

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

STABILNOŚĆ TERMICZNA KOMPLEKSÓW INKLUZYJNYCH KWASU LINOLOWEGO Z β -CYKLODEKSTRYNĄ

Streszczenie

Kwas linolowy, jako kwas wielonienasycony, jest szczególnie narażony na niekorzystne przemiany związane z utlenianiem. W wyniku procesów oksydacyjnych powstaje wiele szkodliwych dla zdrowia substancji, tj. pierwotne i wtórne produkty reakcji utleniania. Niektóre z nich są odpowiedzialne za powstawanie zjełczalego, niepożądanego zapachu i smaku żywności. Istnieje zatem potrzeba poszukiwania skutecznych metod poprawiających stabilność oksydacyjną polienowych kwasów tłuszczowych i jednocześnie korzystnie wpływających na jakość spożywanych tłuszczów.

W pracy wykorzystano zdolność β -cyklodekstryny do tworzenia kompleksów typu „gospodarz-gość” z innymi związkami. Badania potwierdziły możliwość utworzenia trwałych kompleksów inkluzyjnych pomiędzy kwasem linolowym a β -cyklodekstryną. Uzyskane wyniki dot. próbek przetrzymywanych w wysokiej temperaturze wykazały znaczną poprawę stabilności kwasu linolowego w postaci kompleksu z β -cyklodekstryną w porównaniu z kwasem linolowym niezwiązanym w kompleks, w przypadku którego zaobserwowano znaczne ilości produktów degradacji badanego kwasu polienowego.

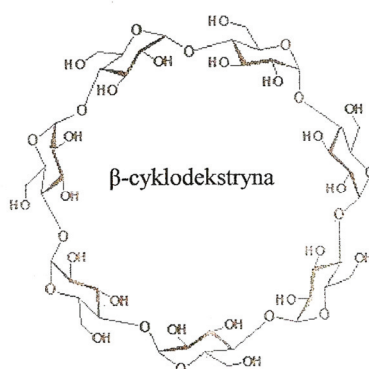
Słowa kluczowe: : wielonienasycone kwasy tłuszczowe, β -cyklodekstryna, kompleksy inkluzyjne, stabilność termooksydacyjna

Wprowadzenie

Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) – kwas linolowy ($n-6$) i α -linolenowy ($n-3$) [1, 17] – odgrywają istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. Ze względu na obecność w swojej strukturze wiązań podwójnych łatwo ulegają niekorzystnym, ze względów zdrowotnych i żywieniowych, reakcjom utleniania, tracąc niejednokrotnie właściwości biologiczne kwasów niezbędnych [4, 5].

Wysoka podatność kwasów nienasyconych na procesy utleniania stanowi wyzwanie do poszukiwania skutecznych metod poprawiających ich stabilność oksyda-

tywną, np. poprzez odizolowanie od niekorzystnego działania czynników zewnętrznych. Możliwości takie stwarzają cyklodekstryny. Cyklodekstryny mają kształt toroidalnych pierścieni, których wewnętrzna średnica wynosi: α -cyklodekstryny – 4,5 Å, β -cyklodekstryny – 7,0 Å, γ -cyklodekstryny – 8,5 Å. Dzięki różnym rozmiarom wnęk cyklodekstrynę cechuje selektywność kompleksowania. Pierwszorzędowe, związane z atomem C-6 glukozy grupy hydroksylowe znajdują się po zewnętrznej stronie pierścienia, a drugorzędowe grupy hydroksylowe, połączone z atomem C-2 i C-3 glukozy umiejscowione są po wewnętrznej stronie torusa (rys. 1). Istotną konsekwencją takiej budowy jest niepolarny charakter wnętrza pierścienia, wynikający z obecności hydrofobowych grup C-H oraz glikozydowych atomów tlenu. Warstwa zewnętrzna jest natomiast hydrofilowa, co powoduje dobrą rozpuszczalność cyklodekstryn w wodzie [3]. Charakterystyczny układ cząsteczki pozwala im na tworzenie kompleksów inkluzyjnych z wieloma jonami oraz związkami w celu ochrony i stabilizacji substancji czułych na działanie wilgoci, światła, temperatury lub tlenu [3, 12]. Proces ten może zachodzić zarówno w roztworze wodnym, jak i w fazie stałej. Umożliwia to powstawanie zróżnicowanych w składzie kompleksów o szerokim zastosowaniu w wielu dziedzinach, m.in. w przemyśle spożywczym [2, 7, 8, 10, 11, 14]. Wytworzenie kompleksu inkluzyjnego pomiędzy β -cyklodekstryną a związkami niestabilnymi, zawierającymi składniki lotne i podatne na utlenianie, np. związki siarkoorganiczne, aldehydy, nienasycone kwasy tłuszczowe, barwniki, aromaty znacznie poprawia stabilność produktu [3, 6, 13, 15].



