

Perinteiset ja uudet menetelmät Suomen markkinoilla myytävien omega-3-ravintolisien hapettumisasteen tutkimuksessa

FM (Elintarvikekemia) Eija Ahonen

Ohjaajat:

FT Annelie Damerau

FT Marko Tarvainen

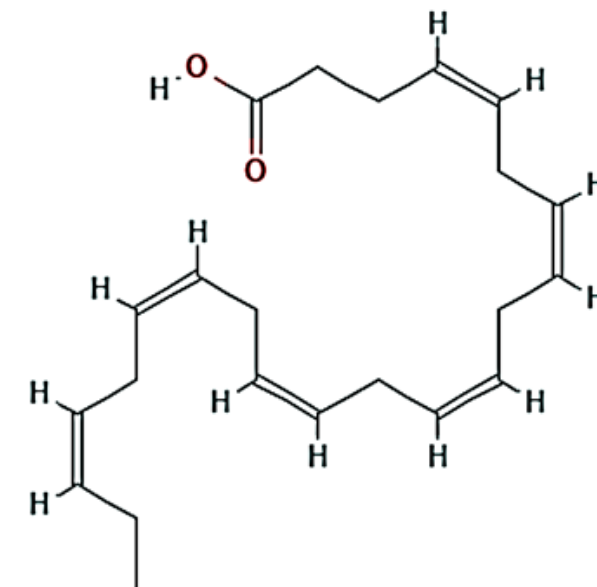
Apulaisprofessori Kaisa Linderborg



TURUN
YLIOPISTO

Omega-3-rasvahapot

- DHA (C22:6 n-3) ja EPA (C20:5 n-3)
- Useita positiivisia terveysvaikutuksia:
 - Aivojen kehitys ja toiminta, näkökyky
 - Veren kolesteroli- ja triasyyliglyserolipitoisuudet
 - Immuunipuolustus, tulehdustilat
- Meren kasviplankton on DHA:n ja EPA:n pääasiallinen tuottaja → kertyy kaloihin ja muihin mereneläviin.
- DHA ja EPA ovat erityisen herkkiä hapettumiselle → tuotteen laatu ja turvallisuus heikkenee



Dokosaheksaeenihappo (DHA)

Auto-oksidaatio

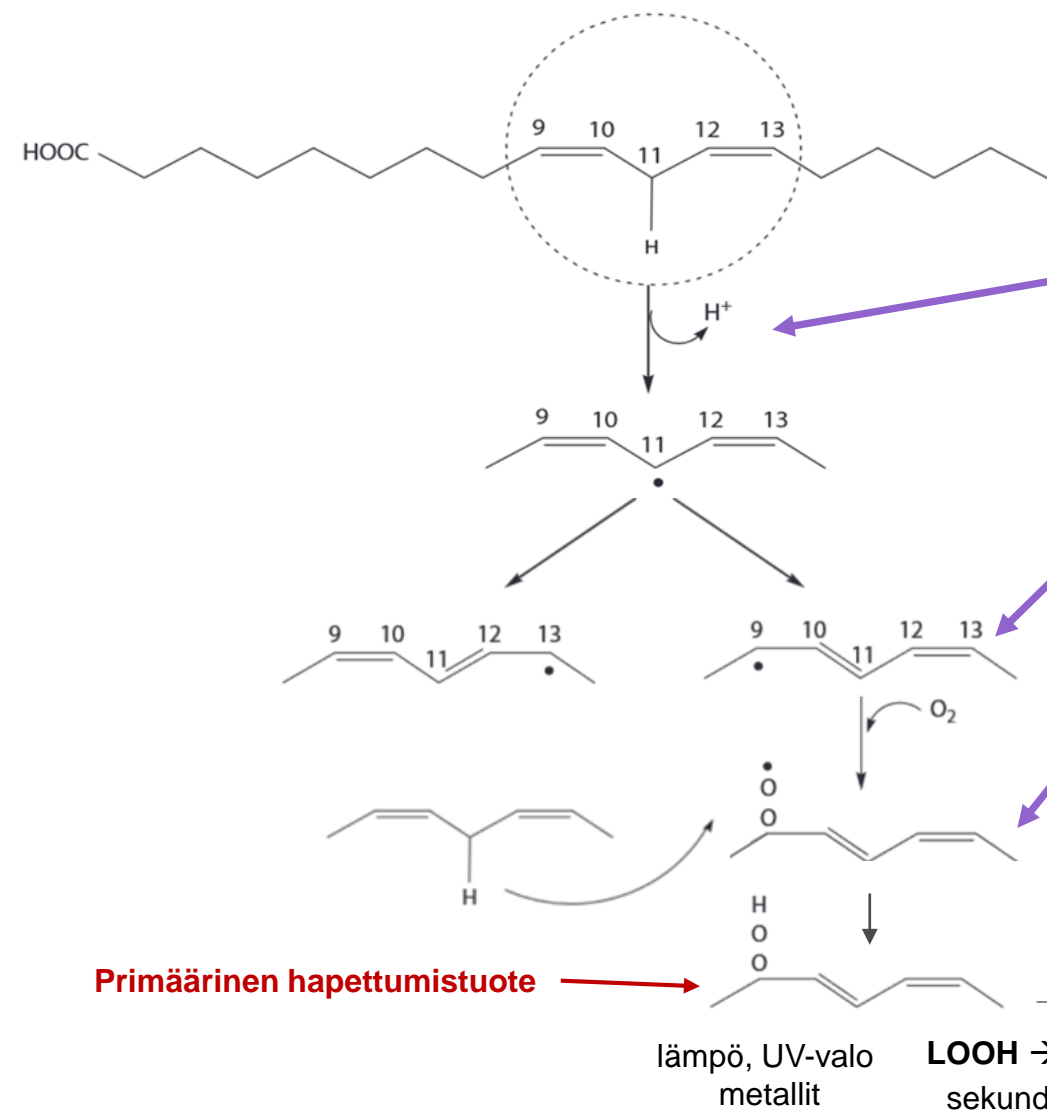
Reaktiiviset happilajit käynnistävät reaktion

