

JOANNA BRYŚ, ELIZA GRUCZYŃSKA, BOLESŁAW KOWALSKI,
KATARZYNA TARNOWSKA

PRZEESTRYFIKOWANIE MIESZANIN TŁUSZCZU MLECZNEGO I OLEJU RZEPAKOWEGO

Streszczenie

W pracy badano zmiany właściwości fizycznych i chemicznych mieszanin tłuszczu mlecznego z olejem rzepakowym zachodzące w wyniku przeestryfikowania. Przeestryfikowanie prowadzono w obecności preparatu enzymatycznego Novozym 435 przez 2 i 8 h w temp. 60°C. Mieszaniny fizyczne przeestryfikowywano również chemicznie w obecności metanolanu sodu, jako katalizatora, w temp. 60°C przez 0,5 i 1,5 h. W mieszaninach przed i po przeestryfikowaniu oznaczano liczbę kwasową, zawartość frakcji polarnej, temperaturę mięknięcia, zawartość fazy stałej oraz skład kwasów tłuszczowych.

W wyniku przeestryfikowania stwierdzono wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej – wyższy w mieszaninach przeestryfikowanych chemicznie. Produkty przeestryfikowania mieszaniny zawierającej 25% tłuszczu mlecznego charakteryzowały się niższą temperaturą mięknięcia oraz zawartością fazy stałej, natomiast produkty przeestryfikowania mieszaniny zawierającej 75% tłuszczu mlecznego charakteryzowały się wyższą temperaturą mięknięcia w odniesieniu do mieszanin fizycznych. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy poszczególne pozycje w triacyloglicerolach było, tak jak oczekiwano, bliskie statystycznemu. Dobierając odpowiednio warunki prowadzenia procesu można uzyskać tłuszcze o różnych zastosowaniach technologicznych.

Słowa kluczowe: przeestryfikowanie, tłuszcz mleczny, olej rzepakowy.

Wprowadzenie

Tłuszcze to jedno z najbardziej skoncentrowanych źródeł energii w naszym pożywieniu. Obok funkcji energetycznych pełnią one w organizmie ważną rolę strukturalną i ochronną. Oprócz tego są źródłem i nośnikiem wielu substancji biologicznie czynnych, w tym witamin A, D, E, K oraz niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych [3]. Zastosowanie tłuszczów naturalnych, ze względu na ich właściwości i powszechną dostępność, jest różnorodne. Tłuszcze pozyskiwane wprost z surowców roślinnych bądź zwierzęcych nie zawsze spełniają oczekiwania konsumentów, toteż często konieczna jest ich modyfikacja, mająca na celu poprawę ich jakości i funkcjonalności.

Jednym ze sposobów modyfikacji właściwości fizycznych i chemicznych tłuszczów jest przeestryfikowanie [17, 18]. Przeestryfikowanie powoduje zmianę rozkładu kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach, w wyniku czego powstają tłuszcze zmodyfikowane o pożądanym zakresie temperatury topnienia, zawartości fazy stałej oraz właściwościach krystalizacyjnych [7, 9]. W wyniku przeestryfikowania zmienia się struktura i skład triacylogliceroli, ale nie zmienia się naturalna budowa występujących w nich kwasów tłuszczowych, co powoduje, że cenne biologicznie aktywne kwasy tłuszczowe pozostają nienaruszone [5, 9].

W zależności od użytego katalizatora wyróżnia się dwa typy przeestryfikowania: chemiczne i enzymatyczne. Najczęściej stosowanym katalizatorem przeestryfikowania chemicznego jest metanolan sodu, natomiast przeestryfikowanie enzymatyczne prowadzone jest w obecności lipaz o różnej specyficzności działania [11].