Rys. 1. Budowa cząsteczki β -cyklodekstryny.

Fig.1. Structure of β -cyclodextrin.

Cyklodekstryny są związkami nietoksycznymi, niewchłanianymi w górnym odcinku przewodu pokarmowego, a do ich całkowitego rozkładu dochodzi w okrężnicy. Istotne jest również, że β -cyklodekstryna od 1998 r. znajduje się na liście produktów

GRAS (ang. generally recognized as safe) jako środek całkowicie bezpieczny w stosowaniu [16].

Celem pracy było wykorzystanie zdolności β -cyklodekstryny do utworzenia kompleksu typu „gospodarz-gość” z kwasem linolowym o wyższej odporności na utlenianie.

Material i metody badań

Przedmiotem badań był kwas *Z,Z*-oktadeka-9,12-dienowy (linolowy 18:2) (Sigma, o czystości $\geq 99\%$) oraz jego kompleks inkluzyjny z β -cyklodekstryną.

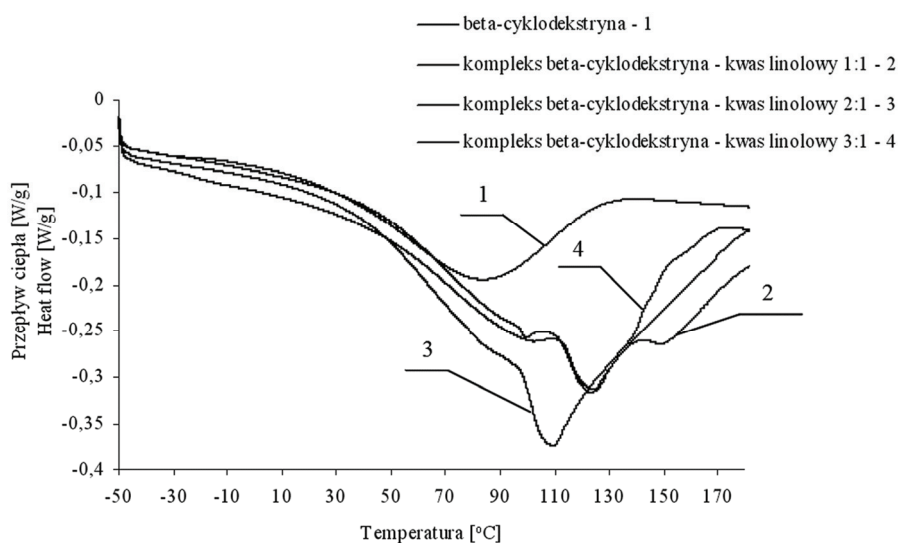
Badania obejmowały syntezę kompleksów inkluzyjnych kwasu linolowego z β -cyklodekstryną w stosunku molowym kwas linolowy/ β -cyklodekstryna – 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3. W tym celu odważano odpowiednio 1136 mg, 2279 mg, 3408 mg β -cyklodekstryny, rozpuszczano w wodzie o temp. 50 °C, a następnie dodawano 280 mg kwasu linolowego rozpuszczonego w minimalnej ilości etanolu. Roztwór mieszano 30 min w temp. 50 °C, stopniowo oziębano do temp. 20 °C, a następnie przetrzymano przez 24 h w chłodziarce w celu zwiększenia wydajności. Powstały osad odsączano, przemywano niewielką ilością etanolu i suszono próżniowo. Powstanie kompleksów potwierdzano na podstawie kształtu krzywych DSC. Analizę termiczną uzyskanych połączeń prowadzono przy użyciu skaningowego kalorymetru różnicowego DSC, Q200, TA Instruments, ogrzewając próbki w zakresie temperatury od -50 do 200 °C z szybkością 5°C/min. Pomiarów wykonywano przy użyciu azotu. W wyniku pomiarów uzyskano termogramy przepływu ciepła [W/g] w zależności od temperatury [°C].

