

Lipidek avasodásának nyomon követésére alkalmas módszerek

Nagy Mária – Győri Zoltán – Borbélyné Varga Mária

Debreceni Egyetem, Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma,
Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézet
nagymaria@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Számos különböző módszer létezik a lipid oxidáció kimutatására az élelmiszerekben. A folyamat során az élelmiszer kémia-, fizikai- és organoleptikus tulajdonságai egyaránt változhatnak, melyek vizsgálatával megállapítható az oxidáció előrehaladottsága. Az élelmiszerekben és a biológiai rendszerekben végbemenő oxidáció kimutatására nincsenek egységes és standard módszerek. Az elérhető vizsgálatokat két csoportra bonthatjuk, melyek közül az első csoportba az elsődleges változásokat, a második csoportba a másodlagos változásokat kimutató vizsgálatok tartoznak.

Kulcsszavak: avasodás, lipid, olaj, NIR, peroxidáció

SUMMARY

There are various methods available for measurement of lipid oxidation in foods. Changes in chemical, physical, or organoleptic properties of fats and oils during oxidation may be monitored to assess the extent of lipid oxidation. However, there is no uniform and standard method for detecting all oxidative changes in all food systems. The available methods to monitor lipid oxidation in foods and biological systems may be divided into two groups. The first group measures primary oxidative changes and the second determines secondary changes that occur in each system

Keywords: rancidity, lipid, oil, NIR, peroxidation

BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A táplálkozástudomány és a táplálékok egészségügyi hatásának felderítése hosszú múltra tekint vissza, hiszen már Hippokratész is azt tanította „az vagy, amit eszel”, és már az ő gyógy módjában is főszerepet játszott a diéta és a tudatos táplálkozás.

Szerte a világon és hazánkban is egyre nagyobb jelentőséget kap az egészséges életmód, melynek két alappillére az egészséges táplálkozás és a rendszeres mozgás. Az egészséges táplálkozás egyik sarkalatos pontja a zsírfogyasztás. A táplálékaink zsíradékainak élettani hatása eltérő, és több tényező határozza meg. Állati eredetű zsíradékaink elsősorban telített és egyszerűen telítetlen zsírsavakat tartalmaznak, míg a növényi olajok nagyobb arányban egyszerűen és többszörösen telítetlen zsírsavakból épülnek fel. A telített zsírsavak fő szerepe az energiaszolgáltatás, míg a telítetleneknek csak egy része hasznosul erre a célra, a többi főként a sejtek felépítésében játszik meghatározó szerepet.

A lipidek jelentősége

„Lipideknek nevezzük azokat az élő szervezetben előforduló vegyületeket, amelyek apoláros zsíroldószerekkel kioldhatóak” (Tóth, 1984).

Ezek változatos kémiai felépítésű anyagok, a szervezetben betöltött biológiai funkciójuk alapján - többek között - raktározott „üzemanyagok”, a fehérjékkel közösen membránok alkotórészei, a sejtmembrán védőanyagai valamint az idegszövet alkotórészei (Csapó és Csapóné, 2003).

A tárolás során végbemenő folyamatok

A zsírok fogyasztása abban az esetben mondható egészségesnek, ha megfelelő mennyiségű, megfelelő zsírsavösszetételű és megfelelő minőségű zsírokat és olajokat alkalmazunk az étrendünkben. A felhasználni, elfogyasztani kívánt zsíradékok esetében azonban figyelniünk kell arra is, hogy a tárolás során számos biokémiai változás mehet végbe, mely a termék minőségét kedvezőtlen irányban befolyásolhatja.

Az avasodás folyamata és jelentősége

„A zsírok tárolása során bekövetkező minőségi romlást okozó elváltozásokat gyűjtőnéven avasodásnak nevezzük.” (Csapó és Csapóné, 2003)

A zsírok romlásakor keletkező bomlás termékek alapján négyféle avasságot különböztetünk meg:

- Savasság.
- Faggyúsodás.
- Aldehydes avasodás.
- Ketonavasodás.