Masło to jeden z podstawowych tłuszczów konsumpcyjnych. Jednak w ostatnich dwóch dekadach jego światowa konsumpcja spadła m.in. ze względu na ograniczone właściwości plastyczne [10]. Funkcjonalność tłuszczu mlecznego, jego wartość zdrowotną można polepszyć poprzez mieszanie go z olejami roślinnymi, a następnie poddawanie mieszanin przeestryfikowaniu [10]. Dobierając odpowiednio skład mieszaniny reakcyjnej oraz warunki reakcji można uzyskać nowe tłuszcze o programowanych właściwościach fizycznych i chemicznych [9].

Celem pracy było zbadanie zmian właściwości fizycznych i chemicznych mieszanin tłuszczu mlecznego z olejem rzepakowym w wyniku przeestryfikowań: chemicznego i enzymatycznego.

Materiał i metody badań

Przedmiotem badań były mieszaniny tłuszczu mlecznego i oleju rzepakowego, w których tłuszcz mleczny stanowił 25, 50 i 75% (m/m) mieszaniny. Mieszaniny przeestryfikowywano enzymatycznie w temp. 60°C przez 2 i 8 godz. w obecności preparatu enzymatycznego Novozym 435, zawierającego lipazę z *Candida antarctica*, immobilizowaną na makroporowatej żywicy akrylowej. Preparat był dozowany na poziomie 8% względem masy tłuszczu. Mieszaniny fizyczne przeestryfikowywano również chemicznie w temp. 60°C przez 0,5 i 1,5 h w obecności metanolanu sodu dozowanego w ilości 1% w odniesieniu do masy tłuszczu.

W mieszaninach przed i po przeestryfikowaniu oznaczano liczbę kwasową metodą miareczkową [13] oraz zawartość frakcji polarnej metodą chromatografii kolumnowej [12]. We frakcjach triacylogliceroli wyizolowanych z mieszanin fizycznych i produktów ich przeestryfikowania oznaczano temperaturę mięknięcia metodą kapilary otwartej [14] oraz zawartość fazy stałej metodą pulsacyjnego jądrowego rezonansu magnetycznego [15]. Określano również skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej (GLC) [16] oraz ich rozmieszczenie w pozycjach *sn*-2 i *sn*-1,3 triacylogliceroli metodą Brockerhoffa [2].

Wyniki i dyskusja

Przeestryfikowanie tłuszczów ma na celu modyfikację ich właściwości fizycznych i chemicznych. Głównym produktem reakcji jest frakcja triacylogliceroli. Po przeestryfikowaniu obok frakcji triacylogliceroli pojawiają się również pewne ilości wolnych kwasów tłuszczowych, diacylogliceroli i monoacylogliceroli, stanowiących frakcję polarną. Zwiększona zawartość frakcji nietriacyloglicerolowej może obniżać odporność tłuszczu na utlenianie, a także jest przyczyną strat substancji tłuszczowej [8]. Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych w surowcach, mieszaninach fizycznych oraz w produktach ich przeestryfikowania (tab. 1) została obliczona na podstawie liczb kwasowych oraz wyników oznaczeń GLC. Bezwzględna różnica pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń wolnych kwasów tłuszczowych nie przekraczała 3% wartości średniej tych wyników, co jest zgodne z Polską Normą [13]. W mieszaninach fizycznych zwiększenie zawartości tłuszczu mlecznego powoduje wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych. Przeestryfikowanie spowodowało dalszy wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych – największy w mieszaninach przeestryfikowanych chemicznie przez 1,5 h, a najmniejszy w mieszaninach przeestryfikowanych enzymatycznie przez 2 h. Wydłużanie czasu reakcji powoduje wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w produktach przeestryfikowania. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku zawartości frakcji polarnej w produktach przeestryfikowania (tab. 1). Najmniej frakcji polarnej zawierały mieszaniny przeestryfikowane enzymatycznie przez 2 h, natomiast najwięcej – mieszaniny przeestryfikowane chemicznie przez 1,5 h. W przypadku oznaczeń zawartości związków polarnych bezwzględne różnice pomiędzy wynikami dwóch równoległych oznaczeń nie były większe niż 1%. Na podstawie zawartości wolnych kwasów tłuszczowych oraz frakcji polarnej obliczano zawartość niepełnych acylogliceroli (tab. 1). Produkty przeestryfikowania chemicznego wykazywały większą zawartość frakcji niepełnych acylogliceroli niż produkty przeestryfikowania enzymatycznego. Prawdopodobnie jest to związane z różnicami występującymi w mechanizmie przeestryfikowań: chemicznego i enzymatycznego. W pierwszym etapie przeestryfikowania chemicznego tworzy się bowiem aktywny katalizator – diacyloglicerolan sodu. Po zakończeniu przeestryfikowania katalizator ten zostaje rozłożony pod wpływem wody, powstają diacyloglicerole, a nieorganiczne produkty uboczne są usuwane wraz z fazą wodną [4].

