

KAROL MIŃKOWSKI, STANISŁAW GRZEŚKIEWICZ, ANNA KRUPSKA

## ZASTOSOWANIE METODY HS-SPME<sub>GC</sub>/FID DO WYKRYWANIA WCZESNYCH ZMIAN OKSYDACYJNYCH OLEJU LNIANEGO

### Streszczenie

Celem pracy była ocena możliwości wykorzystania mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej do fazy stacjonarnej (HS-SPME) i chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC/FID) do wykrywania wczesnych zmian oksydacyjnych oleju lnianego.

Materiałem do badań były olej lniany tłoczony na zimno: wysokolinolenowy i niskolinolenowy. Przyspieszony proces autooksydacji olejów prowadzono w warunkach termostatowych w temp. 60 °C. Oznaczano zawartość wybranych związków lotnych, liczbę nadtlenkową, anizydynową i wyliczano wskaźnik oksydacji Totox. Stwierdzono, że analiza wybranych lotnych związków metodą HS-SPME<sub>GC</sub>/FID, z wykorzystaniem substancji wzorcowych, jest metodą pozwalającą śledzić proces autooksydacji oleju lnianego wysoko- i niskolinolenowego. Zawartość wybranych związków lotnych ogółem może być dobrym wskaźnikiem wczesnych zmian oksydacyjnych oleju lnianego wysokolinolenowego. W przypadku oleju niskolinolenowego oznaczanie wybranych związków lotnych ogółem nie jest korzystne przy określaniu jego wczesnych zmian oksydacyjnych w porównaniu z liczbą nadtlenkową, anizydynową czy wskaźnikiem Totox.

**Słowa kluczowe:** olej lniany, autooksydacja, związki lotne, HS-SPME<sub>GC</sub>/FID

### Wprowadzenie

Olej lniany bogaty w kwas  $\alpha$ -linolenowy jest rozpoznawany i akceptowany jako prozdrowotny olej roślinny, ważny składnik diety dr Budwig [9]. Oprócz oleju otrzymywanego z tradycyjnych odmian, w obrocie handlowym występuje także olej lniany pozyskiwany z nowych odmian, charakteryzujący się niską zawartością tego kwasu, o wyraźnie odmiennie wartości odżywczej. Olej wysokolinolenowy zawierający znaczną ilość podwójnych wiązań bardzo łatwo utlenia się, natomiast olej niskolinolenowy jest stabilniejszy pod tym względem. W wyniku pierwotnych przemian oksydacyjnych powstają nadtlenki i bardzo reaktywne rodniki, które inicjują wiele procesów,

---

*Dr hab. Karol Mińkowski, prof. nadzw., inż. S. Grześkiewicz, mgr inż. Anna Krupska, Oddział Technologii Mięsa i Tłuszczu, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa*

nie tylko obniżających jakość oleju poprzez degradację witamin i innych związków biologicznie czynnych, ale także są szkodliwe dla zdrowia, biorąc udział m.in. w procesie kancerogenezy, mutagenezy oraz starzenia się [3]. Ich rozpad powoduje pojawienie się znacznej ilości wtórnych produktów, takich jak: lotne aldehydy, ketony, alkohole, alkany i alkeny [14]. Aldehydy krótkołańcuchowe, zwłaszcza nienasycone, oraz powstające z nich wskutek utleniania kwasy w dużym stopniu wpływają na charakterystyczny zapach zjełczalego tłuszczu [3]. Do oceny stopnia oksydacji rutynowo stosuje się metody chemometryczne, oznaczając zwykle liczbę nadtlenującą i anizydynową, a na ich podstawie wylicza się wskaźnik oksydacji Totox. W obu metodach wymagane jest stosowanie rozpuszczalników organicznych, oznaczeń nie można zautomatyzować, a wynik końcowy w dużym stopniu zależy od umiejętności analityka. Do oceny stopnia oksydacji lipidów, a zwłaszcza formowania się lotnych związków wykorzystywana jest między innymi analiza sensoryczna. Metody analizy profilowej pozwalają na wyzucie różnych nut zapachowych powstających w produkcie, jednak wymagają one panelu bardzo dobrze wytrenowanych arbitrów i są czasochłonne. Dlatego też podjęto próby instrumentalizacji tej oceny poprzez zastosowanie tak zwanych elektronicznych nosów. Rozróżniają one próbki na podstawie profilu aromatu [10]. Rolę sensora w takiej analizie może pełnić spektrometr masowy [5]. Do badania lotnych produktów oksydacji zwykle stosuje się chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas, ale możliwy jest także wariant samej chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną [4].