Hosszabb ideig tartó tárolás esetén a víz, hő, levegő, fény, és oxigén hatására végbemenő hidrolízises átalakulást nevezünk savasodásnak, az oxizsír-savak képződésével és azok polimerizációjával járó változásokat pedig faggyúsodásnak nevezük (Csapó és Csapóné, 2002). Amennyiben az avasodást mikroorganizmusok idézik elő oxidáló és hidrolizáló hatás kifejtésével, és ennek eredményeként a szabadvá vált zsírsavak béta-ketosavakká, majd ketonokká alakulnak, akkor ketonavasságról beszélünk. A leggyakrabban előforduló romlás az aldehydavasodás, amely autooxidációs folyamat, tehát mikroorganizmusok nélkül játszódik le. A hasadás terméke ebben az esetben természetesen aldehyd, amely a jellegzetesen „avas” szagot eredményezi a termékben.

Az autooxidációs folyamatokat bizonyos anyagok elősegítik, ezeket a segítő faktorokat prooxidánsoknak nevezük. Ilyen anyagok a zsír-hidroperoxidok, nehézfémnyomok, oxidáz-enzimek, heminvegyületek, lipokromok, fényhatás, hőhatás, oxigén és víz (Tóth, 1984).

Lipidek biokémiai változásai

Lipidek esetében háromféle biokémiai változást kell megemlíteni. A legegyszerűbb a lipidek hidrolízise lipáz enzim hatására és a foszfolipidek hidrolízise foszfolipáz enzim hatására. A legjelentősebb és egyben a legtöbb problémát jelenti a harmadik elváltozás, amit a lipidek oxidációjának nevezünk. Ez a folyamat végbemehet akár enzim, akár a levegő oxigénjének hatására.

Lipidek hidrolízise

A tárolás során bekövetkező legegyszerűbb elváltozás a lipidek hidrolízise. „Ennek során szabad zsírsavak keletkeznek, ami a zsíradék savszámát növeli” (Gasztonyi és Lásztity, 1992). „A zsírok hidrolízises bomlását penészek, baktériumok és a lipáz enzim idézi elő, melyek csak akkor okoznak organoleptikus elváltozást, ha a zsíradékban rövidebb szénatomszámú zsírsav is előfordul” (Győri, 1983). Fontos megemlíteni, hogy az élő állati zsírszövetekben nincsenek szabad zsírsavak, mert a lipáz aktivitás csak az állati zsírszövet feldolgozása után indul meg. Az olajos magvak esetében viszont egészen más a helyzet, mert nagy részük jelentős lipáz aktivitással rendelkezik, melynek eredményeképpen jelentős mennyiségű szabad zsírsav keletkezik. A szabad zsírsavak jelenléte, illetve megjelenése semmiképpen nem kedvező, főként azért, mert ezeknek a zsírsavaknak az autooxidációs folyamatai lényegesen könnyebben indulnak meg, mint az észter formában kötött zsírsavak esetében (Csapó és Csapóné, 2003).

Oxidációs elváltozások

A legnagyobb problémát jelentő elváltozások a lipidekben az oxidációs elváltozások. Az ilyen folyamatokat rendszerint peroxidképződés jellemzi, éppen ezért magát a folyamatot nevezhetjük peroxidációnak, valamint a folyamatok láncreakciószerű lefolyása végett autooxidációnak is.

A peroxidáció a telítetlen zsírsavak instabilitásával van kapcsolatban, különösen aktív oxigént tartalmazó rendszerekben, mert a kettős kötést tartalmazó zsírsavak, oxigén jelenlétében a leglabilisabb vegyületek közé tartoznak (Csapó és Csapóné, 2003). „A zsírsavak autooxidációja az élelmiszerekben íz-, szagelváltozásokhoz, az élvezeti érték csökkenéséhez vezet. Esetleg az élelmiszer emberi fogyasztásra alkalmatlanná válik. Ehhez hozzájárulhat még egyes oxidációs termékek élelmiszer-egészségügyi szempontból káros hatása” (Gasztonyi és Lásztity, 1993).

