

ELIZA GRUCZYŃSKA, KATARZYNA MACIASZEK

PRZEESTRYFIKOWANIE JAKO METODA MODYFIKACJI WŁAŚCIWOŚCI LIPIDÓW

Streszczenie

Mieszaninę oleju rzepakowego i łoju wołowego (1:1) przeestryfikowano w obecności biokatalizatorów – Lipozyme IM i Novozym 435 oraz katalizatora chemicznego – metanolanu sodu. Porównywano właściwości fizykochemiczne otrzymanych produktów. Przeestryfikowanie spowodowało wzrost zawartości składników polarnych i liczby kwasowej oraz obniżenie temperatury mięknięcia i zawartości fazy stałej. Największą zawartością frakcji polarnej charakteryzował się produkt przeestryfikowania chemicznego. Wartości liczb kwasowych wszystkich produktów reakcji były podobne. Najniższą temperaturę mięknięcia miał produkt przeestryfikowania chemicznego i produkt reakcji katalizowanej preparatem Novozym 435. Najlepsze właściwości fizykochemiczne miał produkt przeestryfikowania w obecności Novozym 435.

Wstęp

Przeestryfikowanie, obok uwodornienia i frakcjonowania, jest jedną z metod modyfikacji struktury i właściwości tłuszczów. Reakcja ta zachodzi w obecności katalizatorów chemicznych lub biologicznych. W wyniku przeestryfikowania zmienia się struktura triacylogliceroli, nie występują natomiast zmiany w budowie kwasów tłuszczowych, jak to ma miejsce w procesie uwodornienia. Przeestryfikowanie różnych naturalnych i modyfikowanych tłuszczów może być sposobem otrzymania tłuszczów, bez izomerów trans, wykorzystywanych do komponowania osnów margarynowych lub użytkowanych jako tłuszcze smaźalnicze [9, 10]. Proces ten stwarza możliwości uzyskania tłuszczów o programowanych właściwościach fizykochemicznych, tzn. o pożądanej temperaturze topnienia i zawartości fazy stałej [5].

Celem pracy było zbadanie wpływu reakcji chemicznego i enzymatycznego przeestryfikowania na właściwości fizykochemiczne mieszaniny łożu wołowego i oleju rzepakowego.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły niskoerukowy olej rzepakowy (Zakłady Tłuszczowe „Kruszwica” S.A.) oraz łój wołowy (Masarnia „Ratyński i synowie” s.c.) zmieszane w stosunku wagowym 1:1.

W procesie przeestryfikowania stosowano trzy rodzaje katalizatorów:

- immobilizowana lipaza z *Mucor miehei* o nazwie handlowej Lipozyme IM (Novo Nordisk, Dania), specyficzna w stosunku do wiązań estrowych w pozycji sn-1,3 triacylogliceroli; zawartość wody w enzymie wynosiła 3%,
- immobilizowana lipaza z *Candida antarctica* o nazwie handlowej Novozym 435 (Novo Nordisk, Dania), niespecyficzna względem wiązań estrowych w triacyloglicerolach; zawartość wody w enzymie wynosiła 2%,
- metanolan sodu (Merck, Niemcy).

Przeestryfikowanie chemiczne

Substraty reakcji osuszano pod zmniejszonym ciśnieniem i dodawano sproszkowany metanolan sodu w ilości 1%, w przeliczeniu na masę mieszaniny tłuszczowej. Czas trwania reakcji wynosił 1,5 godziny, a temperatura procesu 90°C. Reakcję przerywano przez dodanie gorącej wody zakwaszonej kwasem ortofosforowym w celu rozłożenia katalizatora. Przeestryfikowaną mieszaninę tłuszczową poddano ekstrakcji eterem dietylowym. Otrzymany produkt suszono bezwodnym siarczanem magnezu, a następnie oddestylowano rozpuszczalnik.