Lotne produkty oksydacji występują zazwyczaj w bardzo niskiej koncentracji i w badaniach ich składu niezbędne są: izolacja z matrycy produktu oraz zateżnienie, aby można było scharakteryzować ich skład i zawartość poszczególnych związków chemicznych. Technika mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) coraz częściej zastępuje tradycyjne metody izolacji i analizy związków lotnych w żywności [15], np. w oliwie z oliwek [2, 6, 7]. Przygotowanie próbki do analizy obejmuje zwykle mikroekstrakcję analitów z fazy nadpowierzchniowej do fazy stacjonarnej (HS-SPME) oraz termiczną desorpcję i separację związków [10]. Do wyodrębniania i koncentracji lotnych produktów oksydacji lipidów stosuje się mikroekstrakcję do fazy stałej włókna krzemionkowego pokrytego fazą stacjonarną o odpowiedniej polarności [5, 10].

Celem pracy była ocena możliwości wykorzystania połączenia mikroekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej do fazy stacjonarnej (HS-SPME) i chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC/FID) do wykrywania wczesnych zmian oksydacyjnych oleju lnianego.

### **Material i metody badań**

Materiałem do badań były oleje tłoczone na zimno: lniany wysokolinolenowy (Staropolski) oraz niskolinolenowy (Linolia), pochodzące z Instytutu Włókien Natu-

ralnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu. Oleje bezpośrednio po wyprodukowaniu dostarczano do badań. W okresach pomiędzy badaniami analitycznymi przechowywano je w warunkach zamrażalniczych (-27 °C). Przyspieszony proces autooksydacji oleju wykonywano w warunkach termostatowych w temp. 60 °C. Naczynia do termostatowania stanowiły kolby kuliste płaskodenne o pojemności 1000 cm<sup>3</sup>, zamknięte korkiem na szlif; ilość oleju w kolbie wynosiła 100 cm<sup>3</sup>. Próbkę do badań pobierano po: 0, 1, 2, 3, 4 i 5 dniach termostatowania. Termostatowanie prowadzono w cieplarni laboratoryjnej firmy Poll Ltd, model CL-60. W próbkach oznaczano zawartość wybranych związków lotnych, liczbę nadtlenkową, anizydynową oraz wyliczano wskaźnik oksydacji Totox. Oznaczenia wykonywano w 3 równoległych próbkach po dwa powtórzenia. Sorpcję związków lotnych wykonywano techniką HS-SPME; 20 ml oleju umieszczano w 40 ml viali zamykanej nakrętką z przekładką teflonową. Próbkę termostatowano w temp. 50 °C przez 15 min, po czym wprowadzano do fazy nadpowierzchniowej włókno z fazą typu CAR/PDMS (carboxen/polidimetylosiloksan) StableFlex (Supelco, Bellefonte, USA): grubość filmu 85 µm i termostatowano przez dalsze 15 min w temp. 50 °C [5, 10]. Związki z włókna natychmiast desorbowano w komorze naszykowej chromatografu gazowego przez 2 min w temp. 260 °C. Jako substancje wzorcowe wykorzystano krótkołańcuchowe alkohole i aldehydy, nasycone i nienasycone, tj.: 1-penten-3-ol, 1-octen-3-ol, hexanal, heptanal, nonanal, trans-2-pentenal, trans-2-heptenal, trans-2-octenal, trans-2-nonenal, trans-2-decenal, trans-trans-2,4-decadienal. Wzorce pochodziły z firmy Sigma Aldrich, Poznań. Standardy poszczególnych związków naważano do świeżego (bezpośrednio po dezodoryzacji) rafinowanego oleju rzepakowego i stosując metodę HS-SPME\_GC/FID określano czas retencji poszczególnych związków. Testowanie możliwości stosowania tej metody do rozróżniania i ilościowego oznaczania produktów oksydacji prowadzono z wykorzystaniem modelowej mieszaniny zawierającej zróżnicowane udziały poszczególnych związków. Stosowano mieszaninę o następującym składzie: 22,5 % hexanal (m/m), 17,5 % nonanal, 15,3 % trans-2-pentenal, 13,0 % 1-octen-3-ol, 6,0 % trans-2-octenal, 5,5 % heptanal, 5,5 % trans-trans-2,4-decadienal, 5,0 % trans-2-heptenal, 4,0 % 1-penten-3-ol, 3,0 % trans-2-decenal, 2,7 % trans-2-nonenal. Mieszaninę testową rozcieńczano świeżym olejem rafinowanym do otrzymania roztworów: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 i 1,0 ppm hexanal i proporcjonalnych ilości pozostałych składników. Podane wartości stężeń standardowych posłużyły do wyznaczenia krzywych wzorcowych, które były podstawą oznaczeń ilościowych. Świeży rafinowany olej rzepakowy, bezpośrednio po odwonieniu, pochodził z Zakładów Tłuszczowych „Kruszwica” S.A. w Warszawie.