A lipidek oxidációjának három alaptípusa ismeretes:

- Dehidrogénezés:
Ebben az esetben a hidrogén leszakad a szerves molekuláról, de az oxigén nem lép a helyébe, hanem a hidrogénnel hidrogén-peroxidot képez.
- Peroxidképződés:
Az oxigénmolekula peroxidkötés kialakításával épül be a molekulába.
- Oxidáció:
Az oxigén molekula nem peroxidkötés létesítésével épül be a molekulába (Gasztonyi és Lásztity, 1992).

Az autooxidáció folyamata

Az autooxidáció folyamata szabad-gyök mechanizmussal játszódik le, lényegében négy fontos szakaszra bontható. Az első szakaszt a láncreakció iniciációjának nevezük, ekkor képződnek azok a szabadgyökök, melyek a reakció kiindulási pontját képezik. Ennek a szakasznak a folyamatai különbözőek lehetnek aszerint,

hogy élő szervezetről van szó, vagy pedig olyan rendszerről, ahol nem enzimes folyamatok játszódnak le. Az élelmiszeripari zsírokat az utóbb említett folyamatok jellemzik, ilyen esetben a gyökképződés módja a metilén csoportok (-CH₂-) hidrogénjének leszakadása (Csapó és Csapóné, 2003). A szabadgyökök olyan molekulák, melyeknek élettartama rövid, nagy a reakcióképességük, és ebből kifolyólag képesek a szervezetben kárt okozni. Olyan részecskék, melyeknek új elektronra van szüksége ahhoz, hogy egy párt hozzanak létre. Ezeket az elektronokat az ép sejtekből igyekeznek elvenni, kifejtve így károsító hatásukat. Ahhoz, hogy ilyen szabadgyökök képződjenek, aktivált állapot szükséges. Ez az állapot elérhető fémkatalizátorokkal, fényhatással, vagy esetleg más szabadgyökök jelenlétével (Csapó és Csapóné, 2002).

A folyamat második szakasza a láncreakció továbbhaladása. Ezalatt keletkezik zsírsavperoxid-gyök majd pedig zsírsavhidroperoxid a reakció folytatását biztosító zsírsav gyök kialakulásával. Természetes zsiradékokban, valamint zsírtartalmú élelmiszerekben, az elvégzett vizsgálatok (a leggyakrabban képződött peroxidok mennyisége) alapján az állapítható meg, hogy a peroxidszám emelkedését egy úgynevezett indukciós periódus előzi meg, ez azzal magyarázható, hogy olyan természetes – ritkábban mesterséges – gátló anyagokat tartalmaz a rendszer, amelyek késleltetik a láncreakció kialakulását (Gasztonyi és Lásztity, 1993). A jelenleg elfogadott tényállás szerint elsőként keletkezett oxidációs termék a peroxid. Az oxigénfelvételtől és a peroxid mennyiségéből az derül ki, hogy kezdetben a felvett oxigén teljes mennyiségében peroxid formában van jelen. Később aztán a peroxidszám a maximum elérése után csökken, ami arra utal, hogy más oxigén tartalmú vegyületek is megjelennek (Csapó és Csapóné, 2003).

AZ AVASODÁS NYOMONKÖVETÉSÉRE ALKALMAS MÓDSZEREK

A lipidek oxidációjának vizsgálata, az avasodás nyomon követésére alkalmas módszerek kutatása napjainkban egyre nagyobb figyelmet kap. Az avasodás illetve az oxidáció előrehaladottságának vizsgálatára számos módszer létezik, melyek közül megkülönböztetünk elsődleges és másodlagos változásokat kimutató vizsgálatokat (Akoh et al., 2002). Ezen módszerek közé tartozik a peroxidszám vizsgálat, az UV abszorbancia mérés, az anizidinszám és jódszám meghatározása, a poláros anyagok mennyiségének mérése valamint a stabilitási index meghatározása.

