

KATARZYNA RATUSZ, MAGDALENA WIRKOWSKA

**SKUTECZNOŚĆ DZIAŁANIA PREPARATU
PRZECIWIUTLENIAJĄCEGO NA RAFINOWANE OLEJE ROŚLINNE
I ICH MATRYCE TRIACYLOGLICEROLOWE**

Streszczenie

Oleje roślinne, szczególnie zasobne w kwasy nienasycone, bardzo łatwo podlegają procesom oksydacyjnym. Jedną z metod ich ochrony jest dodatek przeciwutleniaczy.

Celem pracy było podwyższenie stabilności oksydacyjnej olejów: rzepakowego, sojowego i słonecznikowego oraz ich matryc triacyloglicerolowych poprzez zastosowanie preparatu przeciwutleniającego (mieszanki alfa tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej) w dawkach 0,02; 0,04; 0,06; 0,10 i 0,15%. Czas indukcji oceniano w aparacie Rancimat w temp. 120°C. Stwierdzono, że preparat przeciwutleniający wykazał najwyższą aktywność ochronną w przypadku oleju słonecznikowego (w dawce 0,15% wydłużył okres indukcji o 120%). Matryce TAG wszystkich olejów były bardzo dobrze chronione przez zastosowany preparat. Przy dawce 0,15% okresy indukcji TAG oleju rzepakowego, sojowego i słonecznikowego zostały wydłużone o, odpowiednio, 635, 602 i 978%.

Słowa kluczowe: autooksydacja, rafinowane oleje roślinne, matryce triacyloglicerolowe, przeciwutleniacze, test Rancimat

Wprowadzenie

Tłuszcze, będące najbardziej skoncentrowanym źródłem energii w naszym pożywieniu, w czasie przechowywania ulegają niepożądanym zmianom, których główną przyczyną są przemiany lipidów spowodowane utlenianiem [3, 6]. Na kinetykę tych procesów mają wpływ warunki w jakich reakcja przebiega (dostęp tlenu, światła, temperatura, zanieczyszczenia metalami), obecność substancji o charakterze pro- i antyoksydantów, budowa triacylogliceroli (liczba i położenie wiązań podwójnych) [5, 20, 21]. Do olejów bardzo reaktywnych, podlegających łatwo procesom autooksydacji, należą oleje zawierające polienowe kwasy tłuszczowe [10]. Kwasy te pełnią ważną

prozdrowotną rolę w organizmie człowieka. Jednak istotnym ograniczeniem w ich wykorzystaniu jest właśnie zbyt niska stabilność oksydacyjna [4, 22]. Również wartość żywieniowa tłuszczów częściowo utlenionych jest dużo mniejsza. Dlatego też tak istotną sprawą jest podwyższenie stabilności oksydacyjnej olejów. W celu ograniczenia nadmiernego utleniania tłuszczów, obok regulacji parametrów fizycznych, można stosować dodatek przeciwutleniaczy naturalnych i syntetycznych [1, 20, 23], a także kombinację obu tych grup [2]. Jednak dobór odpowiedniego przeciwutleniacza i określenie optymalnego stężenia jest trudnym problemem, rozwiązywanym najczęściej doświadczalnie w przypadku każdego rodzaju tłuszczu, z uwzględnieniem warunków, w jakich będzie on stosowany [21]. Należy tu uwzględnić także dwoistość natury przeciwutleniaczy, które w pewnych warunkach (m.in. po przekroczeniu stężenia optymalnego lub w zależności od stopnia nienasycenia kwasów tłuszczowych oleju, do którego są wprowadzane) wykazują działanie prooksydacyjne [21, 22]. Jest to szczególnie ważne w odniesieniu do olejów roślinnych również z tego powodu, że zawartość przeciwutleniaczy w oleju z surowca tłuszczowego tego samego gatunku, tej samej odmiany botanicznej, otrzymanego z upraw o zbliżonych warunkach agrotechnicznych, może być zróżnicowana [21]. Należy też uwzględnić fakt, że podczas procesów rafinacyjnych, jakim poddawane są oleje, zawartość poszczególnych przeciwutleniaczy maleje [11]. Jednak ubytek ten nigdy nie jest taki sam. Oleje po procesie rafinacji są nadal bogate w związki natywne o działaniu przeciwutleniającym (np. tokoferole, fitosterole, karotenoidy pewne węglowodory – np. skwaleń) [9]. Dodatek przeciwutleniacza może więc spowodować przekroczenie stężenia optymalnego, a tym samym skutek odwrotny od zakładanego. Dlatego dobór i dozowanie przeciwutleniaczy do olejów rafinowanych musi być prowadzone z wielką ostrożnością.

