

KAROL MIŃKOWSKI, ARTUR KALINOWSKI, ANNA KRUPSKA

**WPLYW ENZYMATYCZNEJ I HYDROTERMICZNEJ OBRÓBK
NASION ORAZ DODATKU PRZECIWUTLENIACZA I WITAMINY E
NA STABILNOŚĆ OLEJU LNIANEGO W CZASIE
PRZECHOWYWANIA**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu obróbki enzymatycznej i hydrotermicznej nasion oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na stabilność oleju lnianego w trakcie przechowywania. Materiałem wyjściowym były nasiona lnu wysokolinolenowej odmiany „Bukoz”. Nasiona poddawano obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej w temp. 50 °C przez 3 h. Stosowano mieszaninę enzymów: celulazę i proteazę w postaci preparatów Celluclast 1.5 L i Alcalase 2.4. Olej tłoczono na zimno w prasie ślimakowej i oczyszczano przez naturalną sedimentację i dekantację. Jako przeciwutleniacz stosowano mieszaninę α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej, a jako witaminę E – octan dl- α -tokoferylu. Oleje przechowywano w brązowych butelkach szklanych, w warunkach chłodniczych, w temp. 6 °C przez 6 miesięcy. Badaniom poddano oleje pochodzące z nasion: bez obróbki, po obróbce oraz po obróbce z dodatkiem przeciwutleniacza i witaminy E. W olejach oznaczono: stopień hydrolizy, pierwotny i wtórny stopień utlenienia lipidów oraz wykonano ich ocenę sensoryczną. Ustalono, że obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion lnu przed tłoczeniem na zimno wywarła korzystny wpływ na stabilność oleju w trakcie 6-miesięcznego przechowywania w warunkach chłodniczych. Ogólny stopień utlenienia oleju na koniec okresu przechowywania, określony za pomocą wskaźnika Totox, nie przekraczał 10 jednostek, wyznaczających dobrą jakość olejów jadalnych. Stwierdzono, że obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion spowodowała znaczne zmiany w charakterystyce sensorycznej oleju, w którym wystąpiła intensywna nuta „skórki od chleba”. W trakcie przechowywania nastąpiło zmniejszenie intensywności tej nuty oraz wzrost intensywności nuty „utlenionej” i „gorzkiej”, a końcowa ocena smakowitości ogółem oleju była na granicy akceptacji i wynosiła 6 pkt w skali 10-punktowej. Dodatek przeciwutleniacza w ilości 150 mg/kg opóźnił pierwotne i wtórne procesy oksydacyjne a także ograniczył niekorzystne zmiany sensoryczne. Dodatek octanu dl- α -tokoferylu w ilości 400 mg/kg do oleju pozwolił na uzyskanie zalecanej wartości współczynnika Harrisa (0,6).

Słowa kluczowe: nasiona lnu, obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna, olej lniany, przechowywanie

Dr hab. inż. K. Mińkowski, prof. nadzw., mgr inż. A. Kalinowski, mgr inż. A. Krupska, Zakład Technologii Mięsa i Tłuszczu, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa. Kontakt: Karol.Minkowski@jbprs.pl

Wprowadzenie

Olej lniany jest bogatym źródłem kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3*, o specyficznych cechach prozdrowotnych [5]. Olej pozyskiwany jest zwykle metodą tłoczenia na zimno całych nasion. Technologia ta jest mało efektywna i charakteryzuje się niską wydajnością [7]. Enzymatyczna i hydrotermiczna obróbka nasion przed tłoczeniem na zimno przyczynia się do wyraźnej poprawy stopnia wydobywania oleju a także zwiększenia zawartości naturalnych antyoksydantów, takich jak tokoferole i związki fenolowe [21, 22]. W procesie tym dostęp do substratu mogą mieć jednak nie tylko enzymy dodane, ale także natywne, takie jak lipaza, peroksydaza, fosfolipaza, lipooksygenaza, co sprzyja zachodzeniu niekorzystnych reakcji enzymatycznych [1, 8]. Łatwy dostęp tlenu atmosferycznego w trakcie procesu sprzyja utlenianiu oleju. Czynniki te mogą mieć wpływ na jego stabilność, czyli odporność na niekorzystne zmiany parametrów chemicznych i cech sensorycznych, począwszy od etapu pozyskania aż do momentu konsumpcji. Zmiany te mogą się pojawiać już w procesie wydobywania oleju i później w czasie jego oczyszczania, pakowania oraz przechowywania, przed zakupem i u konsumenta. Powstają one na skutek hydrolizy, autooksydacji i/lub utleniania fotosensybilizowanego. Procesy hydrolityczne wymagają obecności wody i przebiegają na drodze reakcji chemicznych, a także mogą zachodzić wskutek aktywności enzymów natywnych, pozostających po tłoczeniu olejów na zimno oraz drobnoustrojów o aktywności lipolitycznej. Ich negatywnym skutkiem jest wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych a także mono- i diacylogliceroli [5]. W wyniku oksydacyjnych przemian tłuszczów powstają nadtlenki i bardzo reaktywne rodniki, które inicjują wiele procesów obniżających jakość żywności poprzez degradację wielu witamin i innych związków biologicznie czynnych oraz zmiany cech sensorycznych. Są one szkodliwe dla zdrowia, gdyż w organizmie człowieka biorą udział m.in. w procesie kancerogenezy, mutagenezy oraz starzenia się [2, 5]. O szybkości utleniania decyduje stopień nienasylenia oleju, zawartość jonów metali proutleniających, barwników, tokoferoli, fosfolipidów, mono- i diacylogliceroli, związków fenolowych oraz czynników zewnętrznych, takich jak: dostęp tlenu, światła, temperatura i czas przechowywania [20]. Olej lniany powinien być przechowywany w warunkach chłodniczych, a jego trwałość może być podwyższona poprzez dodatek substancji o właściwościach przeciwutleniających [5, 6, 18]. Spożywanie oleju lnianego o znacznej zawartości polienowych kwasów tłuszczowych wymaga jednak jego zabezpieczenia przed utlenianiem wewnątrzustrojowym za pomocą dodatku witaminy E [5, 9]. W badaniach świeży olej lniany, otrzymany z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej, zabezpieczono przed nadmiernym utlenianiem w czasie przechowywania poprzez dodatek przeciwutleniacza w postaci mieszaniny α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny, a ochronę po-