A minőségi jellemzők közül vizsgálható még a polifenolok, szterinek, tokoferolok és színanyagok mennyisége.

Peroxidszám vizsgálat

A peroxidszám a zsiradékok autooxidációs folyamatában keletkező peroxidok mennyiségére utal, a zsiradék romlási fokának mértéke. Ezen mutatószám segítségével a primer folyamatok során keletkező elsődleges oxidációs termékek mennyiségéről kapunk tájékoztatást, mely vegyületek szintelenek és szagtalanok.

Meghatározás MSZ EN ISO 3960: 2001 szabvány szerint

A leggyakrabban alkalmazott eljárás, melynek lényege, hogy a zsiradékban keletkező peroxidokat keményítő indikátor jelenlétében nátrium-tioszulfáttal titráljuk a jódfelesleg közömbösítéséig.

UV-abszorbancia mérés

Specifikus UV-extinkcióként kifejezett ultraibolya-abszorbancia meghatározása (ISO 3656:2002)

Ezen eljárás alkalmával a megadott hullámhossz tartományban spektrometriásan megmérjük az oldatban lévő minta abszorbanciáját, melyből a konjugált vegyületek mennyiségére következtethetünk, ugyanis a konjugált diének mennyiségének növekedésével az adott mintákban színváltozás is tapasztalható.

Anizidinszám meghatározása

Az anizidinszám meghatározása (ISO 6885:2006)

Az oxidációs folyamatok tehát hidroperoxidok képződésével kezdődnek, melyek kimutatására az előbb említett peroxidszám meghatározás alkalmas. A keletkezett peroxidok tovább oxidálódnak, polimerizálódnak és belőlük avas szagot árasztó másodlagos oxidációs termékek keletkeznek. Ezek a vegyületek lehetnek alkoholok, ketonok, epoxidok vagy aldehidek. Leggyakrabban az aldehidek keletkezése a jellemző. A keletkezett aldehidek kimutatására az anizidinszám meghatározása alkalmas. A meghatározással az oxidációs folyamatok során keletkező másodlagos oxidációs termékek mennyiségéről kapunk tájékoztatást, melyek alapján hasznos információkhoz juthatunk a peroxidáció előrehaladottságát illetően.

Jódszám meghatározása

A jódszám meghatározása (ISO 3961:1996)

A jódszám meghatározásával a kettős kötések mennyiségéről kaphatunk információt. Ezen ismeretek igen fontosak, mert mint tudjuk az autooxidáció a kettős kötések nagyfokú instabilitásával hozható összefüggésbe.

Szterintartalom meghatározása

Egyedi és összes szterintartalom meghatározása. Gázkromatográfiás módszer (ISO 12228:1999)

A vizsgálati mintarészt etanolos kálium-hidroxid oldattal, visszafolyó hűtés alkalmazásával elszappanosítjuk. Az el nem szappanosítható anyagot szilárd fázisú extrakcióval, alumínium-oxid oszlopon elválasztjuk. Az alumínium-oxid oszlop a zsírsavanionokat megköti, a szterinek az oszlopon áthaladnak. Az el nem szappanosítható anyag szterinfrakcióját vékonyréteg-kromatográfiával választjuk el. A szterinfrakció minőségi és mennyiségi összetételét gázkromatográfiás úton, betulin belső standard használatával határozzuk meg.