W celu zbadania stabilności powstałych połączeń inkluzyjnych, kwas linolowy oraz kompleksy kwas linolowy/ β -cyklodekstryna przetrzymywano w temp. 100 °C przez 2 h w suszarce, w obecności powietrza oraz pod normalnym ciśnieniem. Próbkę wyodrębniano z β -cyklodekstryny poprzez ekstrakcję heksanem. Zawartość kwasu linolowego oraz produktów jego utlenienia w ogrzewanych próbkach oznaczano z wykorzystaniem techniki GC MS po uprzednim przeprowadzeniu w estry metylowe według PN-EN ISO 5509 [9]. Użyto aparatu GC MS firmy Agilent Technologies 7890A/5975C, wyposażonego w dozownik split/splitless oraz kolumnę typu HP-5MS. Rozdział chromatograficzny prowadzono w rampie temperaturowym kolumny w zakresie 60 - 260 °C. Wyniki analizy jakościowej uzyskano na podstawie baz danych widm masowych NIST i Wiley. Wyniki analizy ilościowej przedstawiono jako procent pola powierzchni wszystkich pików na chromatogramie.

Wyniki i dyskusja

W celu poprawy stabilności oksydacyjnej kwasu linolowego wykorzystano zdolność β -cyklodekstryny do tworzenia kompleksów typu „gospodarz-gość” z innymi związkami.

Otrzymano kompleksy inkluzyjne w stosunku molowym kwas linolowy/ β -cyklodekstryna – 1 : 1; 1 : 2; 1 : 3 z wydajnością odpowiednio 70, 74 i 68 %. Powstanie kompleksów potwierdzono na podstawie kształtu krzywych DSC (rys. 2).



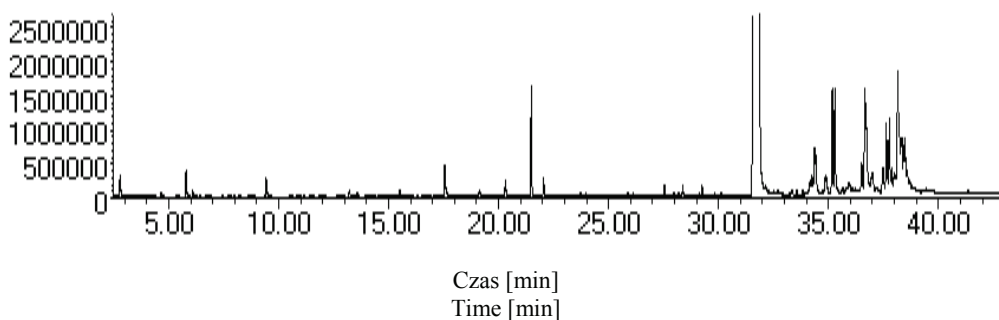
Rys. 2. Krzywe DSC β -cyklodekstryny i jej kompleksów z kwasem linolowym.

Fig. 2. DSC curves of β -cyclodextrin and its complexes with linoleic acid.

Wyniki uzyskane w przypadku próbek przetrzymywanych w wysokiej temperaturze wykazały znaczną poprawę stabilności kwasu linolowego w postaci kompleksu z β -cyklodekstryną w porównaniu z kwasem linolowym niezwiązanym w kompleks, w przypadku którego zaobserwowano znaczne ilości produktów degradacji badanego kwasu polienowego (rys. 3, tab. 1). Szczególną trwałością wyróżniał się kompleks kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 2 (rys. 4 i 5).