lienowych kwasów tłuszczowych w organizmie człowieka – poprzez dodatek witaminy E w postaci octanu dl- α -tokoferylu.

Celem pracy było określenie wpływu obróbki enzymatycznej i hydrotermicznej nasion oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na stabilność oleju lnianego tłoczzonego na zimno w trakcie przechowywania w warunkach chłodniczych.

Material i metody badań

Materiałem wyjściowym były nasiona lnu wysokolinolenowej odmiany „Bukoz” (IWNiRZ, Poznań) pochodzące z upraw ekologicznych, ze zbiorów roku 2013. Nasiona były zdrowe, nieuszkodzone, pozbawione zanieczyszczeń i charakteryzowały się typową wilgotnością (6,0 %) oraz zawartością tłuszczu (41,9 %). Nasiona poddawano płatkowaniu w młynie laboratoryjnym typu Gosmet wg Sadkiewicza (RSZZBM Gosmet, Bydgoszcz), wyposażonym w parę gładkich walców ze stałą szczeliną pomiędzy nimi o wielkości 0,2 mm. Uzyskane płatki nawilżano do wilgotności 20 % i poddawano obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej w temp. 50 °C przez 3 h. Stosowano mieszaninę enzymów: celulazę i proteazę w postaci preparatów handlowych odpowiednio: Celluclast 1.5 L, oraz Alcalase 2.4 L (Novozymes, Bagsvaerd, Dania) w proporcji 10 : 90, w ilości 0,25 % suchej masy beztłuszczowej (smb) nasion. Inkubację płatków prowadzono w cieplarni laboratoryjnej typu Incubat 801 (Selecta, Barcelona, Hiszpania). Płatki po inkubacji podsuszano w suszarce owiewowej typu DA 750, (Rommelsbacher, Dinkelsbühl, Niemcy). Temperatura powietrza suszącego wynosiła 60 °C, temperatura wewnętrzna złoża płatków na półce – 44,5 °C, a przybliżony czas podsuszania do wilgotności 8,5 % to około 50 min. Olej tłoczono w prasie ślimakowej, typ UNO-SE (Farmet, Česká Skalice, Czechy). Poddawano go naturalnej sedymentacji w warunkach chłodniczych w temp. 6 °C przez 3 dni, a następnie dekantacji. Jako przeciwutleniacz stosowano mieszaninę α -tokoferolu (5 %), palmitynianu askorbylu (25 %) i lecytyny sojowej (70 %), w ilości 150 mg/kg (preparat handlowy Ronoxan A, DSM Nutritional Products, Polska). Olej wzbogacano w witaminę E poprzez dodatek octanu dl- α -tokoferylu w ilości 400 mg/kg (Sigma-Aldrich Poznań, Polska).

Badaniom przechowalniczym poddawano:

- olej z nasion bez obróbki (próba kontrolna),
- olej z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej,
- olej z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej, z dodatkiem przeciwutleniacza oraz witaminy E.

Oleje rozlewano do brązowych butelek szklanych o poj. 100 cm³. Próbkę przechowywano przez 6 miesięcy w warunkach chłodniczych, w temp. 6 ± 0,5 °C, bez dostępu światła (komora chłodnicza). Analizy chemiczne wykonywano w oleju świeżym oraz po 1, 2, 3, 4, 5 i 6 miesiącach, a ocenę sensoryczną – w oleju świeżym oraz po 3 i 6 miesiącach. Kolejne butelki z próbkami otwierano przed analizami, a następnie

wykluczano z dalszego badania. Zmiany chemiczne olejów określano poprzez oznaczanie liczby kwasowej (LK) [10], nadtlenukowej (LOO) [12] i anizydynowej (LA) [13] oraz wyliczanie wskaźnika oksydacji Totox (2LOO + LA), a zmiany sensoryczne – poprzez ocenę smakowości ogółem metodą punktową (w skali 5-punktowej) oraz profilową analizę sensoryczną, w której oceniano intensywność nut: orzechowej, gorzkiej, „skórki od chleba” i utlenionej za pomocą jednostek umownych (j.u.). W opracowaniu graficznym, dla ułatwienia porównań z oceną smakowości ogółem, stosowano skalowanie w zakresie 10 j.u. (wynik oceny mnożono przez 2). Ocenę przeprowadzał 5 - 6 osobowy zespół oceniający w Pracowni Sensorycznej, mający doświadczenie w przeprowadzaniu oceny olejów tłoczonych na zimno, przy użyciu skomputeryzowanego systemu zbierania danych ANALSENS. W olejach świeżych po tłoczeniu oznaczano także zawartość wody i substancji lotnych metodą wagową [11] oraz skład kwasów tłuszczowych – metodą chromatografii gazowej [14]. Do rozdzielania estrów stosowano kolumnę kapilarną BPX 70 (SGE, Ringwood, Australia). Wzrost temperatury kolumny zaprogramowano w następujący sposób: 140 °C (1 min), 10 °C/min do 165 °C (1 min), 0,5 °C/min do 180 °C (2 min), 1°C/min do 210 °C (2 min). Ponadto oznaczano zawartość związków fenolowych ogółem metodą Folina-Ciocalteu’a [19] oraz zawartość tokoferoli metodą chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych z detekcją spektrofotometryczną [15]. Stosowano kolumnę Supelcosil LC-18 (Supelco, Bellefonte, USA). Parametry pracy były następujące: temp. 30 °C, przepływ fazy ruchomej (metanol : woda, 97 : 3) 1ml/min. Oznaczano homologi α , γ i δ przy długości fali $\lambda = 292$ nm. Zawartość ekwiwalentu witaminy E (C_E) wyliczano z równania:

