

SECȚIA IV
ȘTIINȚE INGINEREȘTI ȘI CERCETĂRI APLICATIVE/
ENGINEERING SCIENCES AND APPLIED RESEARCH/
ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

STUDIUL INFLUENȚEI INHIBITORILOR ASUPRA PROCESELOR DE
OXIDABILITATE A ULEIURILOR VEGETALE

THE STUDY OF THE INFLUENCE OF INHIBITORS ON THE OXIDATION
PROCESSES OF VEGETABLE OILS

Iurie SUBOTIN

Universitatea Tehnică a Moldovei
E-mail: iurie.subotin@ftmia.utm.md

Raisa DRUȚĂ

Universitatea Tehnică a Moldovei
E-mail: raisa.druta@ftmia.utm.md

Rodica STURZA

Universitatea Tehnică a Moldovei
E-mail: rodica.sturza@chim.utm.md

Ecaterina COVACI

Universitatea Tehnică a Moldovei
E-mail: ecaterina.covaci@enl.utm.md

Violina POPOVICI

Universitatea Tehnică a Moldovei
E-mail: violina.popovici@toap.utm.md

Rezumat. În lucrare s-a studiat eficacitatea utilizării unor antioxidanți - α -tocoferol, *n*-octil galat, acid *L*-ascorbic 6-palmitat și extractul de matcha (ceai verde) ca inhibitori ai oxidării uleiului din semințelor de struguri, nuci, germeni de porumb. Oxidarea a fost studiată în regim forțat timp de 700 ore prin adăugarea de peroxid de hidrogen și ioni Cu^{2+} . Progresul oxidării lipidelor a fost evaluat prin determinarea valorii indicelui de peroxidului și conținutului de diene și triene conjugate. Au fost identificate o serie de produse secundare ale oxidării lipidelor: hexanal, octanal și hidroxi-nonadienal. Rezultatele acestui studiu arată că probele de ulei cu adaos de antioxidanți prezintă valori de oxidare considerabil mai mici în comparație cu proba de control. Mai eficientă s-a constatat acțiunea acidului *L*-ascorbic 6-palmitat și *n*-octil galat, concentrațiile optime - 0,1%.

Cuvinte cheie: uleiuri vegetale, oxidare, antioxidanți

Abstract: The present study aimed to investigate the effectiveness of the use of some antioxidants - α -tocopherol, *n*-octyl gallate, *L*-ascorbic acid 6-palmitate and matcha extract (green tea) as inhibitors of grape seeds, walnuts and corn germ oils oxidation. The oxidation was studied in forced regime during 700 h, by the addition of hydrogen peroxide and Cu^{2+} ions. The progress of lipid oxidation was evaluated by measuring the peroxide value and conjugated dienes and trienes. A series of secondary products of the lipid oxidation were identified: hexanal, octanal and hydroxy-nonadienal. The results of this study show that the oil samples with the addition of antioxidants show considerably lower oxidation values compared to the control sample. More effective was the action of *L*-ascorbic acid 6-palmitate and *n*-octyl gallate, the optimum concentrations - 0,1%.

Key words: vegetable oils, oxidation, antioxidants

Introducere

Oxidarea lipidelor este una dintre cauzele majore ale scăderii valorii nutriționale a alimentelor, limitând durata lor de valabilitate. Acest fenomen duce la modificarea calității nutriționale și organoleptice ale uleiurilor. Consumul de metaboliți ai degradării oxidative a lipidelor este cauza stresului oxidativ al corpului uman și, respectiv, provoacă condiții morbide multiple pentru sănătatea umană [1].

Stabilitatea oxidativă a uleiurilor este rezistența la oxidare în timpul procesării și depozitării [2]. Rezistența la oxidare poate fi exprimată ca perioada de timp necesară pentru a atinge punctul critic de oxidare, indiferent dacă este vorba de o schimbare senzorială sau de o accelerare bruscă a procesului oxidativ [3]. Stabilitatea oxidativă este un indicator important pentru a determina calitatea uleiului și durata de valabilitate deoarece compușii cu masă moleculară scăzută sunt produși în timpul oxidării.