Analizę i identyfikację lotnych produktów oksydacji desorbowanych z włókna SPME prowadzono metodą GC/FID z wykorzystaniem chromatografu HP 6890 II wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny. Związki z włókna desorbowano termicznie do komory dozownika w ciągu 1 min w temp. 260 °C. Do rozdzielu anali-

zowanych związków stosowano kolumnę kapilarną BPX70 60 m × 0,22 mm. Warunki pracy chromatografu: temp. dozownika 260 °C, temp. kolumny: 40 °C (10 min), 8 °C/min – 200 °C (20 min). Temp. detektora FID 260 °C.

Wskaźniki chemiczne oznaczano następującymi metodami: liczbę nadtlenkową metodą jodometryczną wg PN-ISO 3960:1996 [12], liczbę anizydynową metodą spektrofotometrycznego pomiaru absorbancji kompleksu barwnego powstałego po reakcji aldehydów obecnych w próbce z p-anizydyną wg PN-EN-ISO 6885:2001 [13], wskaźnik oksydacji Totox wyliczano z równania:

$$\text{Totox} = 2\text{LOO} + \text{LA}, \quad (1)$$

gdzie:

LOO – liczba nadtlenkowa (wyrażona w milirównoważnikach O<sub>2</sub>/kg ),

LA – liczba anizydynowa.

Analizę statystyczną wyników prowadzono za pomocą programu komputerowego Statgraphics Plus for Windows, wersja 4.0, Statistical Graphics Corp. 1999, na poziomie istotności  $p = 0,05$ . Do oceny zależności pomiędzy wybranymi zmiennymi wykorzystano analizę regresji prostej.

## Wyniki i dyskusja

Wyniki analiz substancji wzorcowych pozwoliły na określenie czasu ich retencji, a także wyliczenie współczynników determinacji oraz równań regresji prostej odwzorowujących zależności pomiędzy wielkością uzyskiwanego sygnału (powierzchnią pików) a stężeniem poszczególnych substancji (tab. 1).

Czasy retencji poszczególnych związków wydłużały się wraz z długością oraz stopniem nienasyconości łańcucha węglowego, a aldehydy miały dłuższe czasy retencji niż odpowiednie alkohole.

Zasięg zmian oksydacyjnych mierzony ilością wybranych lotnych związków powstających w czasie termostataowania badanych olejów przedstawiono w tab. 2. i 3.

W wyjściowym oleju wysokolinolenowym stwierdzono obecność 9 spośród 11 badanych związków (ogółem 5,42 ppm), natomiast 7 w oleju niskolinolenowym (ogółem 3,26 ppm). Takie ilości związków lotnych ogółem wskazują na zmiany oksydacyjne, które zaszły w próbkach przed rozpoczęciem badań. Oba oleje były tłoczone na zimno, niepoddane rafinacji, w związku z czym zawierały wszystkie pierwotne i wtórne produkty oksydacji, zachodzącej od momentu ich wydobycia, czy też nawet jeszcze wcześniej, w nasionach częściowo uszkodzonych. W olejach tłoczonych na zimno może występować wiele związków lotnych [8, 10, 16], natomiast w olejach bezpośrednio po rafinacji, przy prawidłowo przeprowadzonej dezodoryzacji, nie powinno ich być. Jeleń i wsp. [5] w świeżo rafinowanym oleju rzepakowym oznaczyli tylko 2 lotne

Tabela 1

Czas retencji, współczynniki determinacji oraz równania prostej regresji wzorcowych związków.  
Retention time, coefficient of determination and regression equation of standard compounds.