$$C_E = C_1 + 0,1C_2 + 0,01C_3$$

gdzie: C_1 – zawartość homologu α -T [mg/100 g], C_2 – zawartość homologu γ -T [mg/100 g], C_3 – zawartość homologu δ -T [mg/100 g]. Współczynnik Harrisa wyliczono jako stosunek zawartości ekwiwalentu witaminy E [mg] do zawartości polienowych kwasów tłuszczowych [g] w 100 g oleju.

Doświadczenia przeprowadzono w dwóch seriach, a oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach ($n = 2 \times 3$). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statgraphics Plus 4.1 z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu Duncana przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wyniki badań wybranych cech jakościowych olejów wyjściowych w poszczególnych wariantach doświadczeń. Oleje, pomimo odmiennego przygotowania surowca, charakteryzowały się bardzo dobrą smakowością ogółem. Ich oceny punktowe były zbliżone i zawierały się w zakresie $4,4 \div 4,6$ pkt. Różniły się

one jednak wyraźnie pod względem dominujących nut smakowych. W oleju wytłoczonym z nasion bez obróbki wstępnej dominowała nuta orzechowa, natomiast w oleju pozyskanym z nasion po obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej – nuta „skórki od chleba”. Łagodna nuta orzechowa, bez cech gorzkości i posmaku utlenionego, zwykle dominuje w olejach świeżo wytłoczonych z nasion [18, 23]. Nuta „skórki od chleba” jest charakterystyczna dla oleju lnianego tłoczonego na zimno z płatków poddawanych obróbce hydrotermicznej [7]. Jest ona prawdopodobnie skutkiem reakcji Maillarda inicjowanych przez bezpośrednią reakcję grupy karbonylowej bądź hemiacetalowej cukrów redukujących z grupą aminową aminokwasów, peptydów, lub innych związków i tworzeniem się m.in. lotnych związków o małych masach cząsteczkowych, nadających produktom charakterystyczny aromat [24]. Substraty tych reakcji występują w masie beztłuszczowej nasion lnu. Obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion różnicowała oleje pod względem wielkości liczb charakterystycznych (tab. 1). Olej z nasion poddanych obróbce miał wyższą o 11 % liczbę kwasową (2,17 mg KOH/1 g), zawierał o 40 % więcej pierwotnych produktów utlenienia, określanymi jako liczba nadtlenkowa (1,36 meq O₂/kg) oraz o 7 % więcej wtórnych produktów utlenienia, wyrażonych jako liczba anizydynowa (0,30). Wyższa kwasowość oleju wynika prawdopodobnie z ułatwionego, wskutek działania celulazy i proteazy, dostępu rodzimych enzymów lipolitycznych do substratu w czasie obróbki a także z powodu zwiększonej zawartości wody, katalizującej proces hydrolizy chemicznej [5]. Łatwiejszy dostęp tlenu atmosferycznego oraz natywnej lipooksygenazy mogły się przyczynić do wzrostu zawartości nadtlenczków [1, 20]. Przy wyższych wartościach liczby nadtlenkowej w oleju pojawiło się nieznacznie więcej wtórnych produktów oksydacji.

Tabela 1. Charakterystyka olejów użytych do badań przechowalniczych
Table 1. Profile of oils used in research related to storage

Wyszczególnienie Specification	Rodzaj oleju / Type of oil		
	z nasion bez obróbki (próba kontrolna) from seeds without treatment (control sample)	z nasion po obróbce from seeds after treat- ment	z nasion po obróbce + przeciwutleniacz + wit.E / from seeds after treatment + antioxidant + vit. E
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Smakowitość ogółem [pkt] Overall palatability [score]	4,4	4,6	4,5
Dominująca nuta smakowa Dominant flavour note	lekko orzechowa bez cech gorzkości light nutty without bitterness	nuta „skórki od chleba” „crust of bread” note	nuta „skórki od chleba” „crust of bread” note
Liczba kwasowa Acid value [mg KOH/g]	1,95 ^A ± 0,04	2,17 ^B ± 0,05	2,17 ^B ± 0,05

