

F. CAPONIO, G. BRUNO,  
V.M. PARADISO, C. SUMMO,  
T. GOMES

## Monoacilgliceroli e loro influenza sull'evoluzione dei fenomeni ossidativi in oli vegetali purificati

PROGRESS IN NUTRITION  
VOL. 15, N. 1, 53-57, 2013

### TITLE

Monoacylglycerols and their influence on the evolution of the oxidation in purified vegetable oils

### KEY WORDS

Monoacylglycerols, oxidation, vegetable oils

### PAROLE CHIAVE

Monoacilgliceroli, ossidazione, oli vegetali

Dipartimento di Biologia e Chimica Agro-Forestale ed Ambientale (DIBCA), Sezione di Scienze e Tecnologie Alimentari – Università degli Studi di Bari “Aldo Moro”, Bari

Lavoro presentato al 10° Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti. Ricerche e Innovazioni nell'Industria Alimentare, Milano, 9-10 maggio 2011

Address for correspondence:

Dr. Tommaso Gomes

Università degli Studi, DIBCA

Sezione di Scienze e Tecnologie Alimentari

Via Amendola 165/a, I-70126 Bari, Italy

Fax: +39 080 5443467

E-mail: [tommaso.gomes@agr.uniba.it](mailto:tommaso.gomes@agr.uniba.it)

### Summary

An experimental investigation was carried out in order to verify the influence of monoacylglycerols on the oxidative processes in different vegetable oils. With this aim, three oils (soybean, sunflower, peanut) were purified in laboratory, added with 0.5% and 1% of monoacylglycerols obtained in purity by purified soybean oil and submitted to accelerated oxidation at 60°C for 10 days. The results showed that monoacylglycerols slowed down the rate of oxidation when added to sunflower oil and peanut oil, while they acted as pro-oxidants in soybean oil, showing therefore a different behavior depending on the fatty acid composition of the oils they are added to.

### Riassunto

Un'indagine sperimentale è stata effettuata con lo scopo di verificare l'influenza dei monoacilgliceroli sui processi ossidativi in oli vegetali di diversa origine botanica. A tal fine gli oli considerati (soia, girasole, arachide) sono stati purificati in laboratorio, addizionati dello 0,5% ed 1% di monoacilgliceroli ottenuti in purezza da un olio di soia purificato e sottoposti ad ossidazione accelerata a 60°C per 10 giorni. I risultati ottenuti hanno evidenziato che i monoacilgliceroli determinavano un rallentamento dell'ossidazione quando addizionati agli oli di girasole e di arachide, mentre nell'olio di soia agivano come pro-ossidanti, denotando quindi un differente comportamento in funzione della composizione acida degli oli nei quali si ritrovano.

### Introduzione

Gli oli vegetali sono parte integrante della dieta e il loro consumo è in continuo incremento (1). Ciò è dovuto all'aumento dell'impiego di grassi e oli vegetali e dei

loro prodotti di trasformazione, come margarine, shortenings e alimenti funzionali, in sostituzione dei grassi di origine animale (2). Oli e grassi, come è noto, se sottoposti ad una prolungata esposizione all'ossigeno atmosferico vanno

incontro a deterioramento. Per questo motivo, la valutazione della stabilità ossidativa rappresenta un fattore chiave per lo sviluppo di nuove applicazioni nel settore degli oli e grassi alimentari. Il grado di insaturazione degli acidi grassi, la disponibilità di ossigeno, il calore, la luce, i metalli, i pigmenti, i radicali, la presenza di fosfolipidi, acidi grassi liberi, monoacilgliceroli e diacilgliceroli, antiossidanti, infatti, sono tutti fattori in grado di influenzare la stabilità ossidativa di una sostanza grassa (3-6), con conseguenze sull'aroma, sul sapore e sul valore nutrizionale (7).

Tra i fattori che influenzano la stabilità ossidativa dei grassi, i prodotti della degradazione idrolitica, e in particolare i monoacilgliceroli, sono stati presi in considerazione in diversi studi, che ne hanno dimostrato l'effetto pro-ossidante in olio di soia (8-10) ed antiossidante in olio di oliva (11). Tuttavia, tali risultati sono stati ottenuti impiegando standard di monoacilgliceroli di diversa origine e composizione.

