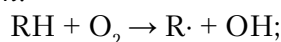
Існують прямі і непрямі методи, які дозволяють визначити процеси окиснення олієжирових продуктів, напр., хемілюмінесценція, газометрія, мікрокалориметрія, визначення пероксидного та кислотного чисел, модельні реакції взаємодії антиоксидантів з радикалами, генеровані різними способами, застосування інтелектуальних систем «електронний ніс», «електронний язик» [2–5].

Метою даної роботи є визначення антиоксидантної активності і стійкості до окиснення ряду олій (соняшникової, кукурудзяної, горіхової, пальмової, пальмоядрової) методом зі стабільним хромоген-радикалом *DPPH* (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) та графічним методом, запропонованим Цепаловим, для прогнозування окиснювальної стабільності олієжирових продуктів при зберіганні.

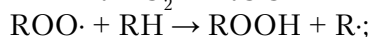
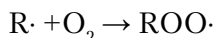
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Процес окиснення ліпідів — це ланцюговий вільно-радикальний процес, який відбувається у три стадії [2, 6, 7]:

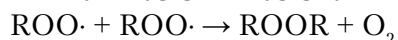
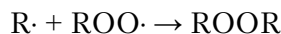
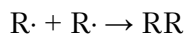
1) *Initiation:*



2) *Propagation:*

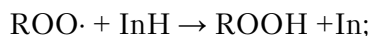


3) *Termination:*



У першій ініціюючій фазі з ліпідного субстрату під дією ініціатора утворюється вільний радикал. Розгалуження ланцюгів відбувається в результаті радикального розпаду гідропероксидів, які є єдиними первинними продуктами окиснення.

За умови присутності в олії інгібітору гідропероксиди здатні взаємодіяти з ним, що уповільнює або на деякий час зупиняє подальший розвиток окиснення:



Для визначення вмісту токоферолів, що є природними інгібіторами ланцюгових процесів, використовували метод рідинної хроматографії високороздільної здатності [8] (табл. 1).

З даних таблиці видно, що найвищий вміст токоферолів серед досліджуваних зразків виявлено у кукурудзяній рафінованій олії. Найменший вміст токоферолів було зафіксовано у пальмовій олії. У соняшниковій пресовій олії загальна концентрація токоферолів не перевищувала 95 мг %, що на 90 % представлені α -токоферолом. У досліджуваних зразках γ - та δ -ізомери представлені незначною кількістю – від

5,6 % у горіховій пресовій олії, до 8,5 % у кукурудзяній рафінованій, що обумовлено природними особливостями олій.

Кінетику окиснення олій досліджували при вільному доступі світла та повітря (автоокиснення) при температурі 22 ± 2 °C по накопиченню в них гідропероксидів за зміною пероксидного числа (ПЧ) за стандартною методикою [9].

За результатами дослідів (рис. 1) найбільш стабільними виявились олії тропічного походження – пальмова та пальмоядрова: величина ПЧ для них становить 2,36 та 3,23 ммоль¹/2O/кг відповідно. Це можна пояснити низьким початковим значенням ПЧ в оліях, що знаходиться у межах періоду індукції окиснення. Аналогічні результати одержано для кукурудзяної олії – при низькому початковому значенні ПЧ виявлено високу стабільність на 60-у добу окиснення. Перебіг окиснення соняшникової та горіхової олій відбувався подібним чином – спостерігається період індукції протягом 30-и діб та швидке накопичення гідропероксидів наприкінці окиснення.

Визначення показників окиснюваності олій дозволило застосувати графічний метод Цепалова для розрахунку кінетичних параметрів процесу окиснення.

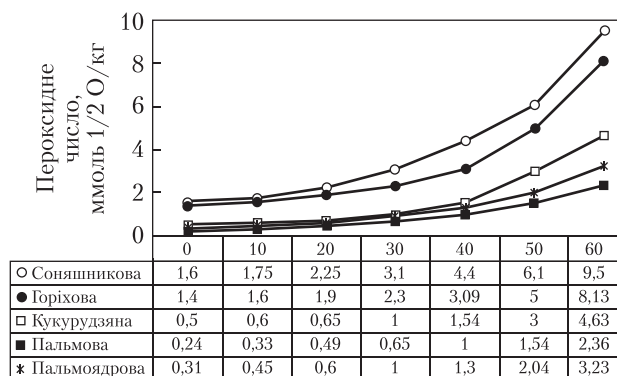
Відповідно до теорії ланцюгових радикальних процесів за участю інгібіторів рівняння швидкості окиснення має вигляд [10]:

$$W = \frac{k_{p2} \cdot [RH]}{k_7 \cdot f \cdot [InH]} \cdot W_i \quad (1)$$

Таблиця 1

Вміст токоферолів у зразках досліджуваних олій

Зразок олії	Загальний вміст, мг %	Ізомери, % загального вмісту			Сумарний вміст, мг %, (за Codex Alimentarius)
		α	β	$\gamma + \delta$	
Соняшникова пресо́ва	95	91,5	8,5	–	40,3–102,1
Горіхова пресо́ва	109	46,4	48,0	5,6	56,0–113,0
Кукурудзяна рафінована дезодорована	655	49,1	42,4	8,5	31,4–347,2
Пальмова	10	73,7	26,3	–	13,0–45,3
Пальмоядрова	56	27	73	–	28,9–130,1



Термін автоокиснення, доба

Рис. 1. Динаміка автоокиснення досліджуваних олій

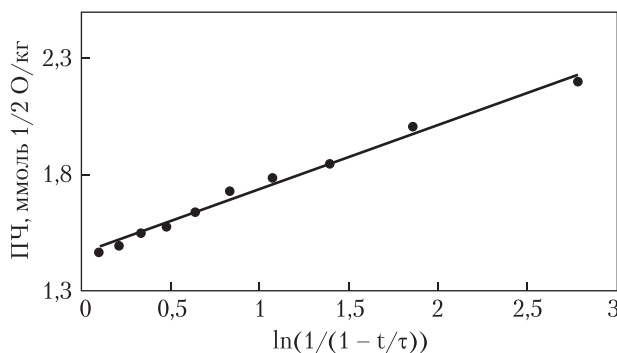


Рис. 2. Швидкість окиснення у логарифмічних координатах (на прикладі горіхової пресової олії)

де k_7 – константа швидкості реакції обривання ланцюгів (константа швидкості взаємодії пероксидних радикалів з природними антиоксидантами); f – коефіцієнт інгібування (кількість вільних радикалів, що «гинуть» на одній молекулі інгібітору); $[lnH]$ – концентрація антиоксиданта (інгібітору); W_i – швидкість ініціювання; k_{p2} – константа швидкості подовження ланцюга; $[RH]$ – концентрація продукту.

Концентрація інгібітору у часі змінюється за законом

$$f \cdot [lnH]_t = f \cdot [lnH]_0 - W_i \cdot t, \quad (2)$$

де $[lnH]_t$ – концентрація інгібітору у момент часу t ; $[lnH]_0$ – концентрація інгібітору на початку процесу.

Важливою характеристикою ланцюгового процесу є період індукції τ . Період індукції тим

більший, чим вища константа швидкості обривання ланцюгів та менша швидкість зародження ланцюгів. Фактично період індукції є гарантованим терміном зберігання олієжированих продуктів.

Величина періоду індукції τ (час), упродовж якого обривання ланцюгів проходить на молекулах інгібітору, дорівнює:

$$\tau = f \cdot [lnH]_0 / W_i, \quad (3)$$

за умови, що $[lnH]_t = 0$ і $t = \tau$.

За кінетичними кривими (рис. 1) графічно визначено період індукції апроксимацією дотичних у початковій області для кожного зразка продукту.

Для кожного моменту часу в індукційному періоді розраховано величину $\ln(1/(1-t/\tau))$ і побудовано залежність ПЧ – $\ln(1/(1-t/\tau))$ (рис. 2).

Параметр k_{p2}/k_7 , що відповідає відношенню констант швидкостей реакцій подовження і обривання ланцюгів у періоді індукції, розраховано як $\tan \alpha$ кута нахилу прямої ПЧ – $\ln(1/(1-t/\tau))$. Результати наведено у табл. 2.