Liczba nadtlenkowa Peroxide value [meq O ₂ /kg]	0,83 ^A ± 0,05	1,36 ^B ± 0,06	1,36 ^B ± 0,06
Liczba anizydynowa Anisidine value [-]	0,28 ^A ± 0,02	0,30 ^B ± 0,02	0,30 ^B ± 0,02
Wskaźnik Totox Totox index [-]	1,94 ± 0,05	3,02 ± 0,06	3,02 ± 0,06
Zawartość wody i substancji lotnych / Content of water and volatile substances [%]	0,37 ^A ± 0,02	0,41 ^B ± 0,02	0,41 ^B ± 0,02
Zawartość związków fenolowych ogółem Total content of phenolic compounds [mg/kg]	14,1 ^A ± 0,6	15,6 ^B ± 0,7	15,6 ^B ± 0,7
Zawartość tokoferoli ogółem Total content of tocopherols [mg/kg] w tym: / including:	496,0 ^A ± 14,7	522,4 ^B ± 15,8	929,9 ^C ± 16,9
α-tokoferol / α-tocopherol	3,9 ^A ± 0,2	4,0 ^A ± 0,3	11,5 ^B ± 0,3
γ-tokoferol / γ-tocopherol	479,2 ^A ± 15,6	505,7 ^B ± 16,2	505,7 ^B ± 16,2
δ-tokoferol / δ-tocopherol	12,9 ^A ± 0,3	12,7 ^B ± 0,3	12,7 ^B ± 0,3
octan dl-α-tokoferylu	-	-	400,0 ± 0,2
dl-α-tocopheryl acetate	-	-	-
Ekwiwalent witaminy E Vitamin E equivalent [mg/100g]	5,2	5,5	46,2
Zawartość polienowych kwasów tłuszczowych Content of PUFA [%]	74,6 ^A ± 1,1	74,4 ^A ± 1,6	74,4 ^A ± 1,6
Współczynnik Harrisa Harris coefficient	0,1	0,1	0,6

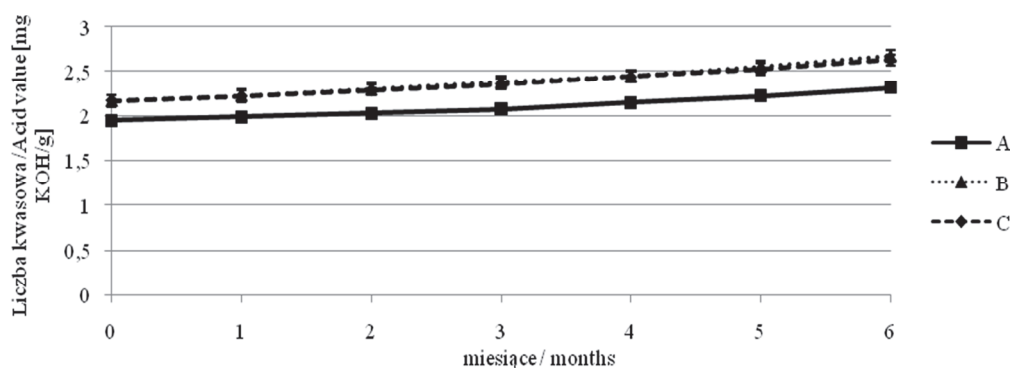
Objaśnienia / Explanatory notes:

\bar{x} – wartość średnia / mean value; s / SD – odchylenie standardowe / standard deviation; n = 6 (3 × 2);
wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie (p ≤ 0,05) /
mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly (p ≤ 0.05).

Wartości liczb charakterystycznych olejów użytych do badań przechowalniczych były znacznie niższe niż maksymalne limity dla olejów tłoczonych na zimno (LK ≤ 4 mg KOH/g, LOO ≤ 15 meq. O₂ /kg), wymienione w Codex Stan 210 [4]. Podwyższona zawartość wody (0,41 %) w oleju pochodzącym z nasion poddanych obróbce mogła sprzyjać zwiększonemu przechodzeniu związków fenolowych o naturze hydrofilowej [25], których było o 11 % więcej (zwiększenie zawartości z 14,1 do 15,6 mg/kg). Związki fenolowe pełnią funkcje naturalnych przeciwutleniaczy i wywierają znaczący, pozytywny wpływ na stabilność oksydacyjną olejów [20]. Olej z nasion po obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej zawierał o około 4 % więcej tokoferoli, związków o silnych właściwościach przeciwutleniających [5]. Wiadomo jest, że

w miarę głębszego wydobycia oleju wzrasta w nim zawartość substancji niezmydlających, w tym tokoferoli [8]. Trzecim olejem poddanym badaniom przechowalniczym był olej z nasion po obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej z dodatkiem przeciwutleniacza i witaminy E. Ich dodatek miał wpływ na skład i zawartość tokoferoli. Nastąpił wzrost zawartości tokoferoli ogółem, w tym α -tokoferolu (z 4,0 do 11,5 mg/kg) oraz octanu dl-alfa-tokoferylu, który jako dodany pojawił się w składzie. Obróbka nasion oraz zastosowane substancje dodatkowe nie miały istotnego wpływu na zawartość polienowych kwasów tłuszczowych (α -linolenowego i linolowego) w olejach wyjściowych. Dodatek octanu dl-alfa tokoferylu w ilości 400 mg/kg pozwolił na uzyskanie zalecanego stosunku zawartości ekwiwalentu witaminy E [mg] do zawartości polienowych kwasów tłuszczowych [g] w 100 g oleju (współczynnik Harrisa), który powinien wynosić 0,6 [5, 9].

Oleje przechowywano przez 6 miesięcy w warunkach chłodniczych. Przebieg zmian chemicznych olejów, określonych za pomocą liczb charakterystycznych, przedstawiono na rys. 1 - 3.