- singlettihappi (valoherkistäjien energisoima), O_3 , H_2O_2
- vapaat radikaalit (pariton elektroni) esim. $OH\cdot$, $RO\cdot$, $HOO\cdot$

Aloitusvaiheessa vapaa radikaali poistaa rasvahaposta vetyatomin ja muodostuu alkyyli-radikaali $L\cdot$

Etenemisvaiheessa alkyyli-radikaali reagoi molekulaarisen hapen kanssa muodostaen peroksidiradikaalin $L\cdot + O_2 \rightarrow LOO\cdot$

Peroksidiradikaali ottaa vedyn toiselta rasvahapolta ja muodostuu primäärinen hapettumistuote: lipidihydroperoksi LOOH



Sekundääriset hapettumistuotteet

Ketonit

Dimeerit

Alkoholit

Polymeerit

Aldehydit

Epoksidit

Hiilivedyt

Primäärinen hapettumistuote

lämpö, UV-valo
metallit

$LOOH \rightarrow LO\cdot + \cdot OH$
sekundäärinen vaihe

Materiaalit ja menetelmät

► Näytteinä yhteensä 49 omega-3-valmistetta:

- 40 kala- ja kalanmaksaöljytuotetta
- 5 krilliöljytuotetta
- 3 leväöljytuotetta
- 1 DHA:ta sisältävä margariini

► Hapettumisastetta tutkittiin työssä eri menetelmillä:

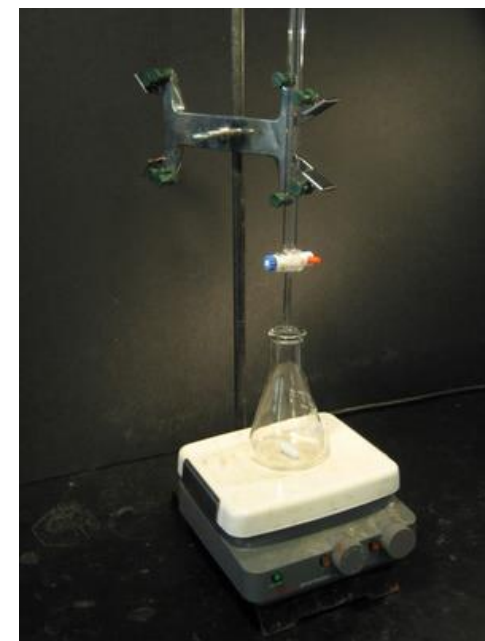
- Peroksidiluku → lipidihydroperoksidit
 - Para-anisidiiniluku → aldehydit
 - SPME-GC-MS → haihtuvat hapettumistuotteet
 - NMR (ydinmagneettinen resonanssispektroskopia)
- Perinteiset menetelmät
- Uudet menetelmät



Krilliäyriäinen ja krilliöljykapseleita.