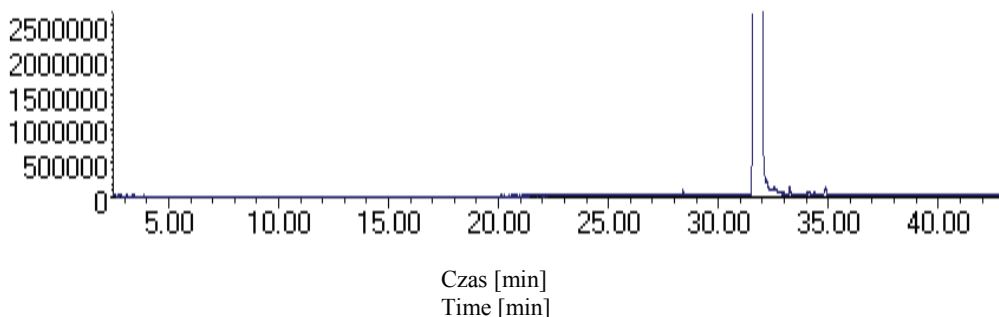
Zawartość kwasu linolowego (C 18:2) w próbce wyizolowanej z β -cyklodekstryny (z kompleksu 1:2) wynosiła 91,51 %, stwierdzono również obecność kwasu oleinowego (C 18:1), kwasu heksadecanowego (C 16:0) oraz Z,E,E-oktadeka-9,11,13-trienowego i jego izomerów geometrycznych. W próbkach wyizolowanych z kompleksów kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 1 oraz 1 : 3 stwierdzono odpowiednio 70,09 i 75,90 % zawartość kwasu linolowego (rys. 5). Analiza chromatograficzna próbek wykazała obecność kwasu oleinowego, kwasu heksadecanowego, oktadekano-

wego oraz Z,E,E-oktadeka-9,11,13-trienowego i jego izomerów. W wyniku utleniania kwasu linolowego powstały również produkty cyklizacji (pochodne furanu, cyklopentanu).



Rys. 3. Chromatogram obrazujący produkty rozkładu kwasu linolowego (niezwiązanego w kompleks z β -cyklodekstryną).

Fig. 3. Chromatogram representing products of linoleic acid degradation (non-encapsulated in β -cyclodextrin).



Rys. 4. Chromatogram obrazujący produkty rozkładu kwasu linolowego (w postaci kompleksu z β -cyklodekstryną 1:2).

Fig. 4. Chromatogram representing products of linoleic acid degradation (in the form of a complex with β -cyclodextrin 1:2).

W próbce niezwiązanej w kompleks zidentyfikowano znacznie mniejszą zawartość kwasu linolowego (67,84 %) (rys. 5), szczególnie w porównaniu z charakteryzującym się najwyższą stabilnością kompleksem kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 2, oraz liczne produkty powstałe w wyniku reakcji utleniania (tab. 1, rys. 3 i 5). Niekorzystna jest obecność niskocząsteczkowych substancji lotnych, przede wszystkim krótkołańcuchowych aldehydów oraz powstających z nich wskutek utleniania kwasów odpowiedzialnych za powstawanie zjełczałego, niepożądanego zapachu i smaku żyw-

ności. Istotne jest, że związki te cechuje szczególnie niski próg wrażliwości sensorycznej [1, 5]. Badania wykazały wyższą zawartość tych związków w próbkach niezwiązanych w kompleks z β -cyklodekstryną (4,47 %) w porównaniu z próbkami wyizolowanymi z kompleksów kwas linolowy/ β -cyklodekstryna. Szczególnie małą zawartością krótkołańcuchowych aldehydów oraz powstających z nich wskutek utleniania kwasów (1,95 %) charakteryzuje się próbka o najwyższej stabilności – kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 2 (rys. 5).

Tabela 1

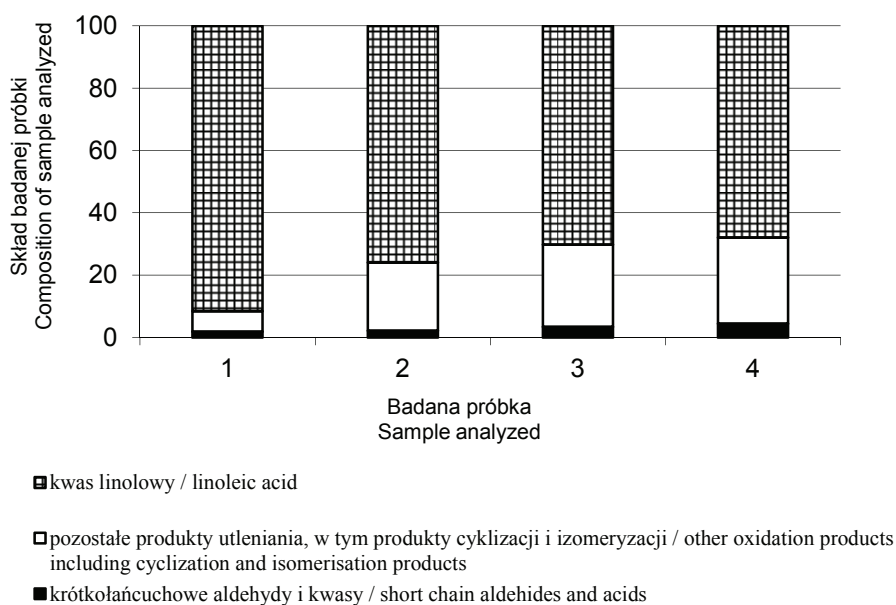
Główne produkty rozkładu kwasu linolowego przetrzymywanego w $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (niezwiązanego w kompleks z β -cyklodekstryną).