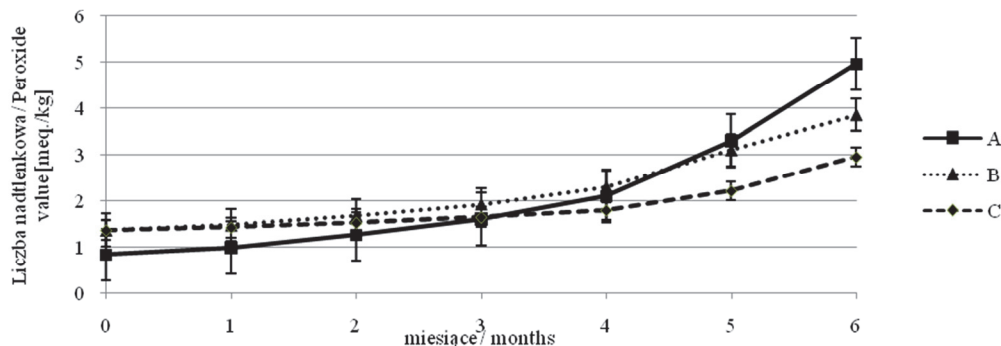


Objaśnienia / Explanatory notes:

A – olej z nasion bez obróbki / oil from seeds without pretreatment; B – olej z nasion po obróbce / oil from seeds after pretreatment; C – olej z nasion po obróbce z dodatkiem przeciwutleniacza i witaminy E / oil from seeds after pretreatment with antioxidant and vitamin E added. Wykresy B i C pokrywają się / Graphs B and C are overlap.

Rys. 1. Wpływ obróbki wstępnej nasion lnu oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na liczbę kwasową oleju

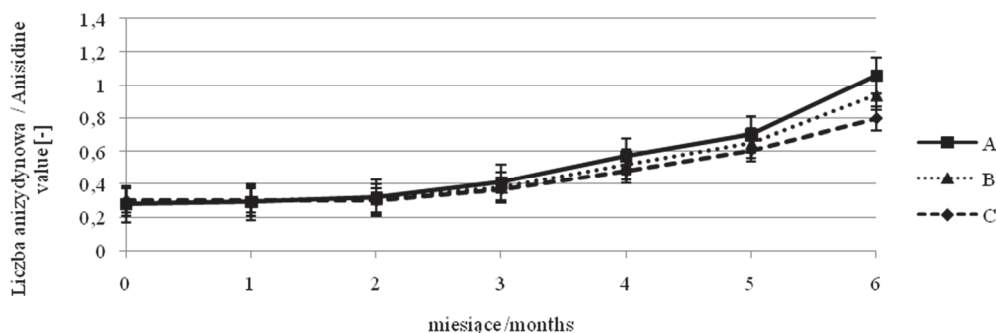
Fig. 1. Effect of pre-treatment of flaxseeds and of adding antioxidant and vitamin E on acid value of oil



Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Wpływ obróbki wstępnej nasion lnu oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na liczbę nad-tlenkową oleju

Fig. 2. Effect of pre-treatment of flaxseeds and of adding antioxidant and vitamin E on peroxide value of oil



Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 3. Wpływ obróbki wstępnej nasion lnu oraz dodatku przeciwutleniacza i witaminy E na liczbę anizydynową oleju

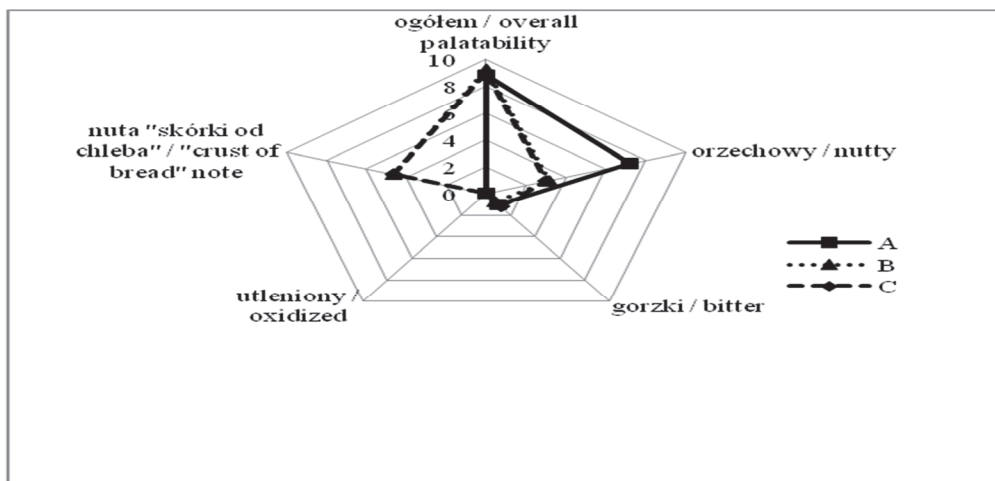
Fig. 3. Effect of pre-treatment of flaxseeds and of adding antioxidant and vitamin E on anisidine value of oil