Jednym z parametrów określających przydatność użytkową tłuszczu jest jego konsystencja. Konsystencja tłuszczu zależy m.in. od składu triacylogliceroli występujących w tłuszczu oraz od ich formy krystalicznej [6]. Najbardziej rozpowszechnionym wskaźnikiem konsystencji tłuszczów jest temperatura mięknięcia. Wykonywano dwa równoległe oznaczenia temperatury mięknięcia. Bezwzględne różnice pomiędzy wynikami nie przekraczały 0,5°C. Analizując wartości tego parametru (rys. 1) w mieszaninach fizycznych stwierdzono, że zwiększanie zawartości tłuszczu mlecznego w mieszaninie powoduje wzrost temperatury mięknięcia.

Zawartości wolnych kwasów tłuszczowych (FFA), frakcji polarnej (PF) i frakcji niepełnych acylogliceroli (MAG+DAG) w tłuszczu mlecznym (MF), oleju rzepakowym (RSO) oraz w ich mieszaninach przed i po przeestryfikowaniu.

The concentration of free fatty acids (FFA) of a polar fraction (PF) and of mono- and diacylglycerols (MAG+DAG) in milkfat (MF), rapeseed oil (RSO), as well as in their mixtures prior to and after the interesterification process.

Surowce i mieszaniny nieprzeestryfikowane Raw fats and their mixtures before the interesterification process	FFA [%]	PF [%]	MAG+DAG [%]
RSO	0,1	1,6	1,5
MF	0,2	5,3	5,1
RSO + MF (3:1)	0,1	1,9	1,8
RSO + MF (1:1)	0,1	3,8	3,6
RSO + MF (1:3)	0,2	3,9	3,7
Mieszaniny przeestryfikowane chemicznie / Fat mixtures after the chemical interesterification process			
RSO + MF (3:1); Czas / Time – 0,5h	2,0	10,7	8,8
RSO + MF (1:1); Czas / Time – 0,5h	1,8	9,4	7,6
RSO + MF (1:3); Czas / Time – 0,5h	2,2	11,3	9,1
RSO + MF (3:1); Czas / Time – 1,5h	2,6	13,1	10,5
RSO + MF (1:1); Czas / Time – 1,5h	2,4	12,5	10,1
RSO + MF (1:3); Czas / Time – 1,5h	2,7	12,3	9,7
Mieszaniny przeestryfikowane enzymatycznie / Fat mixtures after the enzymatic interesterification process			
RSO + MF (3:1); Czas / Time – 2h	1,7	9,1	7,4
RSO + MF (1:1); Czas / Time – 2h	1,6	7,7	6,1
RSO + MF (1:3); Czas / Time – 2h	1,5	8,0	6,5
RSO + MF (3:1); Czas / Time – 8h	2,1	8,9	6,8
RSO + MF (1:1); Czas / Time – 8h	2,3	8,8	6,5
RSO + MF (1:3); Czas / Time – 8h	2,0	9,1	7,1