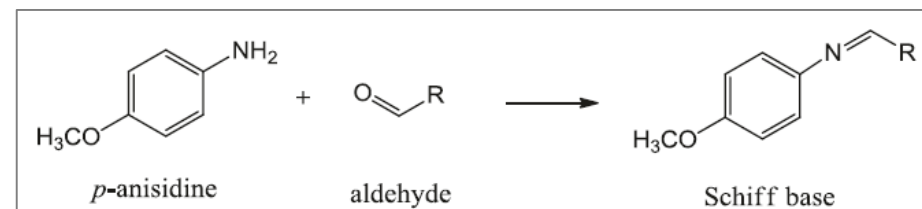
Perinteiset menetelmät / Peroksidiluku

- Jodometrinen titraus (IUPAC 2.501)
 - Lipidihydroperoksidit hapettavat jodidi-ionit vapaaksi jodiksi, joka titrataan tiosulfaatilla käyttäen tärkkelystä indikaattorina.
 - Suositusarvo < 5 mEq/kg
 - + Yksinkertainen, helppo ja nopea menetelmä
 - Jodidi hapettuu herkästi hapen ja valon läsnä ollessa
 - Hydroperoksideja voi muodostua spontaanisti (tulos todellista suurempi)
 - Tyydyttymättömät rasvahapot voivat absorboida jodia (tulos todellista pienempi)
 - Ei kerro todellisesta hapettumisasteesta, koska lipidihydroperoksidit hajoavat edelleen sekundäärisiksi hapettumistuotteiksi
 - Titrauksen värimuutoksen havaitseminen hankalaa värillisillä öljyillä
- ➔ Krilliöljyillä ei havaittavaa värimuutosta ennen titrausta
– ei hydroperoksideja tai menetelmä soveltumaton



Perinteiset menetelmät / Para-anisidiiniluku

- Spektrofotometrinen menetelmä (AOCS Cd 18–90)
- Aldehydin karbonyylisidos reagoi *p*-anisidiinin amiinin kanssa muodostaen Schiffin emäksen, joka absorboi 350 nm aallonpituudella.
- Mittaa pääasiassa 2-alkenaaleja ja 2,4-alkadienaaleja
- Suositusarvo < 20



- + Yksinkertainen ja nopea menetelmä
- Aldehydin tyydyttymättömyysaste vaikuttaa kolorimetriseen vasteeseen
- *p*-anisidiini reagoi kaikkien aldehydien kanssa, riippumatta niiden alkuperästä

→ Noin puolelle tutkituista tuotteista ei saatu luotettavaa tulosta
- krilliöljyt (epäpuhtaudet, liukoisuus iso-oktaaniin) & aromiaineita sisältävät öljyt

Uudet menetelmät / SPME-GC-MS

- SPME (kiinteäfaasimikrouutto)
- Haihtuvat yhdisteet adsorboituvat kaasufaasista polymeerillä päällytetyyn kuituun → erotus (GC) → tunnistus (MS)
- Inkubointi, uutto, desorptio, erotus, tunnistus