Ratele de formare a radicalului lipidic peroxidic și a hidroperoxidului depind doar de disponibilitatea oxigenului și temperatură [4]. În rezultatul interacțiunii radicalilor, se produc specii non-radicale și reacția se oprește. Produsele primare de oxidare, hidroperoxizii lipidici, sunt relativ stabile la temperatura camerei și în absența metalelor. Cu toate acestea, în prezența metalelor sau la temperaturi ridicate, acestea sunt ușor descompuse cu formarea ulterioară a aldehydelor, cetonelor, acizilor, esterilor, alcoolilor și hidrocarburilor cu lanț scurt [5].

În alimente oxidarea lipidelor reprezintă un proces, format dintr-un șir de etape, fiind influențat de structura chimică a acizilor grași nesaturați, starea fizică a lor (lichidă sau solidă), prezența sub o formă sau alta a unor prooxidanți anorganici sau organici, pre-existența unor radicali liberi, existența lipazelor, cantitatea și calitatea substanțelor cu rol antioxidant din aliment, modul de procesare a alimentului, modul de ambalare și condițiile de depozitare a alimentului [6].

Stoparea sau inhibarea procesului de autooxidare a lipidelor are o importanță practică pentru diferite aplicații industriale, în special pentru industria alimentară. Una din cele mai raționale metode de inhibiție a autooxidării lipidelor este folosirea unor antioxidanți naturali accesibili, relativ ieftini, care nu afectează sănătatea potențialilor consumatori.

În scopul studierii și selectării unor antioxidanți potențial utili pentru inhibiția procesului oxidativ a fost necesar de a studia mecanismul și cinetica procesului de autooxidare a lipidelor, influența diferitor factori asupra cineticii procesului, atât în lipsa cât și în prezența unor antioxidanți.

Aferent prezentei lucrării, mecanismul procesului de oxidare a lipidelor a fost subiect al unor studii anterioare în cadrul Universității Tehnice din Moldova cât și în alte laboratoare dotate în acest scop [1, 7-14].

Metodologia cercetării

Obiectul studiului este reprezentat de uleiuri nerafinate din semințe de struguri, nucă și germeni de porumb, obținute prin presare la rece. Probele de uleiuri analizate cu masa 50 gr, ce conțineau diferite concentrații de H_2O_2 și Cu^{2+} au fost plasate în vase închise ermetic. Periodic, timp de 700 ore au fost extrase probe cu masa de 1 gr pentru determinarea indicelui de peroxid (IP), care a fost determinat prin metoda clasică în conformitate cu cerințele - GOST 26593-85- Uleiuri vegetale [15].

Diene și triene conjugate

La etapele inițiale ale reacției radicalice autocatalitice de oxidare a lipidelor se modifică poziția legăturilor duble a acizilor grași nesaturați. Aceste modificări pot fi investigate prin metoda spectrofotometrică, măsurându-se absorbanta la 232 și 270 nm, astfel monitorizând formarea dienelor și trienelor conjugate în acizii grași polinesaturați [16].

Pentru dozarea dienelor și trienelor conjugate sau cântărit 0,01 gr. de probă analizată și transferată într-un balon cotată de 25 ml. Proba a fost adusă până la cotă cu hexan și minuțios agitată. S-a determinat absorbanta soluției la 232 și 270 nm utilizând cuva de cuarț 10x10 mm. Conținutul dienelor și trienelor conjugate a fost calculate conform ecuațiilor:

$$C_{CD/CT} = A_{232/270} / (\epsilon \cdot l)$$
$$CD/CT = (C_{CD/CT} \cdot (2,5 \cdot 10^4)) / W$$

$C_{CD/CT}$ – concentrația diene/ triene, mmol/ml;

W – masa probei analizate, gr;

l – lățimea cuvei, 1 cm;

$A_{232/270}$ – densitatea optică a soluției analizate la 232/270 nm.;

ε – coeficientul molar de absorbție a hidropiroxidului acidului linoleic ($2,5 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$).