Przeestryfikowanie enzymatyczne

Substraty reakcji osuszano pod zmniejszonym ciśnieniem i dodawano enzym w ilości 8% w stosunku do mieszaniny tłuszczowej. Reakcja katalizowana preparatem Lipozyme IM trwała 8 godzin, a temperatura procesu wynosiła 60°C. Czas reakcji katalizowanej preparatem Novozym 435 wynosił 4 godziny, a temperatura procesu 80°C. Proces przerywano przez odsączenie enzymu od przeestryfikowanego tłuszczu. Po zbadaniu wpływu temperatury, czasu reakcji i stopnia uwodnienia katalizatora przedstawione wyżej warunki wykonywania reakcji uznano za optymalne.

Isolacja czystych triacylogliceroli metodą chromatografii kolumnowej

Oddzielenie triacylogliceroli od niepełnych acylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych wykonywano za pomocą chromatografii kolumnowej zgodnie z AOAC 1990 (metoda nr 982.27). Kolumnę chromatograficzną wypełniano żelom krzemion-

kowym (silica gel 60, 70–230 mesh, Merck) i наносzono produkty przeestryfikowania. Triacyloglicerole eluowano z kolumny za pomocą mieszaniny eteru naftowego i dietylowego (87:13), natomiast niepełne acyloglicerole i wolne kwasy tłuszczowe za pomocą eteru dietylowego.

W mieszaninie fizycznej oraz w produktach jej przeestryfikowania oznaczano: liczbę kwasową, zawartość składników polarnych, temperaturę mięknięcia oraz zawartość fazy stałej w funkcji temperatury.

Oznaczanie liczby kwasowej

Liczbę kwasową oznaczano metodą miareczkową wg PN-60/A-86921.

Oznaczanie zawartości składników polarnych

Zawartość składników polarnych oznaczano metodą chromatografii kolumnowej wg AOAC 1990 (metoda nr 982.27). Na kolumnę chromatograficzną wypełnioną żelalem krzemionkowym (silica gel 60, 70–230 mesh) наносzono produkty przeestryfikowania. Składniki polarne wymywano z kolumny za pomocą eteru dietylowego.

Oznaczanie temperatury mięknięcia

Temperaturę mięknięcia oznaczano we frakcji triacyloglicerolowej metodą kapilary otwartej wg PN-60/A-86919.

Oznaczanie zawartości fazy stałej

Zawartość fazy stałej w funkcji temperatury we frakcji triacyloglicerolowej badano metodą pulsacyjnego magnetycznego rezonansu jądrowego stosując aparat NMS 100 Minispec firmy Bruker. Oznaczenie to wykonano w laboratorium Zakładów Przemysłu Tłuszczowego w Warszawie.

Wyniki i dyskusja

W procesie przeestryfikowania zachodzą dwie przeciwstawne reakcje: hydroliza i estryfikacja [5, 9].

Analizując wartości liczb kwasowych otrzymanych produktów przeestryfikowania (tab. 1) stwierdzono, że produkt otrzymany przy użyciu katalizatora niespecyficznego pozycyjnie – Novozym 435 ma najmniejszą liczbę kwasową wynoszącą 5,5 mg KOH/g. Wyższymi wartościami liczb kwasowych charakteryzują się: produkt przeestryfikowania chemicznego – 6,5 mg KOH/g i produkt otrzymany przy użyciu katalizatora specyficznego pozycyjnie – Lipozyme IM, wynoszącą 6,4 mg KOH/g.

Proces hydrolizy powoduje, że w uzyskanych produktach obok triacylogliceroli znajdują się również pewne ilości składników polarnych, czyli wolnych kwasów tłuszczowych, diacylogliceroli i monoacylogliceroli [11]. Porównując udziały procentowe

frakcji polarnej w produktach przeestryfikowania (tab. 2) stwierdzono, że największą zawartością składników polarnych, wynoszącą 14,7% charakteryzuje się produkt przeestryfikowania chemicznego. Prawdopodobnie jest to spowodowane zastosowaniem dużej ilości metanolanu sodu. Poziom dozowania tego katalizatora stosowany przez wielu autorów mieści się w przedziale 0,2–1% [3, 7, 14, 15]. W pierwszym etapie reakcji formuje się aktywna postać katalizatora (diacyloglicerynian sodu) oraz powstają estry metylowe kwasów tłuszczowych [13]. Poprzez przerwanie reakcji wodą następuje rozkład katalizatora i tworzą się diacyloglicerole oraz wodorotlenek sodu.