+ Yksinkertainen, herkkä, liuotinvapaa

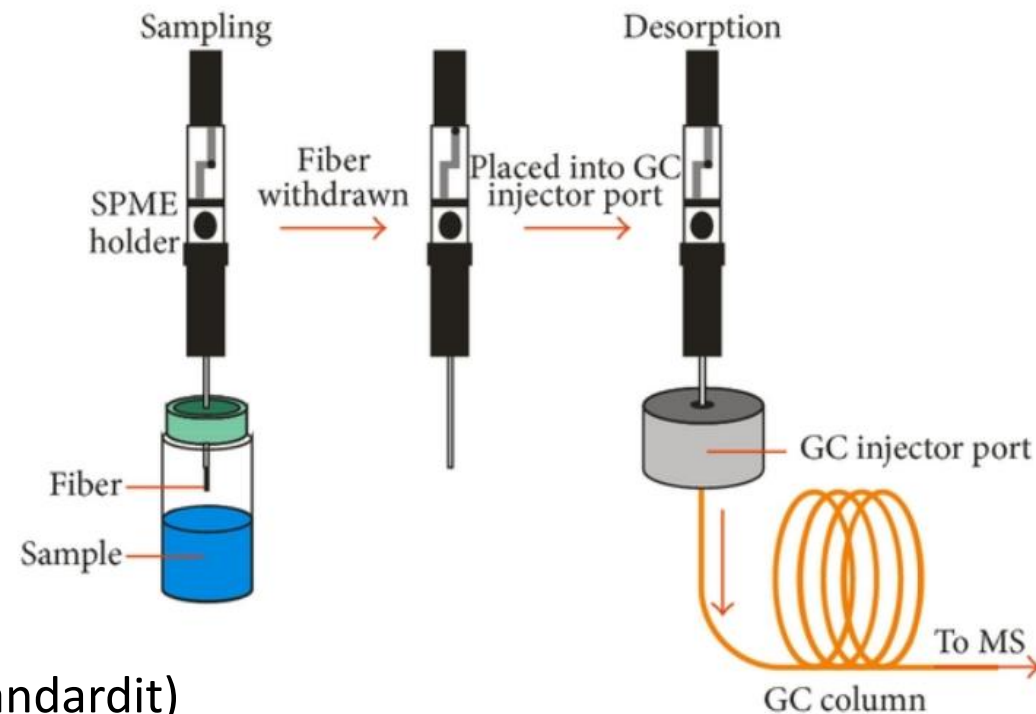
+ Minimaalinen näytteen esikäsittely

- Kvantitointi monimutkaisista näytematriiseista haastavaa (standardit)