Celem niniejszej pracy było podwyższenie stabilności oksydacyjnej olejów rafinowanych powszechnie stosowanych w przemyśle spożywczym: rzepakowego, sojowego i słonecznikowego poprzez dodatek preparatu przeciwutleniającego.

Materiał i metody badań

Jako materiał badawczy zastosowano oleje rafinowane: rzepakowy, sojowy i słonecznikowy pobrane bezpośrednio z linii produkcyjnej ZPT w Warszawie. Sprawdzono ich parametry fizykochemiczne i sensoryczne, porównano z wymaganiami norm przedmiotowych [12] i uznano za przydatne do dalszych badań.

Na materiale doświadczalnym przeprowadzono następujące oznaczenia: LK [13], LOO [10, 19], LJ [15], zawartość żelaza i miedzi oraz skład kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej [16, 17]. Zastosowano aparat firmy Shimadzu GC 17A wyposażony w kolumnę kapilarną wypełnioną fazą stacjonarną BPX 70 o dł. 30 m, Ø wewnętrznej 0,22 mm i grubości filmu 0,25 µm. Jako gaz nośny stosowano azot.

Warunki rozdziału estrów metylowych kwasów tłuszczowych: temp. początkowa 60°C przez 1 min; przyrost temp. od 60 do 170°C w tempie 10°C/min; przyrost temp. od 170 do 230°C w tempie 3°C/min; temp. końcowa 230°C przez 15 min; temp. injektora 225°C, temp. detektora 250°C, całkowity czas analizy 47 min. Ponadto oznaczono stabilność oksydacyjną w aparacie Rancimat w temp. 120°C [18] i zawartość tokoferoli [7]. Przedstawione wyniki stanowią średnią z co najmniej trzech powtórzeń.

Matrycę triacyloglicerolową otrzymano przy użyciu chromatografii kolumnowej wg Fuster i wsp. [5] przepuszczając olej rozpuszczony w heksanie (1:1 v/v) przez kolumnę szklaną (wys. 40 cm, Ø 2,5 cm) wypełnioną tlenkiem glinu (250 g, neutralny, stopień aktywności 1). Do wymywania stosowano heksan w ilości 200 ml. Heksan usuwano w wyparce rotacyjnej przy obniżonym ciśnieniu, w atmosferze azotu.

W badaniach użyto handlowego preparatu przeciwutleniającego (firmy Roche), składającego się z mieszaniny alfa tokoferolu E 307 (5%), palmitynianu askorbylu E 304 (25%) i lecytyny sojowej E 322 (70%). Próbkę przygotowano przez dodanie do oleju roztworów przeciwutleniacza w heksanie po czym rozpuszczalnik usuwano przez przedmuchiwanie azotem. Koncentracja preparatu w próbach wynosiła: 0,02; 0,04; 0,06; 0,10; 0,15%.

Zmiany oksydacyjne olejów określano za pomocą testu przyspieszonego utleniania metodą Rancimat [18]. Badane oleje przedmuchiwano oczyszczonym powietrzem (20 l/h) w temp. 120°C i określano czas [h] indukcji olejów.

Wyniki i dyskusja

Dane dotyczące cech fizykochemicznych badanych olejów oraz ich matryc triacyloglicerolowych zamieszczono w tab. 1.

Podsumowując charakterystykę olejów rafinowanych i ich matryc stwierdzono, że materiał był dobrej jakości i mógł być zastosowany do dalszych badań. Matryce zostały prawie całkowicie pozbawione składników pro- i antyoksydacyjnych. Podatność olejów na utlenianie w dużym stopniu zależy od składu kwasów tłuszczowych. Jednocześnie skuteczność działania przeciwutleniaczy może być bardzo zróżnicowana, na przykład w zależności od stopnia nienasycenia kwasów tłuszczowych oleju, do którego są wprowadzane [21]. Dlatego też określono skład kwasów tłuszczowych badanych olejów, a wyniki oznaczeń przedstawiono w tab. 2.

Porównując uzyskane wyniki z danymi literaturowymi [8] stwierdzono dużą zgodność wartości. Pewne różnice mogą wynikać z różnic w samym materiale pobranym do analiz (np. odmianowych).