Найкращі кінетичні параметри мають пальмова та пальмоядрова олії: значення констант k_{p2}/k_7 дорівнює 1,84 та 2,66 відповідно, що вказує на превалювання швидкості реакції обривання ланцюгів окиснення на молекулах інгібітору над реакціями подовження. Швидкість ініціювання під час автоокиснення олій визначається їх жирнокислотним складом (за інших однакових умов) – насамперед вмістом моно- та поліненасичених кислот [8]. Отже, у міру збільшення вмісту насичених жирних кислот в структурі тригліцеролів швидкість ініціювання W_i зменшується.

Оскільки швидкість реакції зародження ланцюгів (швидкість ініціювання) для лінолевої кислоти приблизно на порядок вища, ніж для олеїнової [4, 7], то і швидкість ініціювання для олії з високим вмістом поліненасичених жирних кислот повинна бути вищою, а період індукції – відповідно меншим. Це і спостерігається при окисненні насичених тропічних олій.

Для визначення активності природних антиоксидантів використано метод зі стабільним хромоген-радикалом DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) [11–14]. Для приготування робочих розчинів застосовували 96%-й метиловий спирт, початкова концентрація DPPH в реакційній суміші становила $7 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Ступінь знебарвлення розчинів DPPH після внесення олій визначали спектрофотометрично при 515 нм. Реакцію проводили без доступу світла у кварцевих кюветах товщиною 10 мм. Стандартною речовиною виступав α -токоферол. Радикал DPPH, розчинний у метанолі, реагує зі зразком антиоксиданту за схемою $\text{DPPH} \cdot + \text{АН} = \text{DPPH-H} + \text{А}$.

У результаті відновлення DPPH антиоксидантом зразка знебарвлюється пурпурно-синє забарвлення DPPH, а реакція контролюється за зміною оптичної густини. Визначення проводили кожні 15 хв протягом 1 год.

Антиоксидантну активність зразків олій розраховували за формулою

$$AA = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100 \%, \quad (4)$$

де A_1 – величина поглинання розчину досліджуваного зразка з розчином DPPH, A_2 – величина поглинання розчину досліджуваного зразка з розчином метанолу, A_3 – величина поглинання розчину DPPH в метанолі.

Величину антиоксидантної активності зразків олій визначали по калібрувальній кривій (рис. 3).

Значення результатів виражено через значення параметрів EC_{50} – концентрації антиоксиданту, при якій відбувається 50 % інгібування радикалу DPPH. Одержані результати наведено в табл. 3.

За даними реакції з DPPH найбільш стабільною до процесів окиснення є кукурудзяна рафінована олія. Це можна пояснити високим вмістом у ній природних антиоксидантів – ізомерів токоферолу, які виступають інгібіторами реакцій окиснення. Тропічні олії, які характеризуються незначним вмістом природного антиоксиданту, швидко окиснюються вже

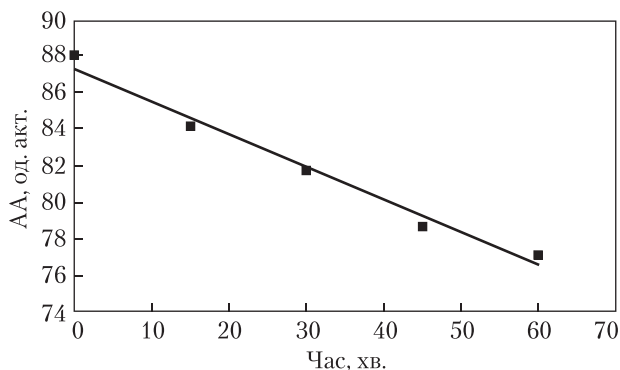


Рис. 3. Калібрувальна крива антиоксидантної активності (на прикладі пальмової олії)

на початкових стадіях реакції з DPPH, що добре видно при порівнянні: пальмова олія з вмістом 10 мг % токоферолу псується швидше за пальмоядрову з вмістом токоферолів 56 мг %. Соняшникова та горіхова олії мало відрізняються за швидкістю початкових етапів окиснення, що можна пояснити як аналогічним методом добування (пресовим), так і близьким значенням вмісту інгібітору.