Liczba kwasowa, charakteryzująca zmiany hydrolityczne, wzrastała stopniowo, ale w dość ograniczonym zakresie – w oleju wyciżonym z nasion bez obróbki z 1,95 do 2,32 mg KOH/g, a w oleju po obróbce nasion (o większej zawartości wody) – z 2,17 do 2,63 mg KOH/g (rys. 1). Wartości końcowe liczb były znacznie niższe niż określone w Codex Stan 210 dla olejów tłoczonych na zimno [4]. Liczba nad-tlenkowa, charakteryzująca zawartość pierwotnych produktów oksydacji zmieniła się istotnie. Największy przyrost LOO z 0,83 do 4,99 meq O₂/kg nastąpił w oleju wyciżonym z nasion bez ich obróbki. Olej otrzymany z nasion po obróbce enzymatycznej i hydro-

termicznej ulegał utlenieniu wolniej. Pomimo wyższej początkowej wartości liczby nadtlencowej – 1,36 meq O₂ /kg, wzrosła ona tylko do 4,15 meq O₂/kg. Korzystny wpływ obróbki na stabilność oksydacyjną wynika prawdopodobnie z podwyższonej zawartości tokoferoli i związków fenolowych w oleju, silnych naturalnych przeciwutleniaczy pierwszorzędowych [20]. Najmniejsze zmiany zaszły w przypadku oleju wytłoczonego z nasion poddanych obróbce, do którego dodano przeciwutleniacz i witaminę E. Liczba nadtlencowa oleju wzrosła z 1,36 do 3,15 meq O₂/kg. Zastosowany przeciwutleniacz, będący mieszaniną α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej, okazał się skuteczny w hamowaniu oksydacji oleju lnianego. Wchodzący w jego skład α -tokoferol jest silnym przeciwutleniaczem pierwszorzędowym, a palmitynian askorbylu i lecytyna pełnią funkcję synergistów [17]. W trakcie przechowywania olejów wzrosła w nich istotnie zawartość wtórnych produktów oksydacji. Liczba anizydynowa, charakteryzująca zawartość tych produktów, wzrosła 4-krotnie (z 0,28 do 1,07) w oleju pochodzącym z nasion bez obróbki, 3-krotnie (z 0,30 do 0,86) – w oleju z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej oraz 2,5-krotnie (z 0,30 do 0,80) – w oleju z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej, zawierającym dodatek przeciwutleniacza i witaminy E. Ogólny stopień utlenienia, wyrażony jako wskaźnik Totox, wyniósł odpowiednio: 11,04, 9,16 i 7,10. Graniczny poziom wskaźnika Totox (10 jednostek) został przekroczony tylko w oleju pozyskanym z nasion bez obróbki. Obróbka nasion oraz dodatek przeciwutleniacza do oleju ograniczały tworzenie się nie tylko pierwotnych, ale i wtórnych produktów oksydacji. Wyraźnie odmiennie przebiegały zmiany oksydacyjne oleju lnianego w badaniach Preschi i wsp. [16], w których olej przechowywany w temp. 20 °C z częściowym dostępem światła wykazywał bardzo ograniczone zmiany oksydacyjne. Na temat skuteczności działania naturalnych, jak i syntetycznych przeciwutleniaczy w oleju lnianym i ich wpływu na stabilność oleju podczas przechowywania istnieją w literaturze zróżnicowane doniesienia [6, 18].

Podczas przechowywania oleju lnianego, oprócz zmian chemicznych, istotne są zmiany sensoryczne, gdyż nieodpowiednia smakowitość jest cechą limitującą przydatność oleju do spożycia [18, 23, 26]. Wyniki pełnej oceny sensorycznej olejów wyściowych przedstawiono na rys. 4. Oleje te charakteryzowały się bardzo dobrą smakowitością ogółem. W oleju z nasion bez obróbki dominowała nuta „orzechowa” (7,2 j.u.) intensywność nuty gorzkiej była na bardzo niskim poziomie (1,0 j.u.), a nuta „skórki od chleba” oraz „utleniona” były nieobecne. W wyniku obróbki enzymatycznej i hydrotermicznej nasion nastąpiły w olejach zmiany intensywności poszczególnych nut smakowych. Wyraźnie zmalała intensywność nuty „orzechowej”, z 7,2 do 3,2 j.u., pojawiła się natomiast wyraźna nuta „skórki od chleba” (4,6 j.u.). Praktycznie bez zmian były pozostałe nuty smakowe. Dodatek przeciwutleniacza i witaminy E nie

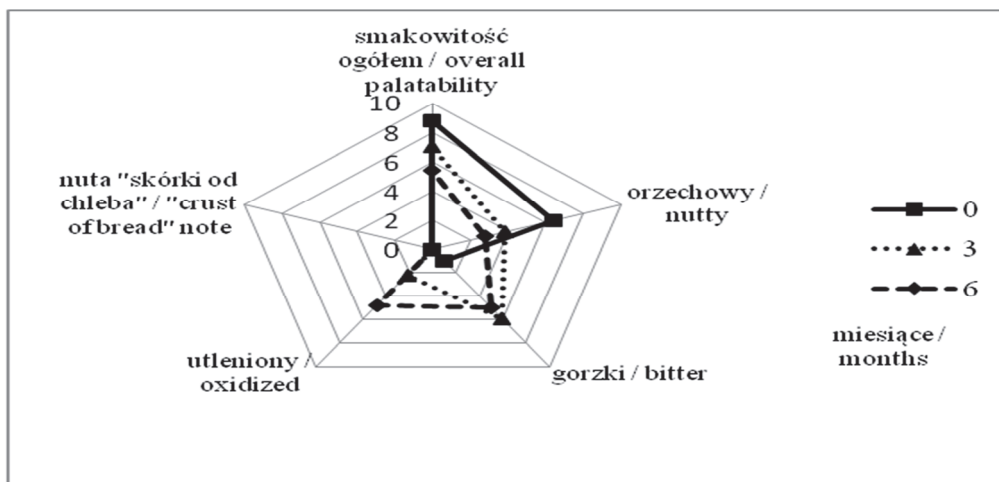
spowodował zmian intensywności poszczególnych nut smakowych, w związku z tym na rys. 4. linia C pokrywa się z linią B.



Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

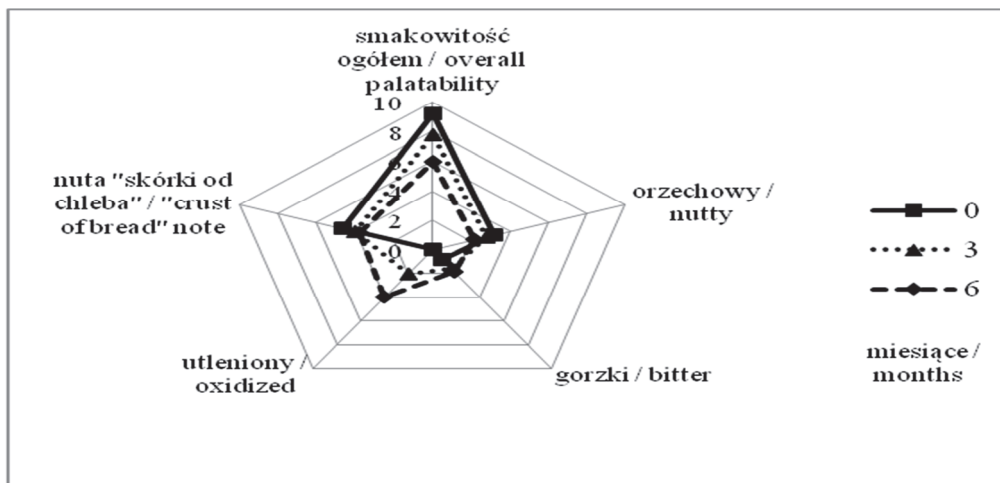
Rys. 4. Wpływ obróbki wstępnej nasion lnu oraz dodatku witaminy E i przeciwutleniacza na cechy sensoryczne oleju

Fig. 4. Effect of pre-treatment of flaxseeds and of adding vitamin E and antioxidant on sensory features of oil

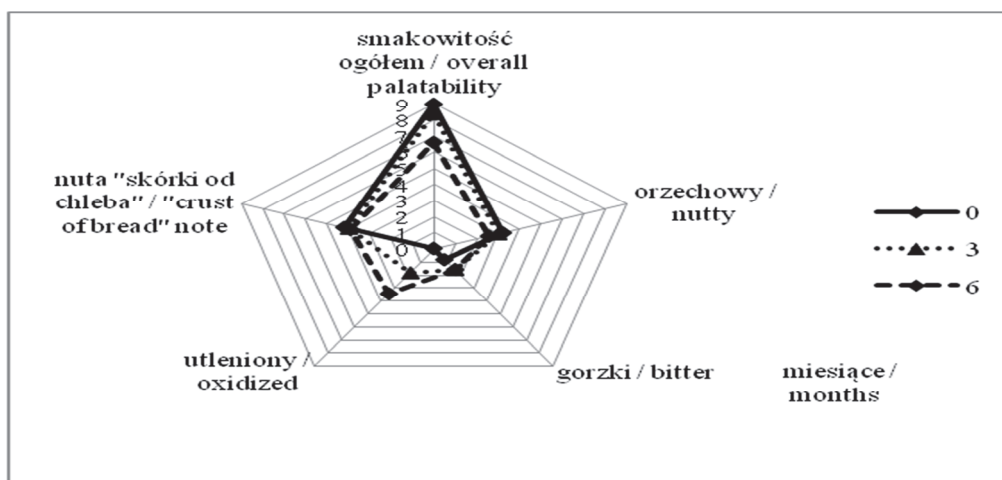


Rys. 5. Wpływ czasu przechowywania na cechy sensoryczne oleju z nasion lnu bez obróbki wstępnej

Fig. 5. Effect of storage period on sensory features of oil from flaxseeds without pre-treatment



Rys. 6. Wpływ czasu przechowywania na cechy sensoryczne oleju z nasion lnu po obróbce wstępnej
 Fig. 6. Effect of storage period on sensory features of oil from flaxseeds after pre-treatment



Rys. 7. Wpływ czasu przechowywania na cechy sensoryczne oleju z nasion lnu po obróbce wstępnej, z dodatkiem przeciwutleniacza i witaminy E
 Fig. 7. Effect of storage period on sensory features of oil from flaxseeds after pre-treatment, with vitamin E and antioxidant added

Na rys. 5 - 7 przedstawiono zmiany cech sensorycznych olejów, jakie nastąpiły w trakcie ich przechowywania.