Tabela 1

Charakterystyka chemiczna badanych olejów rafinowanych i ich matryc triacyloglicerolowych.
Chemical characteristics of fully refined oils and their triacyloglycerols matrixes.

Parametry jakościowe Quality parameters	Oleje / Oils					
	rzepak / rapeseed		soja / soybean		słonecznik/sunflower	
	olej / oil	matryca TAG	olej / oil	matryca TAG	olej / oil	matryca TAG
Liczba kwasowa / Acid value [mg KOH/g oleju]	0,11± 0,01	0,13± 0,01	0,15± 0,02	0,15± 0,01	0,12± 0,01	0,15± 0,02
Liczba nadtlenkowa / Peroxide value [mmole O ² - ₂ /kg oleju]	0,21± 0,01	0,32± 0,02	0,16± 0,01	0,17± 0,01	0,29± 0,03	0,34± 0,03
Liczba jodowa / Iodine value [mg J ₂ /100g]	118 ± 7		132 ± 6		136 ± 5	
Zawartość [mg/kg] / Content Fe Cu	<0,1 <0,01	<0,1 <0,001	0,38±0,02 <0,01	0,18±0,01 <0,001	1,70±0,03 <0,01	0,1±0,00 <0,001
Zaw. tokoferoli / Tocopherols [mg/100g] δ β + γ α	1,5±0,1 25,6±0,2 17,1±0,1	0,0 2,0±0,1 0,0	16,2±0,1 38,0±0,3 8,6±0,1	0,0 0,0 0,0	0,9±0,1 2,2±0,1 32,4±0,1	0,0 0,0 1,1±0,1

Wyniki są średnią z 3 prób / Average results for 3 samples; (±) – odchylenie standardowe / standard deviation.

W kolejnej fazie badań określono skuteczność działania preparatu przeciwutleniającego w stosunku do olejów i ich matryc triacyloglicerolowych. Stwierdzono, że już dodatek 0,02% preparatu spowodował wydłużenie czasu indukcji. Największą zmianę odnotowano w oleju słonecznikowym - o 31%, a w oleju rzepakowym o 22%. W przypadku oleju sojowego wzrost stabilności był dużo mniejszy i wyniósł 0,07 h tj. 1,6%. Kolejne zwiększenie dawki preparatu do 0,04 i 0,06% nie spowodowało już tak dużych zmian, chociaż były one nadal istotne (rys. 1). Wzrost stężenia do 0,10% spowodował istotne wydłużenie czasu indukcji wszystkich trzech olejów. Stabilność olejów rzepakowego i słonecznikowego zwiększyła się do około 180%, a oleju sojowego do 140%. Zastosowanie maksymalnej analizowanej dawki preparatu przeciwutleniającego spowodowało największy wzrost stabilności olejów (rys. 1, tab. 3). To zróżnicowane działanie przeciwutleniacza na poszczególne oleje można tłumaczyć zmiennością składu kwasów tłuszczowych, zwłaszcza stopniem nienasycenia. Na podstawie uzyskanych wyników można dodać także prawdopodobieństwo wzajemnych oddziaływań pomiędzy związkami frakcji nieglicerydowej a dodanymi przeciwutleniaczami [9, 10, 21].

Tabela 2

Zawartość kwasów tłuszczowych w olejach.
Fatty acid content in oils.

Kwas tłuszczowy Fatty acid	Zawartość w oleju / content in oil [%]		
	rzepak / rapeseed	soja / soybean	słonecznik / sunflower
14:0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
16:0	4,8 ± 0,1	9,3 ± 0,1	6,8 ± 0,1
16:1	0,3 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1
17:0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	-
17:1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	-
18:0	3,7 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,2 ± 0,1
18:1 cis9	54,6 ± 0,3	26,8 ± 0,2	30,6 ± 0,2
18:1 cis11	3,4 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,0 ± 0,1
18:2 trans	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1
18:2 cc	19,0 ± 0,1	45,1 ± 0,1	55,0 ± 0,3
18:3 trans	0,4 ± 0,1	0,7 ± 0,3	0,1 ± 0,1
18:3 ccc	8,5 ± 0,1	8,5 ± 0,1	1,2 ± 0,1
20:0	0,6 ± 0,1	1,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1
20:1	2,0 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,1
20:2	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	-
22:0	0,1 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1
22:1	1,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,1 ± 0,1
24:0	0,2 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,1
24:1	0,2 ± 0,1	-	-