Oxidációs állapot meghatározása NIR-spektroszkópiával

Erre a módszerre irányuló kutatások alapján a NIR-spektroszkópia alkalmasnak bizonyult az olajok oxidációs állapotának meghatározására. A szerzők az eljárás során a készüléket peroxidszámra, anizidinszámra és a konjugált diének mennyiségére kalibrálták. Megfelelően nagyszámú minta mérését végezték el, melyeket fluoreszcens fénynek tettek ki, különböző oxidációs állapotok elérése érdekében. Az eredmények láttán korrelációt kerestek a hagyományos meghatározás és a NIR-spektroszkópiával történő meghatározás eredményei között. Végül arra a megállapításra jutottak, hogy ez a módszer megfelelő az oxidációs állapotok meghatározására, a korreláció pedig a peroxidszám esetében volt a legszorosabb (Yildiz et al., 2001).

Intenzív peroxidációs teszt (IPT)

Az IPT rendkívül alkalmas a különböző olajok lipid-peroxidációjának tanulmányozására. A teszt az olaj és a levegő kölcsönhatását szűrőpapírra vitellel fokozza. Infraégővel előidézett magasabb hőmérséklet (50–55 °C) alkalmazásával a lipid-peroxidáció sebességét jelentősen növeli. Segítségével lehetővé válik, hogy az olaj kezelését és a méréseket azonos edényben (one-pot-system) végezzék. Segítségével a lipid-peroxidációt gyorsító, illetve lassító hatások egyaránt gyorsan és reprodukálhatóan vizsgálhatók, magasabb kezelési hőmérséklet (50–55 °C) esetén a vizsgálat ideje 24 órára rövidíthető. Alkalmazása különösen előnyös a fémsók lipid-peroxidációra gyakorolt hatásának tanulmányozására (Kosáry et al., 2000).

KÖVETKEZTETÉS

A téma kiaknázatlanságát tekintve, az előzőekben felsorolt módszerek alkalmazásával átfogó képet kaphatunk a lipidekben végbemenő avasodási folyamatokról. A megfelelő paraméterek meghatározásával felderíthetőek az avasodás és a meghatározott paraméterek közötti összefüggések. Továbbá felderíthetőek az avasodást jelző paraméterek közötti összefüggések, melyek nagyban segítenének megérteni magát a folyamatot.

IRODALOM

- Akoh, C. C.–Min, D. B. (2002): Food Lipids Marcel Dekker Inc. New York. 483–505.
- Csapó J.–Csapóné K. Zs. (2002): Tej és tejtermékek a táplálkozásban. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 248.
- Csapó J.–Csapóné K. Zs. (2003): Élelmiszer-kémia. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 210–219.
- Gasztonyi K.–Lásztity R. (1992): Élelmiszer-kémia 1. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 254–264., 278–289., 600.
- Gasztonyi K.–Lásztity R. (1993): Élelmiszer-kémia 2. Mezőgazda Kiadó. Budapest. 201–225., 228–231.
- Győri Z. (1983): Mezőgazdasági termékek tárolása és feldolgozása. Debreceni Agrártudományi Egyetem. Debrecen. 153.
- ISO 3656:2002 Specifikus UV-extinkcióként kifejezett ultraibolya-abszorbanancia meghatározása.
- ISO 6885:2006 Az anizidinszám meghatározása.
- ISO 3961:1996 A jódszám meghatározása.
- ISO 12228:1999 Egyedi és összes szterintartalom meghatározása. Gázkromatográfiás módszer.
- Kosáry, J.–Takács, M.–Síró, I. (2000): Study of Lipid Peroxidation of the Oils by Means of Intensive Peroxidation Test. Acta Alimentaria Méte. Budapest. 49. 2: 49.
- MSZ EN ISO 3960: 2001 Állati és növényi zsírok és olajok. A peroxidszám meghatározása.
- Tóth Gy. (1984): Szerves és biokémia I. kötet. Debreceni Agrártudományi Egyetem. Debrecen. 104–106.
- Yildiz, G.–Wehling, R. L.–Cuppett, S. L. (2001): Method for Determining Oxidation of Vegetable Oils by Near Infrared Spectroscopy. Journal of the american oil chemists' society. 78: 495–502.