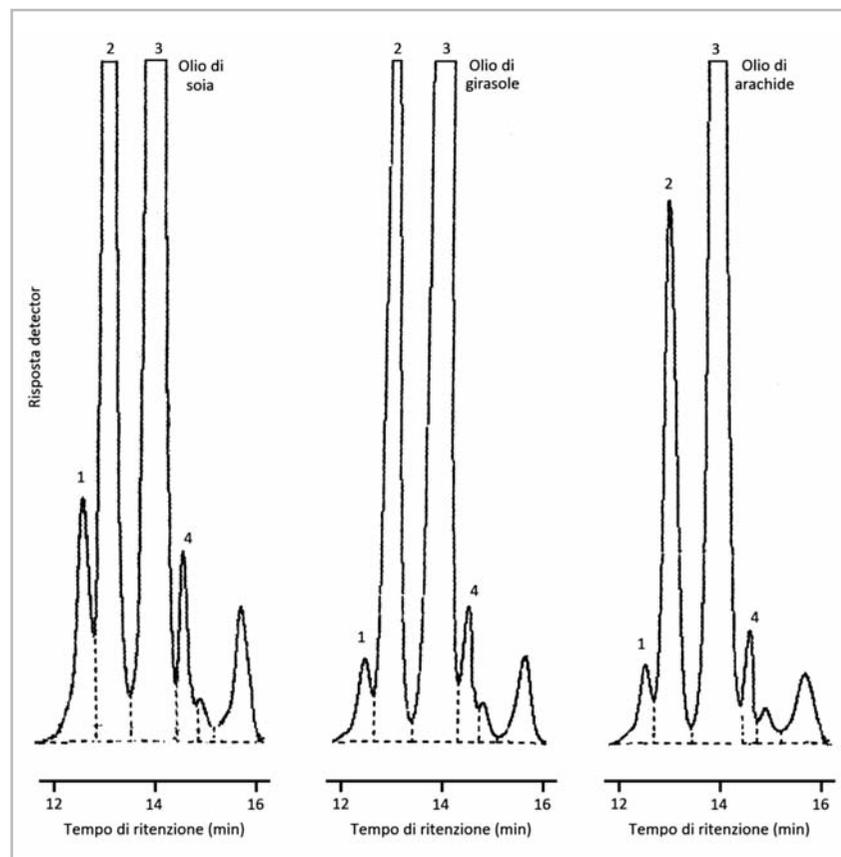
Scopo del presente lavoro è stato quello di verificare l'influenza di monoacilgliceroli ottenuti mediante saponificazione parziale a freddo dell'olio di soia purificato, sui processi ossidativi in oli vegetali di diversa origine botanica (olio di soia, olio di arachide e olio di girasole preventivamente purificati).

## Materiali e metodi

Gli oli di soia, di arachide e di girasole utilizzati per le prove sperimentali sono stati acquistati direttamente dal supermercato. Gli stessi sono stati sottoposti a purificazione seguendo il metodo di Lee e Min (12). In particolare, circa 250

g di olio sono stati fatti passare attraverso una colonna cromatografica (60 cm x 40 mm), in condizioni di vuoto parziale, impaccata con 75 g di silice, 37,5 g di una miscela di zucchero e celite in rapporto 2:1, 12,6 g di una miscela di carbone e celite in rapporto 2:1 e 75 g di silice. L'olio purificato ottenuto risul-

**Figura 1** - Cromatogrammi dell'analisi HPSEC dei composti polari degli oli di soia, girasole ed arachide purificati ed addizionati dell'1% di monoacilgliceroli dopo 6 giorni di ossidazione forzata in stufa a 60 °C. (1, trimeri di oligopolimeri dei triacilgliceroli; 2, dimeri di oligopolimeri dei triacilgliceroli; 3, triacilgliceroli ossidati; 4, diacilgliceroli)



tava privo di prodotti di ossidazione e di idrolisi, oltre che di pigmenti ed antiossidanti. L'efficacia del processo di purificazione è stata valutata mediante la determinazione dell'acidità, del numero di perossidi (13) e l'analisi High Performance Size-Exclusion Chromatography (HPSEC) dei composti polari preventivamente separati su colonna di gel di silice (14).