Studierea procesul de inhibare a oxidării uleiurilor a fost realizat sub acțiunea următorilor inhibitori: α -tocoferolul, galatul de *n*-octil, 6-palmitatul acidului L-ascorbic și extractul de matcha (ceai verde).

Calculul indicelui de peroxid

Valoarea IP a fost determinată prin metoda volumetrică [16], iar rezultatele obținute au fost calculate după formula

$$IP = \frac{(V_1 - V_2) \cdot N_{\text{tios.}} \cdot 1000}{m}, \quad \left[\text{mEq} \frac{\text{O}_2}{\text{kg}} \right]$$

unde:

V_1 – volum 0,01 N soluție de tiosulfat de sodiu consumat pentru titrarea substanței analizate, ml;

V_2 – cantitatea de soluție de tiosulfat de sodiu 0,01 N utilizată pentru titrare în experimentul de control, ml;

m – masa probei analizate, g;

N_{tios} – normalitatea soluției de tiosulfat de sodiu (0,01 N).

Dozarea compușilor volatili ai oxidării lipidelor

Determinarea conținutului compușilor volatili rezultați la oxidarea lipidelor a fost efectuată prin metoda GC/MS, utilizând Shimadzu GCMS-QP2010 Plus. Pentru injectarea probelor a fost utilizat sistemul automat tridimensional AOC-5000 (GCMS-QP2010 PlusxAOC-5000).

Rezultate

A fost analizat procesul de oxidare accelerată a uleiurilor în prezența peroxidului de hidrogen și a ionilor de cupru.

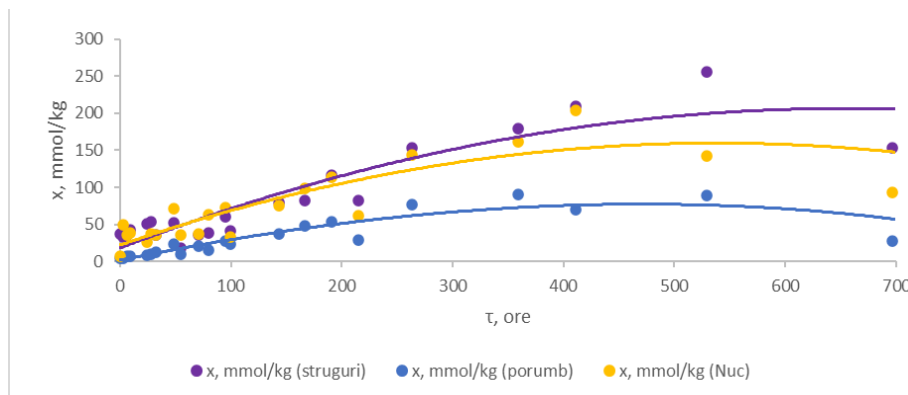


Figura 1. Variația valorii indicelui de peroxid în funcție de timp

(Ulei din semințe de struguri + $[\text{H}_2\text{O}_2]=10^{-3} \text{ mol/l}$, $[\text{Cu}^{2+}]=10^{-3} \text{ mol/l}$)

(Ulei de porumb + $[\text{H}_2\text{O}_2]=10^{-3} \text{ mol/l}$, $[\text{Cu}^{2+}]=10^{-3} \text{ mol/l}$)

(Ulei din miez de nuc + $[\text{H}_2\text{O}_2]=10^{-3} \text{ mol/l}$, $[\text{Cu}^{2+}]=10^{-3} \text{ mol/l}$)

S-a constatat că procesul de oxidare forțată a uleiurilor din semințe de struguri, nucă și germeni de porumb se epuizează în aproximativ 600 de ore.