Składnik lotny Volatile compound	Czas retencji [min] Retention time [min]	Współczynnik determinacji Coefficient of determination	Równanie regresji Regression equation
1-penten-3-ol	6,80	0,98	$y = 12,52x + 2,73$
t-2-pentenal	8,70	1	$y = 88,54x + 7,33$
hexanal	9,80	0,79	$y = 1370,9x - 178,9$
1-heptanal	12,84	1	$y = 9,83x + 28,98$
t-2-heptenal	14,80	0,99	$y = 55,07x + 16,87$
1-octen-3-ol	15,37	0,99	$y = 32,97x + 3,09$
t-2-octenal	17,10	0,99	$y = 29,76x + 21,15$
nonanal	18,39	0,69	$y = 1,96x + 73,20$
t-2-nonenal	19,97	0,99	$y = 9,70x + 35,73$
t-2-decenal	22,20	0,76	$y = 7972x + 3,74$
t-t-2-4-decadienal	28,30	0,44	$y = 0,87x + 38,77$

Objaśnienia: / Explanatory notes:

y – wielkość sygnału / signal value, x – stężenie składnika lotnego / concentration of volatile compound.

Tabela 2

Zawartość związków lotnych w oleju wysokolinolenowym [ppm].  
Content of volatile compounds in high linolenic oil [ppm].

Składniki lotne Volatile compounds	Czas termostatowania [dni] / Thermostating time [days]					
	0 $\bar{x} \pm s / SD$	1 $\bar{x} \pm s / SD$	2 $\bar{x} \pm s / SD$	3 $\bar{x} \pm s / SD$	4 $\bar{x} \pm s / SD$	5 $\bar{x} \pm s / SD$
1-penten-3-ol	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,83 ± 0,10	1,22 ± 0,41	1,47 ± 0,23	3,11 ± 0,31
t-2-pentenal	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,32 ± 0,04	0,25 ± 0,04	0,30 ± 0,05	0,00 ± 0,00
hexanal	0,81 ± 0,12	3,38 ± 0,36	4,28 ± 0,71	9,56 ± 1,56	8,05 ± 2,08	8,01 ± 1,43
1-heptanal	1,01 ± 0,15	2,70 ± 0,25	2,74 ± 0,49	0,84 ± 0,06	1,12 ± 0,20	0,61 ± 0,4
t-2-heptenal	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,26 ± 0,05	0,36 ± 0,05	0,81 ± 0,11
1-octen-3-ol	0,23 ± 0,03	0,48 ± 0,07	0,63 ± 0,09	1,00 ± 0,15	2,59 ± 0,42	5,53 ± 0,72
t-2-octenal	0,71 ± 0,09	0,91 ± 0,06	0,72 ± 0,06	0,38 ± 0,05	0,17 ± 0,03	0,19 ± 0,04
nonanal	0,31 ± 0,05	1,49 ± 0,17	2,69 ± 0,42	1,77 ± 0,13	2,12 ± 0,43	1,50 ± 0,21
t-2-nonenal	1,09 ± 0,10	3,09 ± 0,46	0,59 ± 0,08	0,78 ± 0,09	0,91 ± 0,12	0,67 ± 0,06
t-2-decenal	0,28 ± 0,04	0,73 ± 0,24	3,50 ± 0,44	1,58 ± 0,21	1,28 ± 0,21	1,48 ± 0,11
t,t-2,4-decadienal	0,98 ± 0,12	5,75 ± 1,19	6,79 ± 1,28	7,45 ± 1,40	13,83 ± 2,27	26,70 ± 3,12
Ogółem / Total	5,42	18,53	23,09	25,09	32,20	48,61

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x}$  - wartość średnia / mean value; s - odchylenie standardowe / SD - standard deviation; n = 6.

związki. Po 3 i więcej dniach termostatowania w oleju wysokolinolenowym były wszystkie analizowane związki, natomiast w oleju niskolinolenowym przez cały okres badań nieobecny był 1-penten-3-ol.

Tabela 3

Zawartość związków lotnych w oleju niskolinolenowym [ppm].  
Content of volatile compounds in low linolenic oil [ppm].