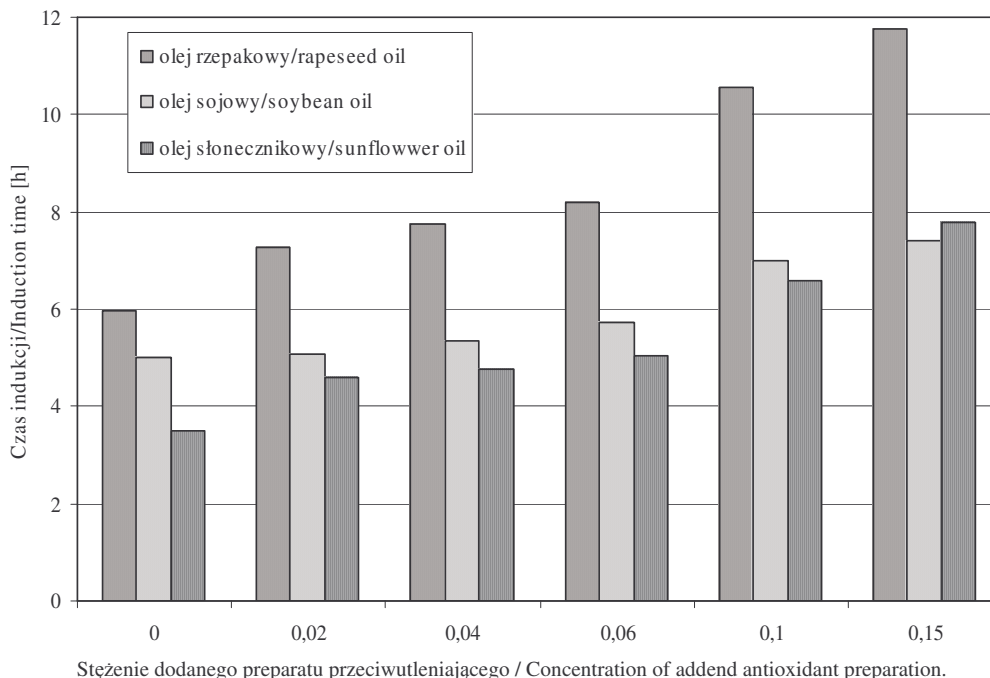
Wyniki są średnią z 3 prób / Average results for 3 samples; (±) – odchylenie standardowe / standard deviation.

Tabela 3

Procentowa zmiana czasu indukcji olejów i ich matryc triacyloglicerolowych.
Percentage changes of induction times of oils and their triacyloglycerols matrixes.

Dawka przeciwutl Antioxidant dose [%]	Zmiana czasu indukcji [%] Changes of induction times [%]					
	rzepak / rapeseed		soja / soybean		słonecznik / sunflower	
	olej / oil	matryca TAG	olej / oil	matryca TAG	olej / oil	matryca TAG
0,00	100	100	100	100	100	100
0,02	122±2	116±2	102±2	138±2	131±2	235±2
0,04	131±2	206±6	107±2	218±2	136±2	370±2
0,06	138±2	305±6	115±2	304±3	144±2	496±5
0,10	178±3	493±8	140±2	488±5	187±2	770±7
0,15	198±3	635±11	148±3	602±5	222±2	978±14

Wyniki są średnią z 3 prób / Average results for 3 samples; (±) – odchylenie standardowe / standard deviation



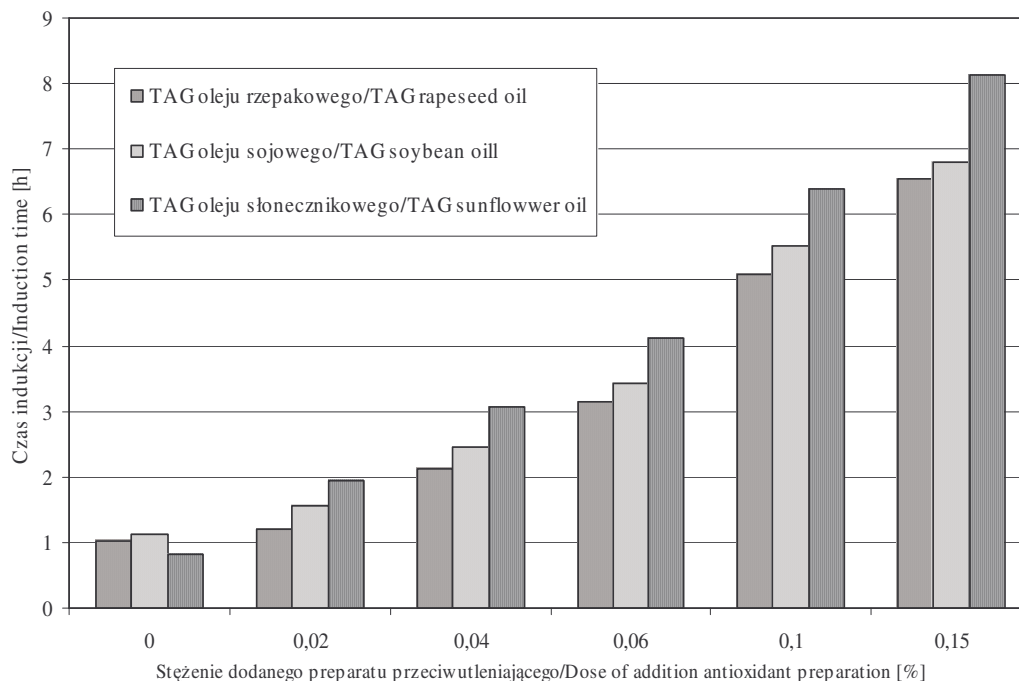
Rys. 1. Czas indukcji olejów z dodatkiem przeciwutleniacza.