Temperatury mięknięcia produktów przeestryfikowania zależały przede wszystkim od składu mieszanin wyjściowych. W mieszaninach zawierających 25 i 50% tłuszczu mlecznego obserwowano spadek temperatur mięknięcia, natomiast w mieszaninie zawierającej 75% tłuszczu mlecznego obserwowano wzrost temperatury mięknięcia po przeestryfikowaniu. Innym wskaźnikiem konsystencji tłuszczu jest zawartość fazy stałej (rys. 2). Wykonywano dwa równoległe oznaczenia zawartości fazy stałej. Bezwzględne różnice pomiędzy wynikami nie przekraczały wartości sugerowanych przez Polską Normę [15]. Produkty przeestryfikowania mieszaniny zawierającej 25% tłuszczu mlecznego miały mniejszą zawartość fazy stałej, natomiast produkty przeestryfikowania enzymatycznego mieszaniny zawierającej 75% tłuszczu mlecznego charakteryzowały się większą zawartością fazy stałej w porównaniu z mieszaniną fizyczną. W mieszaninie zawierającej 75% tłuszczu mlecznego, po

Rys. 2. Zawartość fazy stałej w funkcji temperatury w triacyloglicerolach mieszanin tłuszczu mlecznego (MF) z olejem rzepakowym (RSO) przed i po przeestryfikowaniu.

Fig. 2. The solid fat content profiles as a function of temperature in triacylglycerols of milkfat (MF) + rapeseed oil (RSO) mixtures before and after the interesterification process.

W badanych układach przed i po przeestryfikowaniu oznaczano skład kwasów tłuszczowych (tab. 2). W oleju rzepakowym kwasem występującym w przeważającej ilości jest kwas oleinowy. Obok kwasu oleinowego w znacznej ilości jest także kwas linolowy. W tłuszczu mlecznym w największej ilości występują kwasy palmitynowy oraz oleinowy. Tłuszcz mleczny charakteryzuje się ponadto obecnością sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA), które wywierają w organizmie wiele korzystnych efektów. Największą wagę przypisuje się ich antymutagennemu i antykancerogennemu działaniu [1]. Przeestryfikowanie nie powoduje zmian składu kwasów tłuszczowych. W trakcie przeestryfikowania zmienia się natomiast rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w pozycjach *sn*-2 i *sn*-1,3 triacylogliceroli. Zarówno metanolan sodu, jak i Novozym 435 są katalizatorami wykazującymi pozycyjną niespecyficzną, zatem rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy pozycje *sn*-2 i *sn*-1,3 triacylogliceroli mieszanin przeestryfikowanych jest bliskie statystycznemu (rys. 3), które należy rozumieć jako rozmieszczenie danego kwasu tłuszczowego (po 33,3%) pomiędzy trzy równocenne pozycje w cząsteczkach. Zmiana struktury triacylogliceroli powoduje zmianę konsystencji i właściwości krystalizacyjnych tłuszczu.