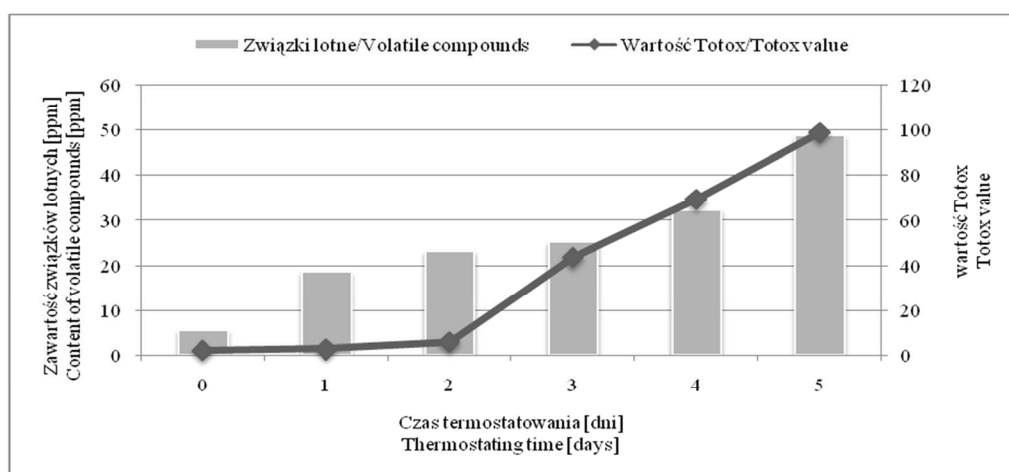
Składniki lotne Volatile compounds	Czas termostatowania [dni] / Thermostating time [days]					
	0 $\bar{x} \pm s / SD$	1 $\bar{x} \pm s / SD$	2 $\bar{x} \pm s / SD$	3 $\bar{x} \pm s / SD$	4 $\bar{x} \pm s / SD$	5 $\bar{x} \pm s / SD$
1-penten-3-ol	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
t-2-pental	0,00 ± 0,00	0,23 ± 0,03	0,25 ± 0,05	0,22 ± 0,02	0,24 ± 0,02	0,22 ± 0,02
hexanal	0,30 ± 0,04	2,07 ± 0,39	2,40 ± 0,31	4,10 ± 0,47	3,85 ± 0,47	6,69 ± 0,71
1-heptanal	0,39 ± 0,04	0,53 ± 0,08	0,41 ± 0,07	0,48 ± 0,04	0,87 ± 0,07	0,41 ± 0,05
t-2-heptenal	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,28 ± 0,02
1-octen-3-ol	0,34 ± 0,05	1,04 ± 0,20	1,17 ± 0,28	1,41 ± 0,21	1,55 ± 0,14	1,64 ± 0,19
t-2-octenal	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,10 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,26 ± 0,03
nonanal	1,23 ± 0,24	1,50 ± 0,01	1,45 ± 0,21	0,48 ± 0,07	1,80 ± 0,23	1,53 ± 0,12
t-2-nonenal	0,30 ± 0,02	0,57 ± 0,08	0,42 ± 0,03	0,42 ± 0,04	0,72 ± 0,09	0,72 ± 0,06
t-2-decenał	0,21 ± 0,02	0,33 ± 0,07	0,41 ± 0,03	0,41 ± 0,07	0,60 ± 0,05	0,44 ± 0,03
t,t-2,4-decadienał	0,49 ± 0,07	2,05 ± 0,38	2,10 ± 0,34	1,88 ± 0,11	2,50 ± 0,31	1,93 ± 0,18
ogółem / total	3,26	8,38	8,83	9,68	12,62	14,12

Objaśnienia jak pod tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.

Największe przyrosty zawartości związków fenolowych ogółem, w obu olejach, wystąpiły po pierwszym dniu, oraz pomiędzy 3. i 5. dniem. Po 5 dniach prowadzenia doświadczeń suma oznaczanych 11 związków lotnych w oleju wysokolinolenowym wynosiła blisko 50 ppm, natomiast w oleju niskolinolenowym była 4-krotnie mniejsza. Przy dłuższym czasie termostatowania (7 dni) oleju wysokolinolenowego ilość związków lotnych zdecydowanie wzrasta i może wynosić nawet do 500 ppm [1]. W oleju wysokolinolenowym dominował trans,trans-2,4-decadienał, a poza tym głównymi związkami były: hexanal, 1-penten-3-ol i 1-octen-3-ol. W oleju niskolinolenowym dominował hexanal, a inne główne związki to 1-octen-3-ol, nonanal i trans,trans-2,4-decadienał. W obu olejach składniki główne stanowiły powyżej 80 % analizowanych związków. Ich zawartość szybko przyrastała w trakcie termostatowania. Tworzenie się poszczególnych lotnych produktów autooksydacji było jednak znacznie szybsze w oleju wysokolinolenowym niż niskolinolenowym. Na podstawie uzyskanych wyników trudno wskazać na jeden z analizowanych związków, który mógłby być indykato-