Fig. 1. Induction time of oils with antioxidant.

Analogiczne badania wykonano w przypadku matryc triacyloglicerolowych. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 2.

Analizując dane zawarte w tab. 3. i na rys. 2. stwierdzono bardzo silne działanie ochronne preparatu przeciwutleniającego na wszystkie badane matryce. W dawce 0,02%, w największym stopniu zwiększył stabilność matrycy oleju słonecznikowego (o 135%). W tym stężeniu preparat najslabiej działał na matrycę oleju rzepakowego, ale już w wyższych dawkach jego działanie na matryce oleju rzepakowego i sojowego było podobne (tab. 3). Stwierdzono dużo większy wpływ przeciwutleniacza na matryce triacyloglicerolowe niż na macierzyste oleje rafinowane. Prawdopodobnie podczas izolacji w kolumnie chromatograficznej zaadsorbowane zostały, prócz oznaczonych w pracy metali i tokoferoli jako przedstawicieli odpowiednio pro- i antyoksydantów natywnych rodzimych olejów, także tokotrienole, karotenoidy, sterole i ich formy utlenione (które mogły powstać w procesie odwaniania), skwalen i jego pochodne. Jak wskazują wyniki pracy związki te mogły mieć istotny wpływ na szybkość oksydacji tłuszczów. Wydaje się, że dalsza analiza tych związków, ich wzajemne oddziaływanie i zachowanie się w środowisku mogą być przedmiotem dalszych badań, a ich wyniki

mogą przyczynić się do zwiększenia stabilności olejów rafinowanych, np. przez modyfikację procesu rafinacji.



Rys. 2. Czas indukcji matryc olejów z dodatkiem przeciwutleniacza.

Fig. 2. Induction time of triacylglycerols matrixes with antioxidant.

Porównując wpływ badanego przeciwutleniacza na oleje rafinowane i ich matryce triacyloglicerolowe (tab. 3) stwierdzono największy wpływ przeciwutleniacza zarówno na olej, jak i matrycę oleju słonecznikowego. W dawce 0,15% wydłużył on czas indukcji oleju ponad 2-, a jego matrycy prawie 10-krotnie. W podobnym stopniu zwiększał stabilność oleju słonecznikowego i rzepakowego, a w przypadku matryc triacyloglicerolowych – matrycy rzepakowej i sojowej (tab. 3).

Wnioski

1. Badany preparat przeciwutleniający (mieszanka alfa tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej) zwiększa stabilność wszystkich badanych olejów rafinowanych: rzepakowego, sojowego i słonecznikowego
2. Wśród badanych olejów najwyższą ochronę przeciwutleniającą preparat wykazał w stosunku do oleju słonecznikowego. W maksymalnej analizowanej dawce (0,15%) przedłużył czas indukcji utleniania oleju słonecznikowego o ponad 120%.

3. Wydłużenie okresu indukcji matryc triacyloglicerolowych było wielokrotnie większe niż macierzystych olejów. W maksymalnej dawce preparat przeciwutleniający przedłużył czas indukcji matrycy oleju rzepakowego i sojowego 6-, a matrycy oleju słonecznikowego prawie 10-krotnie.