Tabela 1

Porównanie wartości liczby kwasowej w mieszaninie wyjściowej i produktach przeestryfikowania.
The comparison of acid value in the initial mixture and interesterification products.

Rodzaj mieszaniny (The kind of mixture)	Liczba kwasowa (Acid value)
	mg KOH/g
Łój (Tallow)	0,9
Olej (Oil)	0,1
Mieszanina fizyczna (Initial mixture)	0,5
Produkt przeestryfikowania enzymatycznego (Lipozyme) (The product of enzymatic interesterification)	6,4
Produkt przeestryfikowania enzymatycznego (Novozym) (The product of enzymatic interesterification)	5,5
Produkt przeestryfikowania chemicznego (The product of chemical interesterification)	6,5

Najmniej składników polarnych zawiera produkt reakcji katalizowanej preparatem Novozym 435 (2,0%). Nieco większą zawartością frakcji nietriacyloglicerolowej charakteryzuje się produkt przeestryfikowania w obecności enzymu specyficznego (4,1%). W przypadku przeestryfikowania enzymatycznego zawartość składników polarnych jest ściśle związana z zawartością wody w początkowym układzie reakcyjnym [1, 2, 11, 12]. Wyższa zawartość frakcji polarnej w produkcie reakcji katalizowanej preparatem Lipozyme IM może być spowodowana większym stopniem uwodnienia katalizatora. Związane jest to z większą hydrolizą wiązań estrowych [6, 8].

Jednym z parametrów określających przydatność użytkową tłuszczów jest ich konsystencja. Najbardziej rozpowszechnionym wskaźnikiem konsystencji jest temperatura mięknięcia tłuszczu [4]. We frakcjach triacyloglicerolowych wyizolowanych z mieszanin preakcyjnych zaobserwowano obniżenie temperatury mięknięcia w porównaniu z mieszaniną wyjściową (tab. 3). Największe obniżenie temperatury mięk-

nięcia widoczne jest dla produktu przeestryfikowania chemicznego (spadek o 10°C). Podobnie wygląda produkt przeestryfikowania enzymatycznego w obecności biokatalizatora niespecyficznego. Najmniejsze obniżenie temperatury mięknięcia (spadek o 5°C) obserwujemy w przypadku frakcji triacyloglicerolowej wyizolowanej z produktu przeestryfikowania preparatem enzymu pozycyjnie specyficznego.

Tabela 2

Zawartość frakcji polarnej w mieszaninie wyjściowej i produktach przeestryfikowania.
Percentage of polar fraction in the initial mixture and interesterification products.