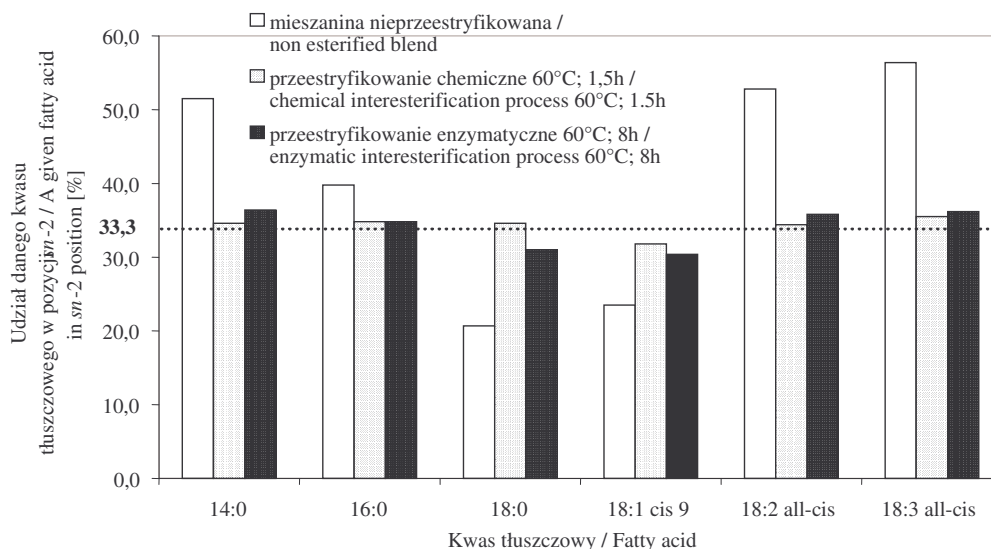
Tabela 2

Skład głównych kwasów tłuszczowych surowców wyjściowych oraz badanych mieszanin.
The fatty acid compositions of fats under investigation.

Kwas tłuszczowy Fatty acid C n:m	Zawartość / Content [%]				
	Tłuszcz mleczny Milkfat (MF)	Olej rzepakowy Rapeseed oil (RSO)	MF + RSO (1:3)	MF + RSO (1:1)	MF + RSO (3:1)
C 4:0	2,6		0,6	1,1	1,8
C 6:0	1,7		0,4	0,7	1,1
C 8:0	1,1		0,3	0,5	0,8
C 10:0	2,4		0,6	1,3	1,6
C 12:0	3,0		0,8	1,6	2,3
C 14:0	10,9		2,7	5,4	8,3
C 16:0	29,9	4,3	10,7	16,8	24,8
C 18:0	10,6	1,8	3,3	4,9	7,3
C 18:1 (9-cis)	20,9	60,0	50,4	42,2	31,9
C 18:2 (all-cis)	1,3	17,2	15,2	10,7	6,3
C 18:3 (all-cis)	0,7	8,8	6,4	4,4	2,8
CLA	1,2		0,1	0,2	0,4
C 20:1	0,3	1,7	1,3	1,0	0,6
C 22:1 (13-cis)		0,9	0,7	0,5	0,3

n – liczba atomów węgla / number of carbon atoms;

m – liczba podwójnych wiązań / number of double bonds.



Rys. 3. Udział ważniejszych kwasów tłuszczowych w pozycji *sn-2* triacylogliceroli mieszaniny o składzie wagowym 50% MF + 50% RSO oraz w wybranych produktach jej chemicznego i enzymatycznego przeestryfikowania.

Fig. 3. The percentage of some major fatty acids in the *sn-2* position of triacylglycerols in a 50% MF + 50% RSO mixture and in some selected products obtained from the chemical and enzymatic interesterification process of this mixture.

Wnioski

1. Przeestryfikowanie spowodowało wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej w badanych mieszaninach.
2. Największą zawartością wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej charakteryzowały się produkty przeestryfikowania w obecności metanolanu sodu.
3. Temperatury mięknięcia produktów przeestryfikowania zależały przede wszystkim od składu mieszanin wyjściowych.
4. Obniżenie temperatur mięknięcia i zawartości fazy stałej można uzyskać poddając przeestryfikowaniu mieszaninę zawierającą 25% tłuszczu mlecznego.
5. Wzrost temperatury mięknięcia i zawartości fazy stałej można otrzymać przeestryfikując enzymatycznie mieszaninę tłuszczu mlecznego i oleju rzepakowego o składzie wagowym 3:1.
6. Przeestryfikowanie nie powoduje zmiany w sumarycznym składzie kwasów tłuszczowych badanych mieszanin tłuszczów.
7. Finalne produkty reakcji o identycznym składzie kwasów tłuszczowych, lecz o różnym ich rozmieszczeniu wewnątrz i pomiędzy cząsteczkami triacylogliceroli, różnią się pod względem badanych właściwości fizycznych i chemicznych. Dobierając odpowiednie warunki procesu można uzyskać tłuszcze o różnym zastosowaniu technologicznym.