- Kuidun lyhyt käyttöikä

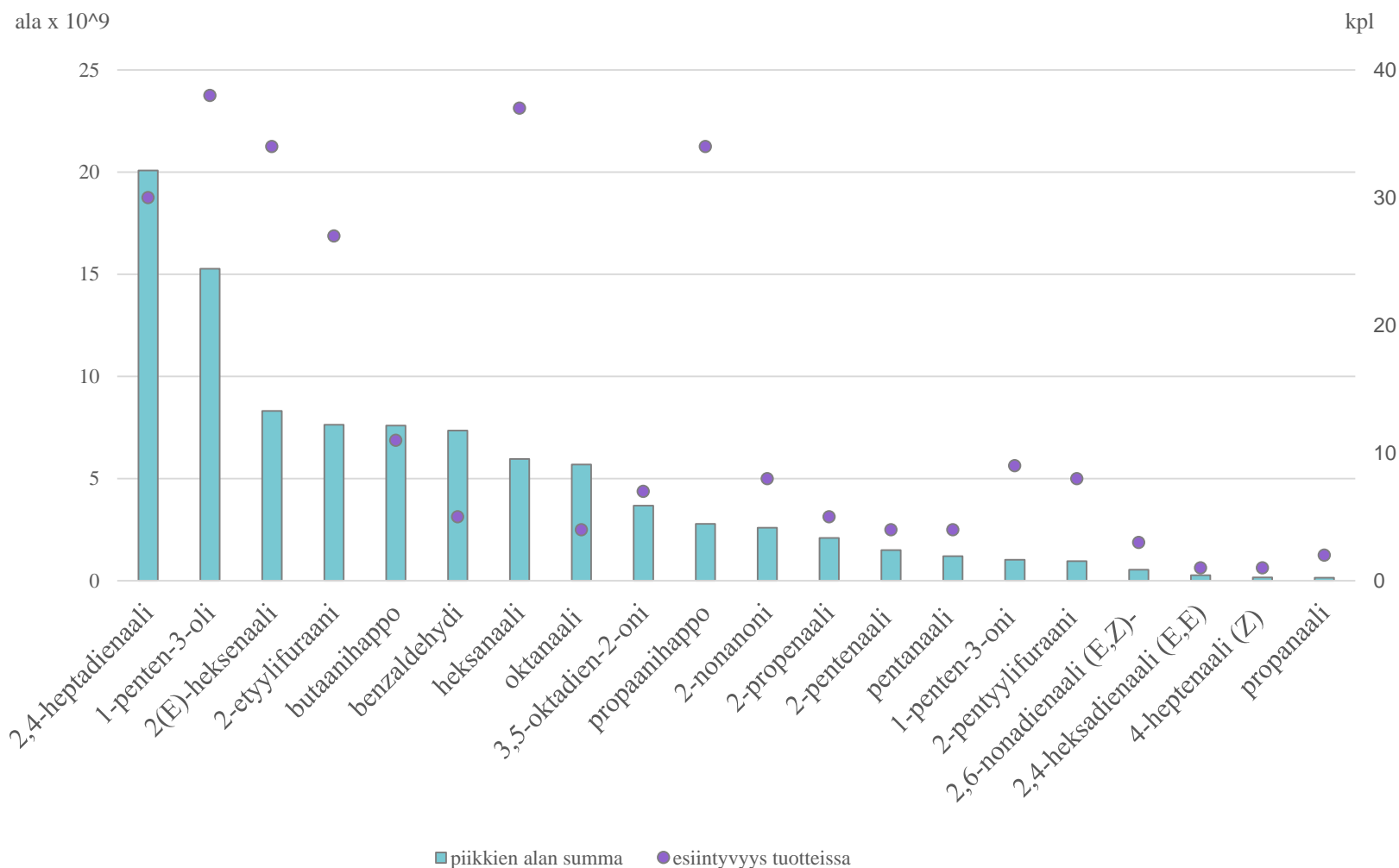
- Herkkyys

- Laitteiston hankinta- ja käyttökulut, koulutuskulut



Uudet menetelmät / SPME-GC-MS

Hapettumistuotteiden alan summa & kpl-määrä kaikissa tuotteissa



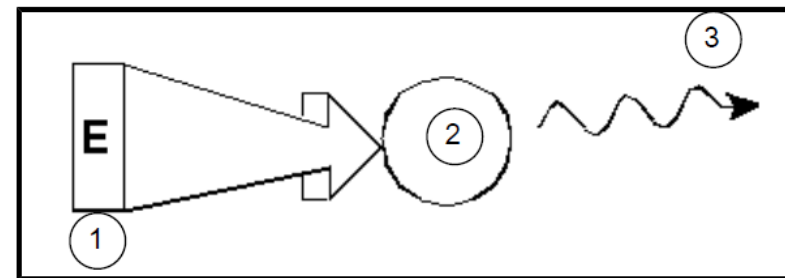
→ Tarkasteltiin 20 tunnettua haihtuvaa hapettumistuotetta

→ Mahdollisia hapettumisen merkkiaineita:

- 2-etyylifuraani
- 2,4-heptadienaali
- Tarvitaan lisätutkimusta

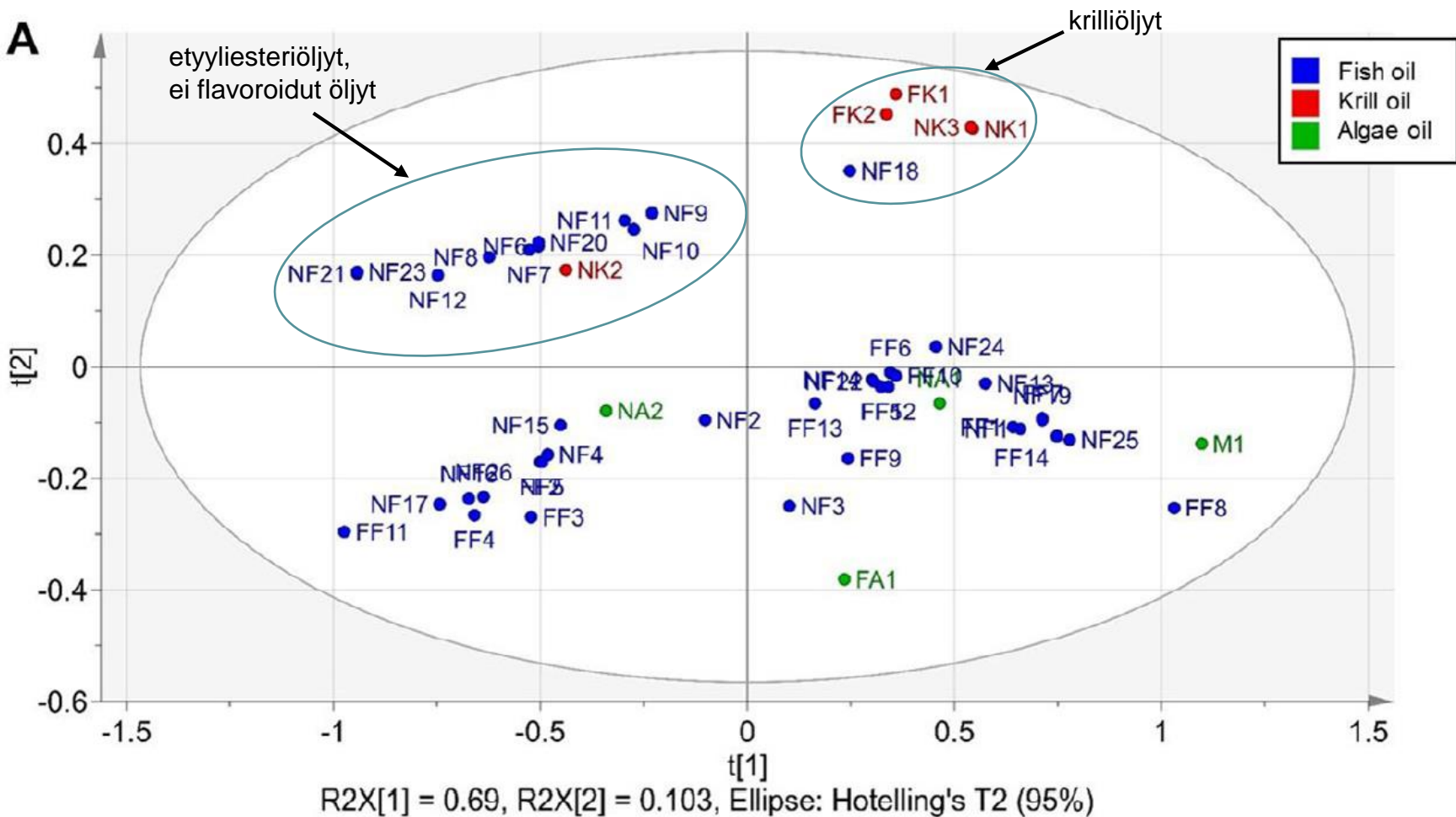
Uudet menetelmät / NMR

- Näyte asetetaan staattiseen magneettikenttään → atomin ydin viritetään radiotaajuisella pulssilla → mitataan näytteen emittoiman signaalin taajuus
- Emittoitu taajuus riippuu ytimen tyypistä & paikallisesta atomiympäristöstä
- Hapettumisasteen ^1H NMR tutkimuksessa voidaan tarkkailla esim. olefiinisten ja bisallyylisten protonien suhdetta alifaattisiin, aldehydejä, hydroperoksiedeja



- + Luotettava, rikkomaton, nopea, laajalti dataa yhdellä mittauksella
- + Mittaa samanaikaisesti sekä primaarisia- että sekundäärisiä hapettumismuutoksia
- Alhainen herkkyys verrattuna kromatografisiin menetelmiin
- Laitteiston hankinta- ja käyttökulut, koulutuskulut

Uudet menetelmät / NMR



→ Tarkasteltiin tuotteiden lipidiprofiileja (kohdentamaton analyysi)

→ Hapettumistuotteita ei havaittu

- Näytetyyppi
- Taajuusaluekohtainen protonien viritys

→ Piikkien päällekkäisyys häiritsi osittain signaalien integrointia

Tulokset

- ▶ Peroksidi- ja para-anisidiiniluku havaittiin soveltumattomiksi menetelmiksi omega-3-valmisteiden hapettumisasteen tutkimiseen
- Tarve kehittää luotettavampia hapettumisasteen tutkimusmenetelmiä



Lisätietoja

Food Chemistry 330 (2020) 127194



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Food Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchem



Evaluation of the composition and oxidative status of omega-3 fatty acid supplements on the Finnish market using NMR and SPME-GC–MS in comparison with conventional methods

Annelie Damerou, Eija Ahonen, Maaria Kortensniemi, Anna Pугanen, Marko Tarvainen, Kaisa M. Linderborg*

Food Chemistry and Food Development, Department of Biochemistry, University of Turku, 20014 Turun yliopisto, Turku, Finland



Kiitos!