Cea mai probabilă cale de descompunere a hidroperoxidului este un clivaj homolitic între oxigen și legătura de oxigen, în care sunt produși radicali alcoxi și hidroxi. Radicalul alcoxi suferă apoi β -scisiunea homolitică a legăturii carbon-carbon și produce compuși oxo și radicali alchil saturați sau nesaturați. După rearanjarea electronică, adăugarea radicalului hidroxil sau transferul de hidrogen, ultimii produși secundari de oxidare a lipidelor sunt în mare parte aldehide cu greutate moleculară mică, cetone, alcoolii și hidrocarburi cu lanț scurt etc.

Majoritatea produșilor de descompunere ai hidroperoxizilor sunt responsabili pentru aroma râncedă din uleiul comestibil oxidat. Compușii carbonil alifatici au o influență mai mare asupra aromei uleiului oxidat datorită valorilor lor scăzute.

Prin metode spectrofotometrice de analiză au fost identificați produși ai oxidării lipidice în uleiurile vegetale: hexanal, octanal și hidroxi-nonadienal. A fost urmărită intensitatea formării acestor compuși pe parcursul procesului de oxidare forțată pentru o perioadă de 48 ore.

Tabelul 1. Caracteristica aldehydelor determinate

Aldehyde	Masa molară, g/mol	Formula chimică	Calea de formare	RT
Hexanal	100	C ₆ H ₁₂ O	Trunchiere	2.89
Octenal	128	C ₈ H ₁₆ O	Trunchiere	4.65
Hydroxy-nonadienal	154	C ₉ H ₁₄ O ₂	Trunchiere, adiția OH	3.13

Oxidarea lipidelor, în special a uleiurilor care au în structura lor acizi grași nesaturați conduc la formarea unui șir larg de compuși aldehydici. În acest context, în continuare au fost studiați produșii de reacție ai oxidării uleiului vegetal și anume: hexanal, octenal și hidroxi-nonenal.

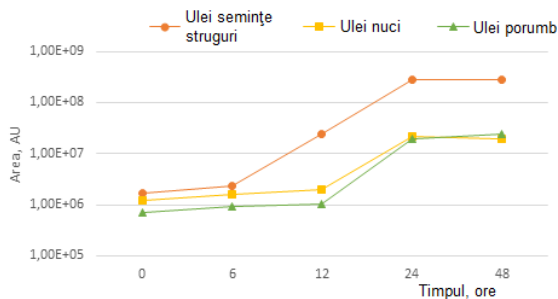


Figura 2. Dinamica formării hexanalului pentru uleiurile vegetale oxidate

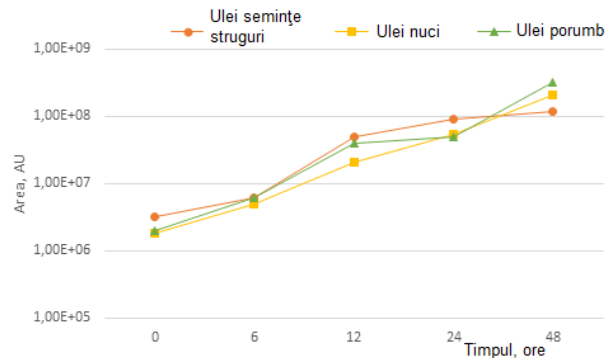


Figura 3. Dinamica formării octenalului pentru uleiurile vegetale oxidate

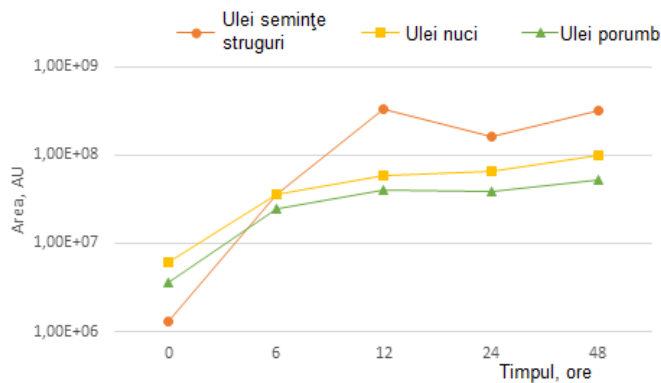


Figura 4. Dinamica formării hidroxi-nonanalului pentru uleiurile vegetale oxidate