rem procesu autooksydacji oleju lnianego zarówno wysoko-, jak i niskolinolenowego. Abyzaytoun i Shahidi [1] uważają, że z kwasu linolenowego powstaje głównie propanal, a z linolowego hexanal, i one mogłyby być wskaźnikami oksydacji odpowiednich olejów. Z kolei wg van Ruth i wsp. [14] lepszym wskaźnikiem jest zawartość lotnych związków ogółem. Skład i ilość lotnych związków powstających w procesie autooksydacji zależy przede wszystkim od rodzaju oleju. Przykładowo w rafinowanym oleju rzepakowym główne związki lotne powstające podczas autooksydacji to: hexanal, 2,4-heptadienal, trans-2-heptenal, trans-2-pentenal i 1-penten-3-ol, których udział w sumie wszystkich związków adsorbowanych na włóknie SPME wynosił około 63 % [5].

Na rys. 1. i 2. przedstawiono przebieg zmian oksydacyjnych obrazowanych wskaźnikiem Totox oraz zawartością wybranych związków lotnych ogółem.

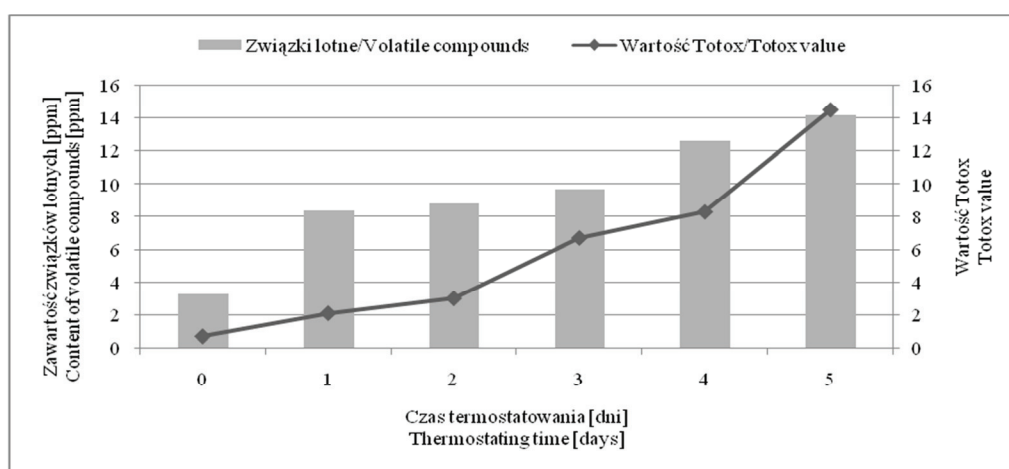


Rys. 1. Przebieg zmian wskaźnika Totox oraz zawartości związków lotnych ogółem w czasie termostatowania oleju wysokolinolenowego.

Fig. 1. Course of changes in Totox value and in content of volatile compounds during thermostating of the high linolenic oil.

W przypadku oleju wysokolinolenowego wystąpiło znaczne zróżnicowanie przebiegu krzywej zależności współczynnika Totox od czasu termostatowania. W okresie pierwszych dwóch dni nastąpił niewielki przyrost liczby nadtlenu, od 0,7 do 2,5 milirównoważników tlenu aktywnego/kg, liczby anizydynowej od 0,2 do 0,7, a współczynnik Totox wzrósł z 1,6 tylko do 5,7. Po tym czasie ilość nadtlenu zaczęła gwałtownie wzrastać. Po 5 dniach termostatowania osiągnęła ona wartość 41,7 milirównoważników tlenu aktywnego/kg, liczba anizydynowa wzrosła do 15,2 i w konsekwencji wskaźnik Totox do 98,6 jednostek. Można wyróżnić dwa etapy przebiegu procesu autooksydacji oleju wysokolinolenowego. Początkowe dwa dni to okres indukcji, w którym wskaźnik Totox zwiększał się w niewielkim stopniu. Po tym

czasie szybkość utleniania znacznie wzrosła, co skutkowało dużymi wartościami wskaźnika Totox. Odmiennie przebiegały zmiany zawartości substancji lotnych. Po początkowym silnym wzroście w pierwszym dniu termostatowania i wyraźnym po 2 dniach, pomiędzy 2. a 3. dniem był on łagodniejszy, po czym w końcowym okresie zaobserwowano ponowny silny wzrost zawartości tych związków. Przez pierwsze 24 h termostatowania ilość związków lotnych wzrosła 3-krotnie, podczas gdy liczba nadlenkowa wzrosła tylko o 25 %, a liczba anizydynowa 2-krotnie.