I monoacilgliceroli (MAG) sono stati ottenuti partendo da olio di soia purificato. In particolare, dopo saponificazione parziale a temperatura ambiente per 3 minuti in presenza di una soluzione metanolica di KOH 2N, come riportato in Caponio et al. (10), la reazione è stata interrotta con acqua distillata e i MAG estratti con etere etilico. La purezza dei monoacilgliceroli è stata verificata mediante analisi HPSEC. I MAG sono stati, quindi, addizionati agli oli vegetali purificati in concentrazione dello 0,5% ed 1% (p/p). Le soluzioni ottenute sono state sottopo-

ste, insieme a campioni controllo non addizionati di MAG, ad un test di ossidazione forzata in stufa a 60°C per 10 giorni. Gli oli, prelevati a 4, 6 e 10 giorni, sono stati poi sottoposti a separazione dei composti polari (PC) e ad analisi HPSEC degli stessi.

I PC sono stati separati mediante cromatografia su colonna di gel di silice, come riportato dal metodo AOAC n. 982.27 (14). L'efficacia della separazione è stata verificata mediante cromatografia su strato sottile. La separazione delle singole classi di sostanze costituenti i PC è stata effettuata mediante analisi HPSEC. Il sistema cromatografico era costituito da una pompa series 200 (Perkin-Elmer, Beaconsfield, UK), un iniettore 7125 S (rheodyne), un loop da 50 µL, una precolonna di 5 cm di lunghezza e 7,5 mm di diametro interno, una serie di due colonne PL-gel (Perkin-Elmer, Beaconsfield, UK) lunghe 30 cm x 7,5 mm di diametro interno. Le co-

lonne erano impaccate con copolimero stirene-divinilbenzene avente diametro delle particelle 5 µm e diametro dei pori di 500 Å. Come rivelatore è stato utilizzato un rifrattometro differenziale a deflessione Series 200A (Perkin-Elmer, Beaconsfield, UK) collegato ad un sistema di acquisizione dati. Il solvente di eluizione utilizzato era tetraidrofurano, al flusso di 1 mL/min. L'identificazione e la quantificazione dei singoli picchi è stata effettuata come riportato in un precedenti lavori (15, 16).

L'analisi della varianza (ANOVA) a tre vie, seguita dal test di Tukey per le comparazioni multiple, è stata effettuata sui dati analitici ottenuti mediante software XLStat (Addinsoft, New York, USA).

## Risultati e discussione

In figura 1 sono mostrati i cromatogrammi dei composti polari,

**Tabella 1** - Risultati dell'ANOVA a tre vie seguita dal test di Tukey per le comparazioni multiple

Variabile	PTAG		TAG-ox		DAG	
	F	Pr > F	F	Pr > F	F	Pr > F
<i>Tempo</i>	692,983	< 0,001	2153,348	< 0,001	41,167	< 0,001
<i>%MAG</i>	2,541	0,140	13,037	0,003	4,711	0,044
<i>Olio</i>	138,993	< 0,001	567,144	< 0,001	10,179	0,006
<i>Tempo*%MAG</i>	3,103	0,081	1,874	0,208	1,372	0,325
<i>Tempo*olio</i>	34,692	< 0,001	74,041	< 0,001	1,792	0,224
<i>%MAG*olio</i>	5,672	0,018	6,109	0,015	5,823	0,017