Analizând dinamica formării hexanalului pe parcursul oxidării uleiurilor observăm că hexanalul format în urma oxidării lipidelor din uleiul de struguri are o evoluție constantă pe tot parcursul celor 48 ore. Valorile inițiale la 0 ore de oxidare valorile sunt considerabil mai joase, care pe parcursul a 24 ore atestă o creștere esențială a conținutului de hexanal format atât pentru uleiul de struguri cât și pentru uleiul de nuci și porumb (Fig. 2).

Analizând evoluția formării octenalului pe parcursul oxidării lipidelor din uleiurile vegetale oxidate, observăm că la 0h de oxidare conținutul de octenal format este mai mare pentru uleiul de struguri în comparație cu celelate probe. După 48 ore de oxidare se atestă o creștere esențială a cantității de octenal pentru lipidele din uleiurile de nuci și porumb și o valoare neesențială mai mică pentru uleiul de struguri (Fig. 3).

Compusul hidroxi-nonenal reprezintă un produs mutagenic și citotoxic al oxidării acidului linoleic. Evoluția acestui compus format în urma oxidării lipidelor din uleiuri atestă o creștere stabilă pe toată perioada de expunere la temperaturi ridicate. Creșterea conținutului de HNE în cazul lipidelor din uleiul de struguri atestă o evoluție considerabilă în primele 12 ore de expunere la temperaturi ridicate. După 24 ore de expunere se atestă o scădere ușoară a conținutului de HNE ceea ce poate fi explicat prin degradarea ulterioară a aldehidelor și formarea unor noi compuși datorită temperaturilor ridicate (Fig. 4).

Pentru monitorizarea procesului de oxidare a lipidelor s-a determinat absorbanta uleiurilor cercetate la 232/270 nm (Fig. 5).

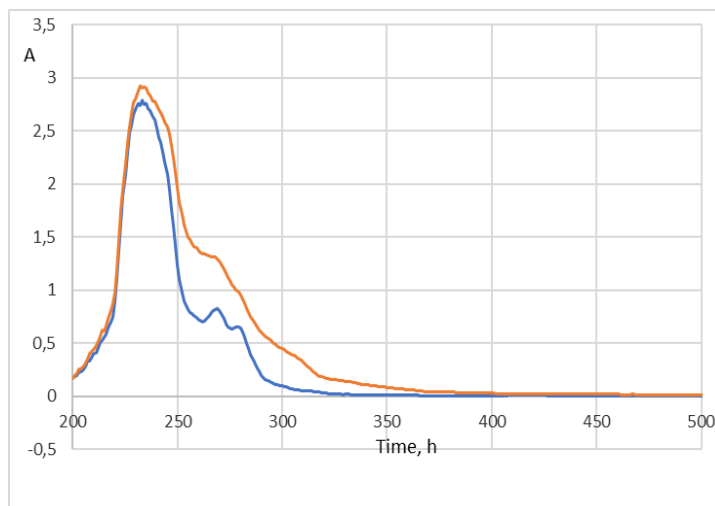


Figura 5. Dependența absorbantei UV uleiului de semințe oxidat/ neoxidat în funcție de lungimea de undă (solvent – hexan, ---unoxidized oil, ---oxidized oil)

Creșterea valorilor absorbantei la aceste lungimi de undă demonstrează oxidarea accelerată a uleiurilor, ce se exprimă prin acumularea cantității de diene și triene conjugate (Tab. 2). Astfel, în uleiul din semințe de struguri conținutul de diene conjugate a crescut de 2,26 ori, iar cel al trienelor conjugate de 1,58 ori; În uleiul de miez de nucă valorile respective s-au majorat de 3,63 și 1,53 ori. Cele mai pronunțate modificări au fost înregistrate în uleiul din germeni de porumb, unde conținutul de diene conjugate a crescut de 4,52, iar cel de triene de 80,0 ori.