Major degradation products of linoleic acid kept at a temperature of $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (non-encapsulated in β -cyclodextrin).

Nr No	Produkt Product	Zawartość [%] Content [%]	Czas retencji [min] Retention time [min.]
1.	kwas heksanowy (ester metylowy) hexanoic acid (methyl ester)	0,07	4,60
2.	heksanal (acetal dimetylowy) hexanal (dimethyl acetal)	0,41	5,79
3.	kwas oktanowy (ester metylowy) octanoic acid (methyl ester)	0,38	9,43
4.	aldehyd malonowy (diacetal dimetylowy) malonaldehyde (bis (dimethyl acetal))	0,10	13,22
5.	heptanal (acetal dimetylowy) heptanal (dimethyl acetal)	0,12	15,52
6.	kwas 9-oksononanowy (ester metylowy) 9-oxononanoic acid (methyl ester)	0,74	17,55
7.	kwas 6,6 – dimetoksyoktanowy (ester metylowy) 6,6-dimetoxyoctanoic acid (methyl ester)	0,13	19,13
8.	kwas nonanediowy (ester dimetylowy) nonanedioic acid (dimethyl ester)	0,34	20,31
9.	nonanal (acetal dimetylowy) nonanal (dimethyl acetal)	1,87	21,49
10.	5,5-dimetoksyntanal 5,5-dimetoxyntanal	0,11	23,72
11.	oktanal (acetal dimetylowy) octanal (dimethyl acetal)	0,20	27,55
12.	kwas heksadekanowy (ester metylowy) hexadecanoic acid (methyl ester)	0,17	28,38

c.d. Tab. 1

13.	kwasy Z,Z-oktadeka-9,12-dienowy (linolowy) (ester metylowy) 9,12-octadecadienoic acid (Z, Z) (linoleic) (methyl ester)	67,84	31,83
14.	kwasy oktadekanowy (ester metylowy) octadecanoic acid (methyl ester)	0,13	32,16
15.	kwasy Z,E,E-oktadeka-9,11,13-trienowy (ester metylowy) 9,11,13-octadecatrienoic acid (Z,E,E) (methyl ester)	0,72	34,90
16.	inne produkty utleniania, w tym produkty cyklizacji, izomeryzacji other oxidation products, including cyclization and isomerisation products	26,84	35,17-38,69



Rys. 5. Skład badanej próbki (1 – próbka wyizolowana z kompleksu kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 2; 2 – próbka wyizolowana z kompleksu kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 3; 3 – próbka wyizolowana z kompleksu kwas linolowy/ β -cyklodekstryna 1 : 1; 4 – próbka niezwiązana w kompleks z β -cyklodekstryną).

Fig. 5. Composition of sample analyzed (1 - sample isolated from the linoleic acid – β -cyclodextrin complex 1:2; 2 - sample isolated from the linoleic acid – β -cyclodextrin complex 1:3; 3 - sample isolated from the linoleic acid – β -cyclodextrin complex 1:1; 4 – non-encapsulated linoleic acid).