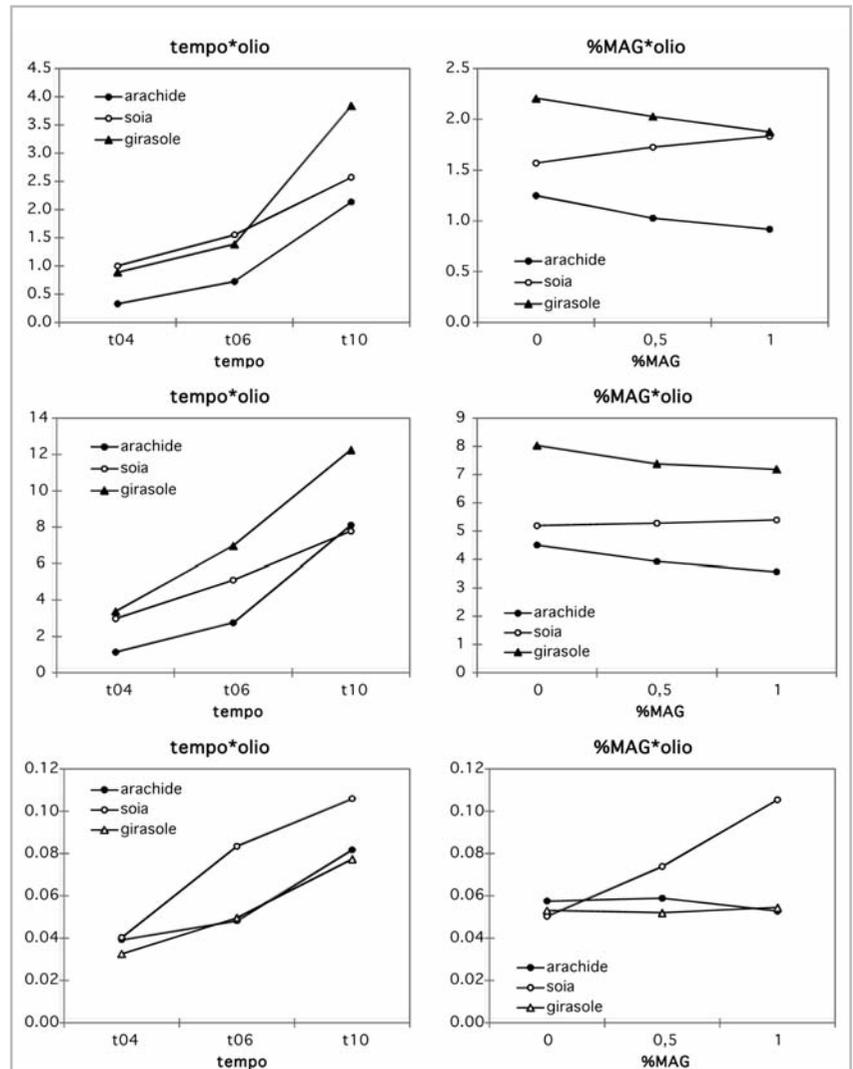
MAG, monoacilgliceroli; PTAG, oligopolimeri dei triacilgliceroli; TAG-ox, triacilgliceroli ossidati; DAG, diacilgliceroli.

preliminarmente separati mediante cromatografia su colonna di gel di silice, dei tre differenti oli vegetali purificati oggetto di indagine ed addizionati dell'1% di MAG dopo 6 giorni di ossidazione forzata in stufa a 60°C. È possibile constatare il diverso livello di composti di degradazione dei triacilgliceroli nei tre oli, in particolare riguardo al contenuto in trimeri e dimeri di oligopolimeri dei triacilgliceroli, evidenziandone pertanto una diversa suscettibilità all'ossidazione.

In tabella 1 ed in figura 2 sono riportati i risultati dell'analisi della varianza (ANOVA) a tre vie dei dati ottenuti relativi agli oligopolimeri dei triacilgliceroli (PTAG), triacilgliceroli ossidati (TAG-ox) e diacilgliceroli (DAG).

Il maggior contributo alla variabilità di tutti e tre gli indici era dovuto alla variabile *Tempo*, con incrementi significativi nel corso dell'ossidazione. Per i PTAG si osservava un effetto significativo del tipo di *Olio*, con valori più bassi per l'olio di arachide, e dell'interazione *Tempo\*Olio*. Ciò indica come i diversi oli mostrassero una differente suscettibilità ai processi ossidativi meno marcata per l'olio di soia. La dose aggiunta di *MAG* non aveva un effetto significativo, tuttavia, l'interazione *%MAG\*olio* presentava un valore di *p* inferiore a 0,05 evidenziando nell'olio di soia un effetto pro-ossidante e

**Figura 2** - Risultati delle interazioni *tempo\*olio* e *%MAG\*olio* per i parametri analitici esaminati. (PTAG, oligopolimeri dei triacilgliceroli; TAG-ox, triacilgliceroli ossidati; DAG, diacilgliceroli)



negli altri due un'azione opposta. Il modello ANOVA relativo ai TAG-ox, invece, risentiva significativamente del livello di *MAG* oltre che dell'interazione *%MAG\*olio*, confermando quanto già osservato

per i PTAG seppure con una diversità di comportamento dei diversi oli, più netta nei processi di polimerizzazione dei triacilgliceroli ossidati che nella loro formazione (figura 2).