Rys. 2. Przebieg zmian zawartości wskaźnika Totox oraz zawartości związków lotnych w czasie termostatowania oleju niskolinolenowego.

Fig. 2. Course of changes in Totox value and in content of volatile compounds during thermostating of the low linolenic oil.

Współczynnik korelacji pomiędzy zawartością wybranych związków lotnych ogółem a wskaźnikiem oksydacji Totox  $r = 0,91$ , a z liczbą nadtlenkową  $r = 0,90$ . Jeleń i wsp. [5], analizując przebieg autooksydacji rafinowanego oleju rzepakowego w temp. 60 °C przez: 0, 2, 4, 6, 8, 10 i 12 dni, uzyskali współczynniki korelacji pomiędzy zawartością wszystkich zanalizowanych związków lotnych ogółem a wskaźnikiem Totox  $r = 0,98$ , a z liczbą nadtlenkową także  $r = 0,98$ .

Z przebiegu badanych zależności wynika, że zawartość wybranych substancji lotnych ogółem może być dobrym wskaźnikiem wczesnych zmian oksydacyjnych oleju lnianego wysokolinolenowego, czyli takich, jakie zachodzą kiedy liczba nadtlenkowa wynosi poniżej 1 milirównoważnika tlenu aktywnego/kg, a liczba anizydynowa poniżej 0,5 jednostki.

Dużo wolniej przebiegał proces autooksydacji w oleju niskolinolenowym. Przez cały okres termostatowania następował stopniowy wzrost zawartości nadtlenków, od 0,3 do 6,7 milirównoważników tlenu aktywnego/kg, liczby anizydynowej od 0,1 do



1,1, a wskaźnika Totox od 0,7 do 14,5 jednostek. Z przebiegu krzywej wynika, że proces autooksydacji nie przekroczył okresu indukcji. Zawartość związków lotnych przyrastała najszybciej w pierwszym dniu, w kolejnych trzech przyrosty były stosunkowo niewielkie, ale w ostatnich dniach znowu wyraźnie wzrastała. Przez pierwsze 24 h termostatowania ilość związków lotnych wzrosła 2,5-krotnie. W tym czasie liczba nadtlenkowa wzrosła 3,5-krotnie, liczba anizydynowa 1,5-krotnie, a wskaźnik Totox 3-krotnie. Współczynniki korelacji pomiędzy zawartością wybranych związków lotnych ogółem oraz liczbą nadtlenkową a wskaźnikiem oksydacji Totox wynosiły odpowiednio  $r = 0,89$  i  $0,88$ . W przypadku oleju niskolinolenowego wskaźniki: liczba nadtlenkowa, anizydynowa czy wskaźnik Totox w lepszym stopniu odzwierciedlają wczesne zmiany oksydacyjne aniżeli zawartość wybranych związków lotnych ogółem.

### Wnioski

1. Analiza wybranych lotnych produktów oksydacji poprzez ich mikroekstrację z fazy nadpowierzchniowej do fazy stacjonarnej (HS-SPME) w połączeniu z chromatografią gazową z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC/FID) jest metodą umożliwiającą śledzenie procesu autooksydacji wysoko- i niskolinolenowego oleju lnianego.
2. Zawartość wybranych substancji lotnych ogółem może być dobrym wskaźnikiem wczesnych zmian oksydacyjnych oleju lnianego wysokolinolenowego czyli takich, jakie zachodzą kiedy liczba nadtlenkowa wynosi poniżej 1 milirównoważnika tlenu aktywnego/kg, a liczba anizydynowa poniżej 0,5 jednostki.
3. W przypadku oleju niskolinolenowego oznaczanie wybranych związków lotnych ogółem nie jest korzystne przy określaniu jego wczesnych zmian oksydacyjnych w porównaniu z liczbą nadtlenkową, anizydynową czy wskaźnikiem Totox.
4. Dominującymi spośród wybranych lotnych związków są: 1-penten-3-ol, trans 2-pentenal, hexanal i trans,trans-2-4-decadienal, a oleju niskolinolenowego: hexanal, 1-octen-3-ol, nonanal i trans,trans-2,4-decadienal.