Tabelul 2. Conținutul dienelor și trienelor conjugate în uleiurile oxidate și neoxidate din semințe de struguri, nucă și germeni de porumb

	Ulei din semințe de struguri		Ulei din miez de nucă		Ulei din germeni de porumb	
Diene conjugate	proba „0”, mmol/ml	46,25	proba „0”, mmol/ml	24,88	proba „0”, mmol/ml	15,41
	proba oxidată, mmol/ml	104,85	proba oxidată, mmol/ml	90,48	proba oxidată, mmol/ml	69,98
Triene conjugate	proba „0”, mmol/ml	39,8	proba „0”, mmol/ml	8,77	proba „0”, mmol/ml	0,179
	proba oxidată, mmol/ml	62,87	proba oxidată, mmol/ml	13,4	proba oxidată, mmol/ml	14,32

La studierea procesului de inhibare a oxidării uleiurilor s-a analizat acțiunea α -tocoferolului, n-octyl galatului, L-ascorbic acid 6-palmitate și extractului de matcha (ceai verde).

În rezultatul analizei acțiunii antioxidanților asupra uleiurilor cercetate s-a stabilit, că cei mai eficienți inhibitori al oxidării sunt n-octil galatul și 6-palmitatul acidului L-ascorbic. O acțiune mai puțin evidențiată s-a depistat la α -tocoferol și extractul de matcha (ceai verde) (Fig. 6).

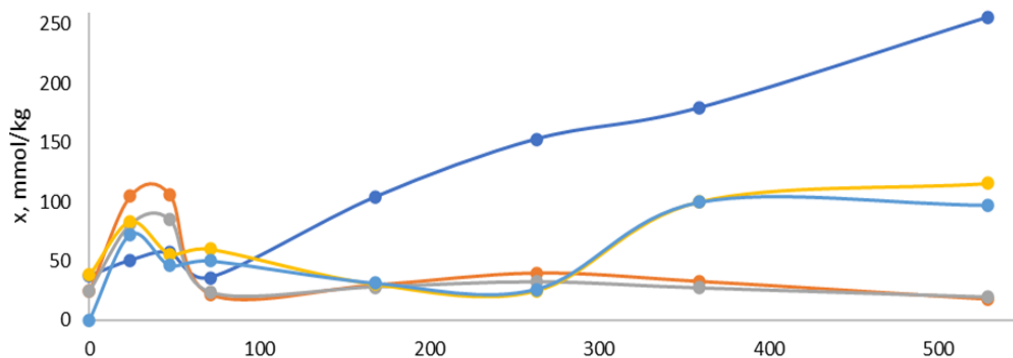


Figura 6. Oxidarea uleiului de struguri în prezența H₂O₂ și antioxidanților: 6-palmitatul acidului L-ascorbic (0,1%); galat de n-octil (0,1%); α-tocoferol (1%); extract de matcha (1%).

(—●— oil + [H₂O₂]=10⁻³ mol/l; —●— oil + [H₂O₂]=10⁻³ mol/l + LAAP; —●— oil + [H₂O₂]=10⁻³ mol/l + Matcha; —●— oil + [H₂O₂]=10⁻³ mol/l + OcGA; —●— oil + [H₂O₂]=10⁻³ mol/l + α-tocopherol)

Concluzii

S-a constatat că probele de ulei cu adaos de antioxidanți atestă valori considerabil mai scăzute comparativ cu proba de ulei oxidat, ceea ce se explică prin încetinirea procesului de formare a produșilor oxidării lipidice: peroxizi și hidroperoxizi.