Wnioski

1. Badania potwierdziły możliwość utworzenia trwałych kompleksów inkluzyjnych pomiędzy kwasem linolowym a β -cyklodekstryną.
2. Uzyskane wyniki próbek przetrzymywanych w wysokiej temperaturze wykazały znacznie wyższą stabilność termiczną kwasu linolowego w postaci kompleksu z β -cyklodekstryną w porównaniu z kwasem linolowym niezwiązanym w kompleks, w przypadku którego zaobserwowano znaczne ilości produktów degradacji badanego kwasu polienowego.
3. Uzyskane wyniki świadczą o istotnym ograniczeniu procesów utleniania dzięki zastosowaniu inkluzji molekularnej nienasyconego kwasu we wnęce cyklodekstryny.
4. Uzyskane wyniki pozwolą na wykorzystanie β -cyklodekstryny do inkludowania innych, wybranych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz olejów roślinnych bogatych w te kwasy.

Literatura

- [1] Drozdowski B.: Lipidy. Charakterystyka ogólna tłuszczów jadalnych. W: Chemia żywności, sacharydy, lipidy, białka – pod red. Z.E. Sikorskiego. Wyd. V. WNT, Warszawa 2007.
- [2] Duchene D., Bochot A., Yu S-C., Pepin C., Seiller M.: Cyclodextrins and emulsions. *Int. J. Pharm.* 2003, **266**, 85-90.
- [3] Górską A., Kozłowska M.: Zastosowanie cyklodekstryn w przemyśle spożywczym. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2008, **2**, 80-84.
- [4] 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.
- [5] Kanner J.: Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.*, 1994, **36**, 169-189.
- [6] Liu X.D., Furuta T., Yoshii H., Linko P., Coumans W.J.: Cyclodextrin encapsulation to prevent the loss of 1-mentol and its retention during drying. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 2000, **64**, 1608-1613.
- [7] Lucas-Abellan C., Fortea I, Lopez-Nicolas J.M., Nunez-Delicado E.: Cyclodextrin as resveratrol carrier system. *Food Chem.*, 2007, **104**, 39-44.
- [8] Martín Del Valle E.M.: Cyclodextrin and their uses: a review. *Proc. Biochem.*, 2004, **39**, 1033-1046.
- [9] PN-EN ISO 5509:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [10] Shaw P.E., Wilson C.W.: Debittering of citrus juices with cyclodextrin polymer. *J. Food Sci.*, 1983, **48**, 646-647.
- [11] Singh M., Sharma R., Banerjee U.C.: Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnol. Advances.* 2002, **20**, 341-359.
- [12] Szejtli J.: Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem. Rev.* 1998, **98**, 1743-1753.
- [13] Szejtli J., Sente L., Banky-Elod E.: Molecular encapsulation of volatile, easily oxidizable flavor substances by cyclodextrins. *Acta Chimica Sci. Hung.*, 1979, **101**, 27-46.

- [14] Szejtli J., Szente L.: Elimination of bitter, disgusting tastes of drugs and foods by cyclodextrin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2005, **61**, 115-125.
- [15] Szente L., Szejtli J.: Stabilization of flavours by cyclodextrins. *Chem. Soc. Symp. Series*. 1987, **370**, 148-158.
- [16] Szente L., Szejtli J.: Cyclodextrins as food ingredients. *Trends Food Technol.*, 2004, **15**, 137-142.
- [17] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991.

THERMAL STABILITY OF LINOLEIC ACID - β -CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEXES

S u m m a r y

Linoleic acid (LA) being an unsaturated fatty acid is particularly exposed to disadvantageous, oxidation-linked changes. As a result of oxidative processes, many detrimental substances, i.e. primary and secondary products of oxidation, are produced that have a harmful impact on health. Some of them are responsible for the rancid, undesirable smell and taste of food products. Therefore, it is necessary to search effective methods that improve the oxidative stability of polyunsaturated fatty acids, and, concurrently, positively impact the quality of eaten fats.

In this paper, the ability was utilized of β -cyclodextrin to form host-guest complexes with other compounds. The results of the research confirmed the possibility to form stable inclusion complexes between the linoleic acid and β -cyclodextrin. Regarding the samples kept at a high temperature, the results obtained showed a significant improvement of the stability of linoleic acid in the form of a complex with β -cyclodextrin compared to the non-encapsulated linoleic acid; in the case of the latter, considerable amounts of products were found that were formed during the degradation of polyene acid under analysis.

Key words: poliunsaturated fatty acids, β -cyclodextrin, inclusion complexes, thermo-oxidative stability