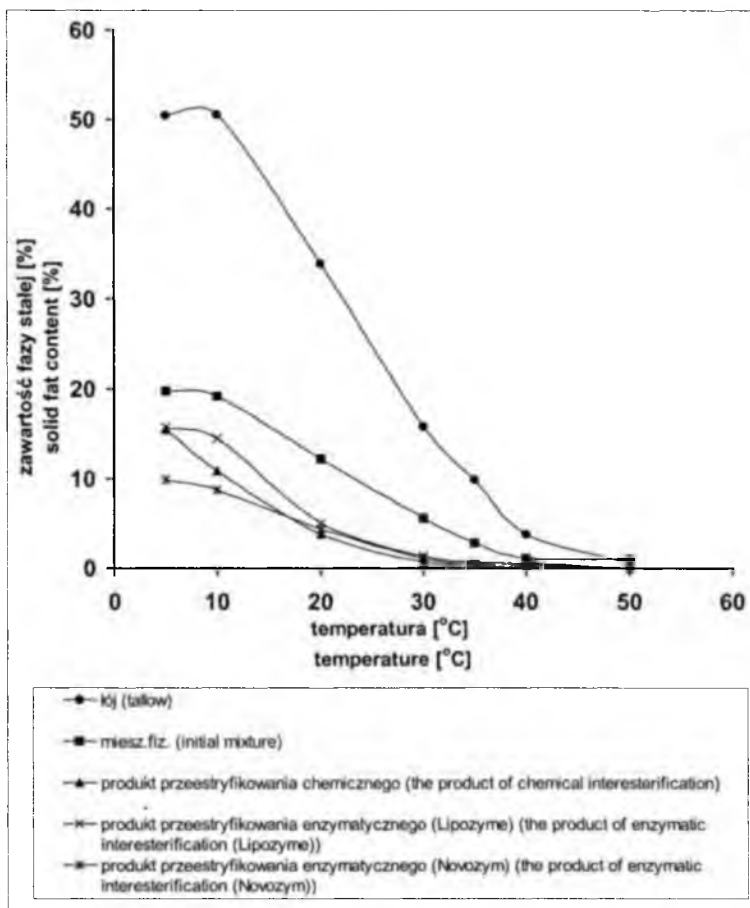
Rodzaj mieszaniny (The kind of mixture)	Frakcja polarna (Polar fraction)
	%
Łój (Tallow)	2,5
Olej (Oil)	0,6
Mieszanina fizyczna (Initial mixture)	1,5
Produkt przeestryfikowania enzymatycznego (Lipozyme) (The product of enzymatic interesterification)	4,1
Produkt przeestryfikowania enzymatycznego (Novozym) (The product of enzymatic interesterification)	2,0
Produkt przeestryfikowania chemicznego (The product of chemical interesterification)	14,7

Tabela 3

Temperatura mięknięcia mieszaniny wyjściowej i triacylogliceroli wyizolowanych z produktów reakcji.
Melting point of initial mixture and triacylglycerols isolated from reaction products.

Rodzaj mieszaniny (The kind of mixture)	Temp. mięknięcia (Melting point)
	°C
Łój (Tallow)	37,3
Mieszanina fizyczna (Initial mixture)	29,9
Produkt przeestryfikowania enzymatycznego (Lipozyme) (The product of enzymatic interesterification)	25,0
Produkt przeestryfikowania enzymatycznego (Novozym) (The product of enzymatic interesterification)	20,1
Produkt przeestryfikowania chemicznego (The product of chemical interesterification)	19,3

Przeestryfikowanie wpływa również na zawartość fazy stałej we frakcji niepolarniej wyizolowanej z mieszaniny poreakcyjnej. Analizując te zmiany w zakresie temperatur od 5 do 50°C (rys. 1) stwierdzono obniżenie zawartości fazy stałej we wszystkich produktach przeestryfikowania w porównaniu z mieszaniną wyjściową. W zakresie temperatur 5 - 20°C największe obniżenie zawartości fazy stałej, około 10%, obserwujemy, w produkcie przeestryfikowania w obecności preparatu Novozym 435. W przedziale temperatur od 20 do 50°C profile zawartości fazy stałej wszystkich produktów reakcji przeestryfikowania mają podobny przebieg. Spadek zawartości fazy stałej prawdopodobnie jest spowodowany zmniejszeniem stosunku wyżej topliwych triacylogliceroli do pozostałych w przeestryfikowanych mieszaninach.



Rys. 1. Zawartość fazy stałej w mieszaninie wyjściowej i frakcji triacyloglicerolowej wyizolowanej z produktów reakcji.

Fig. 1. Solid fat content in the initial mixture and triacylglycerols isolated from reaction products.

Podsumowanie

Podsumowując można stwierdzić, że zastosowanie różnych katalizatorów procesu przeestryfikowania pozwala uzyskać różne produkty końcowe. Przeestryfikowanie spowodowało wzrost zawartości składników polarnych i liczby kwasowej. Największą zawartością frakcji polarnej charakteryzował się produkt przeestryfikowania chemicznego. W produktach reakcji zachodzącej w obecności biokatalizatorów udział procentowy frakcji polarnej jest znacznie mniejszy. Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych we wszystkich otrzymanych produktach była porównywalna. We frakcji triacyloglicerolowej produktów przeestryfikowania zaobserwowano obniżenie temperatury mięknięcia oraz zawartości fazy stałej. Największe obniżenie temperatury mięknięcia w stosunku do mieszaniny wyjściowej wykazywał tłuszcz przeestryfikowany chemicznie oraz produkt reakcji katalizowanej enzymem niespecyficznym. Można stwierdzić, że najlepszymi właściwościami fizykochemicznymi charakteryzował się tłuszcz uzyskany w wyniku reakcji zachodzącej w obecności katalizatora niespecyficznego.