Literatura

- [1] Bartnikowska E., Obiedziński M. W., Grześkiewicz S.: Rola i znaczenie żywieniowe sprzężonych dienów kwasu linolowego. *Przem. Spoż.*, 1999, **7 (53)**, 16-18, 42.
- [2] Brockerhoff.: A stereospecific analysis of triglycerides. *J. Lipid Res.*, 1965, **6**, 10-15.
- [3] Drozdowski B.: Lipidy. W: *Chemia żywności – pod red. Z. E. Sikorskiego*. WNT, Warszawa 2000, s. 184-227, 249-264.
- [4] Gruczyńska E., Kowalski B., Tarnowska K., Dziurosz J., Kowalska M., Bekas W.: Modification of beef tallow and its mixtures with rapeseed oil by chemical interesterification. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 2002, **79**, 391-394.
- [5] Haumann B. F.: Tools: hydrogenation, interesterification. *INFORM*, 1994, **5 (6)**, 668-678.
- [6] Jakubowski A.: Przeestryfikowanie jako metoda modyfikacji konsystencji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 1990, **28 (2)**, 21-29.
- [7] Ledóchowska E., Datta I.: Enzymatyczne i chemiczne przeestryfikowanie mieszaniny oleju rzepakowego i stearyny palmowej. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30 (4)**, 169-183.
- [8] Ledóchowska E., Datta I.: Wpływ frakcji nietriacyloglicerolowej na stabilność oksydacyjną tłuszczu przeestryfikowanego chemicznie i enzymatycznie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **18 (1)**, 15-23.
- [9] Ledóchowska E.: Zastosowanie enzymatycznego przeestryfikowania do modyfikacji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30 (2)**, 43-48.
- [10] Marangoni A. G., Rousseau D.: Chemical and enzymatic modification of butterfat and butterfat – canola oil blends. *Food Res. Inter.*, 1998, **31 (8)**, 595-599.
- [11] Marangoni A. G., Rousseau D.: Engineering triacylglycerols: the role of interesterification. *Trends Food Sci. Technol.*, 1995, **6**, 329-335.
- [12] PN-EN ISO 8420: 1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości związków polarnych.
- [13] PN-ISO 660: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
- [14] PN-ISO 6321: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie punktu topnienia w kapilarze otwartej (punkt płynięcia).
- [15] PN-EN ISO 8292: 1999. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości fazy stałej. Metoda pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego.
- [16] PN-EN ISO 5509: 2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [17] Rozenaal A.: Interesterification of oils and fats. *INFORM*, 1992, **3 (11)**, 1232-1237.
- [18] Sreenivasan B.: Interesterification of fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1978, **55**, 796-805.

THE INTERESTERIFICATION PROCESS OF MILKFAT AND RAPESEED OIL MIXTURES

S u m m a r y

The objective of this study was to investigate changes in the physical and chemical properties of milkfat + rapeseed oil mixtures after the interesterification process performed. The fats interesterification process was carried out 2 and 8 hours, at a temperature of 60°C, in the presence of an enzymatic preparation 'Novozym 435'. The chemical interesterification reactions were also performed in the presence of sodium methoxide used as a catalyst, at a temperature of 60°C; the reaction durations were 0.5 and 1.5 hours. The following parameters were determined in the mixtures prior to and after the interesterification process accomplished: fat acid values, polar fraction content, slip melting points, solid fat content, and fatty acids compositions.

It was stated that the interesterification process accomplished resulted in the increase in both the free fat acids content and polar fraction content, and this increase was higher in chemically interesterified

mixtures. Products of the chemical interesterification process of a mixture containing 25% milkfat showed lower slip melting temperatures and contained a solid fat fraction while products of the mixture interesterification process with the 75% milkfat content had a higher melting temperature with regard to physical mixtures. As expected, the distribution of fatty acids among the *sn*-2 and *sn*-1,3 positions of triacylglycerols of interesterified fats appeared to be close to the statistical distribution. By selecting and adjusting the conditions under which any interstrification process is conducted, it is possible to obtain final process products that are various fats of a variety of technological applications.

Key words: interesterification, milkfat, rapeseed oil ☒