Literatura

- [1] Bandarra N., Campos R., Batista L., Nunes M., Empis J.: Antioxidant synergy of α -tocopherol and phospholipids. from rosemary and sage. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1999, **76**, 905-913.
- [2] Coppen P.P: The use of antioxidants. In: Rancidity in foods. Ed. by J.C. Allen and R. J. Hamilton. Elsevier Applied Science. London, pp. 83-104.
- [3] Drozdowski B.: Lipidy. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności (red. Z. Sikorski). WNT. Warszawa 1994, s. 167-233.
- [4] Eldin A.K., Yanishlieva N.V.: N-3 fatty acid for human nutrition: stability considerations. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2002, **104**, 625-636.
- [5] Fuster M.D., Lampi A.M., Hopia A., Kamal-Eldin A.: Effects of α - and γ - tocopherols on the autoxidation of purified sunflower triacyloglycerols. *Lipids*, 1998, **33**, 7, 715-722.
- [6] Głód B.K., Kowalski C.: Wolne rodniki i stres oksydacyjny. Postępy w technologii tłuszczów roślinnych. XIII Międzyn. Konf. Nauk. Szczyrk 2005, s. 1-10.
- [7] ISO 9936:1997. Animal and vegetable fats and oils. Determination of tocopherols and tocotrienols contents. Method using high-performance liquid chromatography.
- [8] Kowalski B.: Evaluation of activities of antioxidants in rapeseed oil matrix by pressure differential scanning calorimetry. *Thermochim. Acta*, 1993, **213**, 135-146.
- [9] Małecka M.: Składniki frakcji nieglicerydowej olejów roślinnych jako przeciwutleniacze. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, **30**, 123-130.
- [10] Mińkowski K., Jerzewska M., Ropelewska M.: Skuteczność działania przeciwutleniaczy w olejach roślinnych i matrycach triacyloglicerolowych bogatych w kwas alfa i gamma linolenowy. *Tłuszcze Jadalne*, 2004, **39**, 224-235.
- [11] Płatek T., Węgrowski J., Krygier K.: Wpływ procesów rafinacyjnych na stabilność oleju rzepakowego. Cz. IV. Proces odwaniania. *Tłuszcze Jadalne*, 1998, **33**, 100-113.
- [12] PN-A-86908:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Rafinowane oleje roślinne.
- [13] PN-ISO 660:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [14] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby nadtlencowej.
- [15] PN-ISO 3961:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby jodowej.
- [16] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [17] PN-EN ISO 5509:2001. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [18] PN-ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie stabilności oksydacyjnej (test przyspieszonego utleniania).
- [19] Ratusz K., Kowalski B., Bekas W., Wirkowska M.: Monitorowanie autooksydacji oleju rzepakowego i słonecznikowego. *Rośliny Oleiste*, 2005, **XXVI**, 211-220.
- [20] Szukalska E.: Przeciwutleniacze i ich rola w opóźnianiu niepożądanych przemian tłuszczów spowodowanych utlenianiem. *Żyw. Człow. Metab.*, 1999, **26**, 1, 81-86.

- [21] Szukalska E.: Wybrane zagadnienia utleniania tłuszczów. *Tuszcze Jadalne*, 2003, **1/2**, 42-61.
- [22] Wagner K., Elmadfa I.: Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2000, **102**, 624-629.
- [23] Yanishlieva V.N., Marinova E.M.: Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci., Technol.*, 2001, **103**, 752-767.

EFFECTIVENESS OF ANTIOXIDANT PREPARATION EFFECT ON FULLY REFINED VEGETABLE OILS AND THEIR TRIACYLOGLICEROLS MATRIXES

S u m m a r y

Vegetable oils, especially rich in polyunsaturated acid become subject to oxidation processes very easily. One of the methods of increasing their oxidative stability is introducing antioxidants. The aim of this study was to improve an oxidative stability of rapeseed, soybean and sunflower oils and their triacylglycerols matrixes by utilization of antioxidants preparation (mixture of alpha tocopherol, ascorbyl palmitate and soybean lecithin) in doses 0,02; 0,04; 0,06; 0,10 and 0,15%. Induction time was measured by Rancimat method in 120°C. It was proved that addition of antioxidant preparation was the most effective in sunflower oil: (in dose 0,15% caused lengthening of induction period by 120%). The purified TAG of all oils were very well protected by preparation. In dose 0,15% induction period of TAG rapeseed, soybean and sunflower oils were increased by 635, 602 and 978% respectively.

Key words: autooxidation, vegetable oils, triacylglycerols, antioxidant, Rancimat ☒