Таблиця 2

Кінетичні параметри окиснення досліджуваних олій

Зразок олії	$(k_{p2}/k_7) \cdot 10^2$, (л/моль·с)
Соняшникова пресова	2,82
Горіхова пресова	3,07
Кукурудзяна рафінована дезодорована	3,88
Пальмова	1,84
Пальмоядрова	2,66

Таблиця 3

Антиоксидантна активність (AA) досліджуваних зразків

Зразок олії	AA, од. акт.
Соняшникова пресова	50
Горіхова пресова	53,2
Кукурудзяна рафінована дезодорована	45
Пальмова	81,8
Пальмоядрова	77,3

ВИСНОВКИ

Розраховано кінетичні параметри окиснення ряду олій графічним методом Цепалова. Доведено, що вміст ізомерів токоферолу конкурує з жирнокислотним складом олій при їх окисненні у процесі зберігання.

Методом із застосуванням радикалу DPPH розраховано антиокиснювальну активність природних антиоксидантів олій, що добре корелює із вмістом токоферолів та вказує на домінуючу роль останніх у сумарній активності щодо цього радикалу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Яшин Я.И., Рызжнев В.Ю., Яшин А.А., Черноусова Н.И. Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и их влияние на здоровье и старение человека. — М: ТрансЛит, 2009. — 212 с.
2. Roginsky V.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food / V. A. Roginsky, E. A. Lissi // *Food Chem.* — 2005. — **92**. — P. 235–254.
3. Калишченко А.А., Арсеньева Л.Ю., Иванов С.В. и др. Способ экспрессного определения отдельных показателей качества масла грецкого ореха по сигналам анализатора «электронный нос» // *Вестник ВГУИТ.* — 2014. — № 1. — С. 153–158.
4. Kulisic T., Radonic A., Katalinic V., Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil // *Food Chemistry.* — 2004. — **85**. — P. 633–640.
5. Храпова Н.Г., Скибида И.П., Мисин В.М. Кинетические характеристики природных антиоксидантов растительных масел // *Химическая физика.* — 2010. — **29**, № 6. — С. 76–80.
6. Пивень О.М. Технологія стабілізації харчових жирів щодо окиснювального псування: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук: спец. 05.18.06 «Технологія жирів, ефірних масел і парфумерно-косметичних продуктів». — Харків: НТУ «ХП», 2007. — 21 с.
7. Денисов Е.Т. Циклические механизмы обрыва цепей в реакциях окисления органических соединений // *Успехи химии.* — 1996. — **65**, № 6. — С. 547–563.
8. DSTU ISO 9936:2004 «Жири тваринні і рослинні та олій. Визначення вмісту токоферолів і токотриенолів. Метод високоефективної рідинної хроматографії (ISO 9936:1997, IDT)» / К.: Держспоживстандарт України. — 2004. — 12 с.
9. DSTU 4570:2006. Жири рослинні та олій. Метод визначення пероксидного числа. / К.: Держспоживстандарт України. — 2007. — 10 с.

10. Цепалов В.Ф., Харитонов А.А., Гладышев Г.П., Эммануэль Н.М. Определение константы скорости и коэффициентов ингибирования стабилизаторов с помощью модельной реакции // *Кинетика и катализ.* — 1977. — № 6. — С. 1395–1402.
11. Гусева Д.А., Прозоровская Н.Н., Широшин А.В. и др. Антиоксидантная активность растительных масел с разным соотношением омега-6/омега-3 жирных кислот // *Биомедицинская химия.* — 2010. — **56**, № 3. — С. 342–350.
12. Волков В.А., Пахомов П.М. Кинетика взаимодействия радикала ДФПГ с экстрактивными веществами растений в различных средах // *Ползуновский вестник.* — 2008. — № 3. — С. 309–313.
13. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity // *Songklanakarin J. Sci. Technol.* — 2004. — **26**, № 2. — P. 211–219.
14. Goupy P., Dufour C., Loonis M., Dangles O. Quantitative Kinetic Analysis of Hydrogen Transfer Reactions from Dietary Polyphenols to the DPPH Radical // *J. Agric. Food Chem.* — 2003. — **51**. — P. 615–622.