### Literatura

- [1] Abyzaytoun R., Shahidi F.: Oxidative stability of flax and hemp oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2006, **83**, 855-861.
- [2] Cavalli J.-F., Fernandez X., Lizzani-Couvelier L., Loiseau A.-M.: Characterization of volatile compounds of French and Spanish virgin olive oils by HS-SPME: Identification of quality-freshness markers. *Food Chem.*, 2004, **88**, 151-157.
- [3] Drozdowski B.: Lipidy. W: *Chemia żywności, sacharydy, lipidy, białka*. Red. Z. Sikorski, Wyd. V. WNT, Warszawa 2007, ss. 73-144.
- [4] Gromadzka J., Wardenecki W.: Dobór optymalnych parametrów metody UV-HS-SPME/GC/FID do oceny stabilności oksydatywnej olejów roślinnych. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 2008, **5**, (60), 235-247.

- [5] Jeleń H., Mildner-Szkudlarz S., Jasińska I., Wąsowicz E.: A headspace-SPME-MS method for monitoring rapeseed oil autooxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2007, **84**, 509-517.
- [6] Jimenez A., Beltrand G., Aguilera M.P.: Application of solid phase microextraction to the analysis of volatile compounds in virgin olive oils. *J. Chromatogr.*, 2004, **1028**, 321-324.
- [7] Kalua C.M., Allen M.S., Bedgood Jr. D.R., Bishop A.G., Robards K.: Olive oil volatile compounds, flavor development and quality: A critical review. *Food Chem.*, 2007, **100**, 273-286.
- [8] Krist S., Stuebiger E., Bail S., Unterweger H.: Analysis of volatile compounds and triacylglycerol composition of fatty seed oil from flax and false flax. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2006, **108**, 48-60.
- [9] Mannion C., Page S., Bell L.H., Verhoef M.: Components of anticancer diet: dietary recommendations, restrictions and supplements of Bill Henderson Protocol. *Review. Nutrients*, 2011, **3**, 1-26.
- [10] Mildner-Szkudlarz S., Jeleń H.H., Zawirska-Wojtasiak R., Wąsowicz E.: Application of headspace-solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation. *Food Chem.*, 2003, **83**, 515-522.
- [11] Mildner-Szkudlarz S., Zawirska-Wojtasiak R., Korczak J., Jeleń H.: A comparison of human and electronic nose response to flavour of various food products of different degree of lipid oxidation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2007, **57 (2)**, 195-202.
- [12] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej.
- [13] PN-EN-ISO 6885:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [14] Van Ruth S.M., Roozen J.P., Jansen F.J.H.M.: Aroma profiles of vegetable oils varying in fatty acid composition vs. concentrations of primary and secondary lipid oxidation products. *Food/Nahrung*, 2000, **44**, 318-322.
- [15] Wardenecki W., Michulec M., Curyło J.: A review of theoretical and practical aspects of solid-phase microextraction in food analysis. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2004, **39**, 703-717.
- [16] Wiesenborn D., Kangas N., Tostenson K., Hall III C., Chang K.: Sensory and oxidative quality of screw-pressed flaxseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2005, **82**, 887-892.

#### APPLICATION OF HS-SPME\_GC/FID METHOD TO DETECT EARLY OXIDATIVE CHANGES IN FLAX OIL

##### S u m m a r y

The objective of the research study was to assess whether or not it was possible to apply the headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography with flame-ionization detection (GC/FID) for the purpose of detecting early oxidative changes in flax oil.

The research material comprised cold pressed flax oils: high linolenic and low linolenic oil. An accelerated auto-oxidation process of oils was performed under the thermostat conditions, at a temperature of 60 °C. The contents of selected volatile compounds were determined, as were the peroxide and anisidine values, and the Totox value was calculated. It was found that the analysis of selected volatile compounds, performed by an HS-SPME\_GC/FID method and with the use of standard substances, was the method to allow the monitoring of the auto-oxidation process of high and low linolenic flax oil. The content of selected volatile compounds may be a good indicator of early oxidative changes in high linolenic flax oil. In the case of low linolenic oil, and compared to the utilization of a peroxide, anisidine, or Totox value, the measuring of selected total volatile compounds is not advantageous when determining the early oxidative changes in it.

**Key words:** flax oil, auto-oxidation, volatile compounds, HS-SPME\_GC/FID ☒