LITERATURA

- [1] Foglia T.A., Petruso K., Fearheller S.H.: Enzymatic interesterification of tallow-sunflower oil mixtures. *JAOCS*, **70**, 1993, 281.
- [2] Forssell p., Kervinen R., Lappi M., Liko P., Suortti T., Poutanen K.: Effect of enzymatic interesterification on the melting point of tallow-rapeseed oil (LEAR) mixture. *JAOCS*, **69**, 1992, 126.
- [3] Gavriilidou V., Boskou D.: Chemical interesterification of olive oil-tristearin blends for margarines. *International Journal of Food Science and Technology*, **26**, 1991, 451.
- [4] Jakubowski A.: Przeestryfikowanie jako metoda modyfikacji konsystencji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, **28**, 1990, 21.
- [5] Ledóchowska E.: Zastosowanie enzymatycznego przeestryfikowania do modyfikacji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, **30**, 1995, 43.
- [6] Ledóchowska E., Datta I.: Optimization of enzymatic interesterification of fats to increase the content of triacylglycerols in the reaction product. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, **7/48**, 1998, 683.
- [7] Lo Y.C., Handel A.P.: Physical and chemical properties of randomly interesterified blends of soybean oil and tallow for use as margarine oils. *JAOCS*, **60**, 1983, 815.
- [8] MacKenzie A.D., Stevenson D.E.: Modification of the nutritional properties of fats using lipase catalysed directed interesterification. *Biotechnology Letters*, **17**, 1995, 383.
- [9] Marangoni A.G., Rousseau D.: Engineering triacylglycerols: The role of interesterification. *Trends in Food Science and Technology*, **6**, 1995, 329.
- [10] Mohamed H.M.A., Bloomer S., Hammadi K.: Modification of fats by lipase interesterification I: Changes in glyceride structure. *Fat Sci. Technol.*, **11**, 1993, 428.
- [11] Quinlan P., Moore S.: Modification of triglycerides by lipases: process technology and its application to the production of nutritionally improved fats. *Inform*, **4**, 1993, 580.

- [12] Rousseau D., Marangoni A.G.: Tailoring the textural attributes of butter fat / canola oil blends via *Rhizopus* lipase-catalyzed interesterification. 1. Compositional modifications. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 1998, 2368.
- [13] Rozendaal A.: Interesterification of oil and fats. *Inform*, **3**, 1992, 1232.
- [14] Schmidt S., Hurtova S., Zemanovic J., Sekretar S., Simon P., Ainsworth P.: Preparation of modified fats from vegetable oil and fully hydrogenated vegetable oil by randomization with alkali catalysts. *Food Chemistry*, **55**, 1996, 343.
- [15] Sreenivasan B.: Interesterification of fats. *JAOCS*, **55**, 1978, 796.

INTERESTERIFICATION AS A METHOD OF MODIFICATION OF PROPERTIES OF LIPID

S u m m a r y

A mixture of low erucic acid rapeseed oil and beef tallow (1:1) has been used for interesterification in the presence of two biocatalysts – Lipozyme IM, Novozym 435 and chemical catalyst – sodium methoxide. The physico-chemical properties of interesterified fats have been compared. The increase of polar compounds content and acid value and the decrease of melting point and solid fat content have been observed. The product of chemical interesterification is characterized by the highest polar fraction content. The acid values of all the products are similar to one another. The triacylglycerol fraction isolated from the fat after chemical and Novozym 435 catalyzed interesterification are both characterized by the lowest melting point. ☒