Capacitatea antioxidanților (acizi fenolici, carotenoide, vitamine) de a preveni oxidarea lipidelor este legată, fără îndoială, de caracteristicile lor structurale, în special de numărul de grupe funcționale cu eficacitate mare. Grupările OH sunt considerate substituenți cu capacitate mare de donare de electroni. Pe lângă număr, poziția pe inelele fenolice, precum și legăturile de hidrogen intramoleculare joacă un rol important în performanța lor antioxidantă [17].

Acknowledgements. The research was funded in the framework of State Project 20.80009.500727 "Physico-chemical mechanisms of redox processes with electron transfer involved in vital, technological and environmental systems".

Referințe bibliografice

- Choe E., Min. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. J. Food Sci. 70(9), 2005. P. 142-159. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb08329.x>
- Yin H., Xu L., Porter N.A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. Chem. Rev. 111(10), 2011. P. 5944–5972. <http://dx.doi.org/10.1021/cr200084z>
- Blair I. A. Lipid hydroperoxide-mediated DNA damage. Exp. Gerontol. 36(9), 2011. P. 1473-1481. [http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5565\(01\)00133-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0531-5565(01)00133-4)
- Maszewska M., Florowska A., Dłużewska E., Wroniak M., Marciniak-Lukasiak K., Żbikowska A. Oxidative Stability of Selected Edible Oils. Molecules. 23(7), 2018. P.1746. doi:10.3390/molecules23071746
- Sturza R., Druță R., Covaci E., Duca G., Subotin Iu.. Mechanisms of sunflower oil transforming into forced thermal oxidation processes. Journal of Engineering Science, vol. XXVII (3), 2020. P. 238-251. doi: 10.5281/zenodo.3949716.
- Guillen M., Cabo N. Fourier transform infrared spectra data versus anisidine values to determine oxidative stability of edible oil. Food Chemistry 77(4), 2020. P. 503-510. doi: 10.1016/S0308-8146(01)00371-5
- Ayala, A., Muñoz, M. F., Argüelles, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxidative medicine and cellular longevity, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Repetto M., Semprine J., Boveris A. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination, Lipid Peroxidation, Angel Catala, IntechOpen, 2012. doi: 10.5772/45943.
- Ahmed M., Pickova J., Ahmad T., Liaquat M. Oxidation of lipids in foods. Sarhad Journal of Agriculture, 32(3), 2016. P. 230-238.
- <http://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2016.32.3.230.238>

11. Fereidoon S., Ying Z. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chem. Soc. Rev.*, 39, 2020. P. 4067-4079. <https://doi.org/10.1039/B922183M>.
12. Hajeyah A., Griffiths W., Wang Y. The Biosynthesis of Enzymatically Oxidized Lipids. *Front. Endocrinol.*, 19 November 2020. | <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.591819>.
13. Ravi S., Won J., Joon G., Un H. A practical review on photooxidation of crude oil: Laboratory lamp setup and factors affecting it. *Water Research* 68(3), 2015. doi:10.1016/j.watres.2014.10.012.
14. Sami G., Budilarto E., Afaf K. The New Paradigm for Lipid Oxidation and Insights to Microencapsulation of Omega-3 Fatty Acids. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Volume 16, Issue 6, 2017. P. 1206-1218. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12300>.
15. Vegetable oils. Method for measurement of peroxide value. GOST 26593-85.
16. Wrolstad R., Acree T., Decker E. Penner M. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry// Measurement of Primary Lipid Oxidation Products*, 2001. doi:10.1002/0471142913.fad0201s00
17. Uzunova G., Perifanova-Nemska M., Stojanova M., Gandev S. Chemical composition of walnut oil from fruits on different years old branches. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 21(3), 2015. P. 494-497.