REFERENCES

1. Jashin Ja.I., Ryzhnev V.Ju., Jashin A.Ja., Chernousova N.I. Prirodnye antioksidanty. Soderzhanie v pishhevyyh produktah i ih vliyanie na zdorov'e i starenie cheloveka. Moskva: TransLit, 2009 [in Russian].
2. Roginsky V.A., Lissi E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chem.* 2005, 92: 235–254.
3. Kalinichenko A.A., Arsen'eva L.Ju., Ivanov S.V. i dr. Sposob jekspressnogo opredelenija otdel'nyh pokazatelej kachestv masla greckogo oreha po signalam analizatora «jelektronnyj nos». *Vestnik VGUIIT.* 2014, 1: 153–158 [in Russian].
4. Kulisic T., Radonic A., Katalinic V., Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry.* 2004, 85: 633–640.
5. Hrapova N.G., Skibida I.P., Misin V.M. Kineticheskie karakteristiki prirodnyh antioksidantov rastitel'nyh masel. *Himicheskaja fizika.* 2010, 29(6): 76–80 [in Russian].
6. Piven' O.M. *Tehnologija stabilizacii' harcovykh zhyriv shhodo oksynjuval'nogo psvannja:* avtoref. dys. na zdobuttja nauk. stupenja kand. tehn. nauk: spec. 05.18.06 «Tehnologija zhyriv, efirnyh masel i parfumerno-kosmetichnyh produktiv». Harkiv: NTU HPI, 2007 [in Ukrainian].
7. Denisov E.T. Ciklicheskie mehanizmy obryva cepej v reakcijah okislenija organicheskikh soedinenij. *Uspehi himii.* 1996, 65(6): 547–563 [in Russian].
8. DSTU ISO 9936:2004 Zhyry tvarynni i roslynni ta olii'. Vyznachennja vmistu tokoferoliv i tokotryjenoliv. Metod vysokoefektyvnoi' ridynnoi' hromatografii' (ISO 9936: 1997, IDT). Kyiv: Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 2004 [in Ukrainian].

9. DSTU 4570:2006. Zhyry roslynni ta olii'. Metod vyznachennja peroksydnogo chysla. Kyiv Derzhspozhyvstandart Ukraïny, 2007 [in Ukrainian].
10. Cepalov V.F., Haritonov A.A., Gladyshev G.P., Jemmanujel' N.M. Opredelenie konstanty skorosti i koeficientov ingibirovanija stabilizatorov s pomoshh'ju model'noj reakcii. *Kinetika i kataliz.* 1977, 6: 1395–1402 [in Russian].
11. Guseva D.A., Prozorovskaja N.N., Shironin A.V. i dr. Antioksidantnaja aktivnost' rastitel'nyh masel s raznym sootnosheniem omega-6/omega-3 zhirnyh kislot. *Bio-medicinskaja himija.* 2010, 56(3): 342–350 [in Russian].
12. Volkov V.A., Pahomov P.M. Kinetika vzaimodejstvija radikala DFPG s jekstraktivnymi veshhestvami rastenij v razlichnyh sredah. *Polzunovskij vestnik.* 2008, 3: 309–313 [in Russian].
13. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarín J. Sci. Technol.* 2004, 26(2): 211–219.
14. Goupy P., Dufour C., Loonis M., Dangles O. Quantitative Kinetic Analysis of Hydrogen Transfer Reactions from Dietary Polyphenols to the DPPH Radical. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51: 615–622.

И.Г. Радзиевская, О.П. Мельник

Национальный университет пищевых технологий, Киев

КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ПРИРОДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ
РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ

Определены показатели окисляемости подсолнечно-го, кукурузного, пальмового, пальмоядрового масел и

масла грецкого ореха графическим методом Цепалова и методом DPPH. Показано влияние природных антиоксидантов растительных масел и степени ненасыщенности жирных кислот на скорость процесса окисления. Методы могут быть использованы для прогнозирования окислительной стабильности растительных масел при хранении.

Ключевые слова: растительные масла, окисление, графический метод Цепалова, кинетические параметры, метод DPPH, антиоксидантная активность.

I.G. Radzievska, O.P. Melnyk

National University
of Food Technologies, Kyiv

KINETIC
CHARACTERISTICS OF OIL NATURAL
ANTIOXIDANTS

Parameters of oxidability of sunflower, corn, walnut, palm and palm kernel oils are defined with Tsepalov's graphical and DPPH methods. The influence of oil natural antioxidants and the degree of unsaturation of fatty acids on the rate of oxidation is shown. The methods can be used to predict oil oxidation stability during storage.

Keywords: oils, oxidation, Tsepalov's graphical method, kinetic parameters, DPPH method, antioxidant activity.

Стаття надійшла до редакції 12.01.15