Quanto, infine, ai livelli dei prodotti di idrolisi (rappresentati dai DAG), questi subivano incrementi significativi durante l'ossidazione. Inoltre, nel solo olio di soia si osservava anche un effetto dell'aggiunta di MAG che determinava un'accentuazione dell'idrolisi.

In definitiva, il differente effetto dei MAG negli oli considerati potrebbe essere legato alla loro diversa composizione acidica. Infatti, il processo di purificazione, cui sono stati sottoposti gli oli prima dell'aggiunta dei monoacilgliceroli, determina l'allontanamento di tutti i prodotti di ossidazione ed idrolisi dei triacilgliceroli, oltre che dei pigmenti e delle sostanze ad attività antiossidante, ottenendo quindi una matrice praticamente neutra e costituita quasi esclusivamente da triacilgliceroli inalterati.

## Bibliografia

1. Elmadfa I. *European Nutrition and Health Report 2009*. Basel: Karger, 2009.
2. Popkin MB, Gordon-Larsen P. The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. *Int J Obesity* 2004; 28: S2-S9.
3. Tuberoso CIG, Kowaczyk A, Sarritzu E, Cabras P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chem* 2006; 103: 1494-501.
4. Ho C, Chen Q. Lipid in food flavors: an overview. In: Ho C, Hartman AM: *Lipids in food flavors*. Salem: Mas Clearance Centre Inc, 1994: 2-114.
5. Krishna AGG, Prabhakar JV. Antioxidant efficacy of amino acids in methyl linoleate at different relative humidities. *J Am Oil Chem Soc* 1994; 71: 634-7.
6. Nawar WW. *Chemistry*. In: *Bailey's Industrial Oil & Fat Products*, vol. 1, 5<sup>th</sup> ed. New York: Wiley 1996: 397-426.
7. Min DB, Boff JM, Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Compr Rev Food Sci Food Safety* 2002; 1: 57-72.
8. Chung HJ, Colakoglu AS, Min DB. Relationships among headspace, oxygen, peroxide value, and conjugated diene content of soybean oil oxidation. *J Food Sci* 2004; 69: 83-8.
9. Mistry BS, Min DB. Prooxidant effects of monoglycerides and diglycerides in soybean oil. *J Food Sci* 1988; 53: 1896-7.
10. Colakoglu AS. Oxidation kinetics of soybean oil in the presence of monoolein, stearic acid and iron. *Food Chem* 2006; 101: 724-8.
11. Caponio F, Paradiso VM, Bruno G, Summo C, Pasqualone A, Gomes T. Do monoacylglycerols act as pro-oxidants in purified soybean oil? Evidence of a dose-dependent effect. *Ital J Food Sci* 2001; 23: 239-44.
12. Gomes T, Caponio F, Bruno G, Summo C, Paradiso VM. Effect of monoacylglycerols on the oxidative stability of olive oil. *J Sci Food Agric* 2010; 90: 2228-32.
13. Lee SH, Min DB. Effects, quenching mechanism and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photooxidation of soybean oil. *J Agric Food Chem* 1990; 38: 1630-4.
14. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee*. Regolamento CEE 2568/91, n.L. 248 del 5 settembre.
15. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of AOAC International*. Horwitz W. Arlington, VA: AOAC Press 2003: method 982.27.
16. Gomes T. Oligopolymer, diglyceride and oxidized triglyceride contents as measure of olive oil quality. *J Am Oil Chem Soc* 1992; 69: 1219-23.
17. Gomes T, Caponio F. Effort to improve the quantitative determination of oxidation and hydrolysis compound classes in edible vegetable oils. *J Chromatogr A* 1999; 844: 77-86.