Zaobserwowano, że po 3-miesięcznym przechowywaniu cechy sensoryczne wszystkich olejów uległy ograniczonym zmianom, a ich smakowitość ogółem była na akceptowanym poziomie. Po 6 miesiącach przechowywania największe zmiany zaszły

w oleju z nasion niepoddanych obróbce. Jego smakowitość ogółem obniżyła się do 5,4 pkt, czyli była poniżej akceptowanego poziomu (6,0 pkt). W oleju nastąpił znaczny wzrost intensywności nuty „gorzkiej” z 1 j.u. do 5 j.u. i „utlenionej” – z 0 j.u. do 4,8 j.u. Jednocześnie nastąpiło zmniejszenie intensywności nuty „orzechowej” z 7,2 j.u. do 2,8 j.u. Podobne zmiany stwierdzili Brühl i wsp. [3] oraz Wiesenborn i wsp. [23]. Inny przebieg miały zmiany sensoryczne oleju wytłoczonego z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej. Końcowa ocena smakowitości ogółem tego oleju była na granicy akceptacji i wynosiła 6,0 pkt. W oleju nastąpił łagodniejszy, w porównaniu z poprzednio omawianymi olejami, wzrost intensywności nuty „utlenionej” i „gorzkiej” oraz zaobserwowano zmniejszenie intensywności nuty „orzechowej”. Intensywność nuty „skórki od chleba” zmalała z 4,6 j.u. do 3,8 j.u. Jak wcześniej zaznaczono, obróbka przyczyniła się do wzrostu zawartości naturalnych przeciwutleniaczy w oleju, tj. związków fenolowych oraz tokoferoli i prawdopodobnie produktów reakcji Maillarda, co zapewne hamowało proces oksydacji i niekorzystne zmiany sensoryczne. Dodatek przeciwutleniacza do oleju po obróbce ograniczył niekorzystne zmiany cech sensorycznych oleju. Odnotowano niższe przyrosty intensywności nuty „gorzkiej” i „utlenionej”. Końcowa ocena smakowitości ogółem wynosiła 6,6 pkt w skali 10-punktowej.

Wnioski

1. Obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion lnu przed tłoczeniem na zimno wywiera korzystny wpływ na stabilność oleju w trakcie jego 6-miesięcznego przechowywania w warunkach chłodniczych. Na koniec okresu przechowywania stwierdzono niewielkie zmiany hydrolityczne, a ogólny stopień utlenienia nie przekraczał poziomu wyznaczającego dobrą jakość olejów jadalnych.
2. Obróbka enzymatyczna i hydrotermiczna nasion powoduje istotne zmiany smakowitości oleju lnianego, następuje ograniczenie intensywności nuty „orzechowej” i pojawienie się nuty „skórki od chleba”. W czasie przechowywania oleju następuje łagodne zmniejszenie intensywności obu nut oraz ograniczony wzrost intensywności nuty „gorzkiej”. Większe zmiany następują w przypadku nuty „utlenionej”, a końcowa ocena smakowitości ogółem jest na granicy akceptacji.
3. Dodanie do oleju lnianego pochodzącego z nasion poddanych obróbce enzymatycznej i hydrotermicznej mieszaniny α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej w ilości 150 mg/kg opóźnia pierwotne i wtórne procesy oksydacyjne a także ogranicza niekorzystne zmiany sensoryczne. Dodatek octanu dl- α -tokoferylu w ilości 400 mg/kg pozwala na uzyskanie odpowiedniej proporcji zawartości ekwiwalentu witaminy E do zawartości polienowych kwasów tłuszczowych.

Literatura

- [1] Baraniak B.M., Szymanowska U.: Lipooksygenaza w żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47), 29-45.
- [2] Bartosz G.: *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wyd. Nauk. PWN, 2006, ss. 99-120, 192-194.
- [3] Brühl L., Matthäus B., Fehling E., Wiege B., Lehmann B., Luftmann H., Bergander K., Quiroga K., Scheipers A., Frank O., Hofmann T.: Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 7864-7868.
- [4] CODEX STAN 210-1999. Codex standard for named vegetable oil. Codex Alimentarius. Amendment 2005, 2011, 2015.
- [5] Drozdowski B.: *Lipidy. W: Chemia żywności. Sacharydy, lipidy i białka*. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 2007, ss. 73-144.
- [6] Łukaszewicz M., Szopa J., Krasowska A.: Susceptibility of lipids from different flax cultivars to peroxidation and its lowering by added antioxidants. *Food Chem.*, 2004, **88**, 225-231.
- [7] Mińkowski K., Kalinowski A., Krupska A.: Wpływ płatkowania i niskotemperaturowej hydrotermicznej obróbki płatków na parametry procesu tłoczenia i cechy jakościowe oleju lnianego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2015, **2** (99), 79-90.
- [8] Niewiadomski H.: *Technologia tłuszczów jadalnych*. WNT, Warszawa 1993.
- [9] Nogala-Kalućka M., Siger A.: Tokochromanole – bioaktywne związki roślin oleistych. Od biosyntezy do biomarkerów. *Rośliny Oleiste*, 2011, **32**, 10-28.
- [10] PN-EN ISO 660:2010. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [11] PN-EN ISO 662:2016-06. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczania zawartości wody i substancji lotnych.
- [12] PN-EN ISO 3960:2012. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
- [13] PN-EN ISO 6885:2016-04. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [14] PN-EN ISO 12966-1:2015-01. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Chromatografia gazowa estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Część 1: Przewodnik do nowoczesnej chromatografii gazowej estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- [15] PN-EN 12822:2014-08. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości witaminy E metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Pomiar α -, β -, γ - i δ -tokoferolu.
- [16] Prescha A., Grajzer M., Dedyk M., Grajeta H.: The antioxidant activity and oxidative stability of cold pressed oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2015, **91** (8), 1291-1301.
- [17] Rutkowski A.: *Dodatki do żywności. W: Chemia żywności. Składniki żywności*. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 2007, ss. 107-141.
- [18] Sielicka M.M.: Ocena skuteczności dodatku substancji o właściwościach przeciwutleniających w przedłużeniu trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno. Rozprawa doktorska. UE w Poznaniu. Wydz. Towaroznawstwa, Poznań 2014.
- [19] Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzymol.*, 1999, **299**, 152-178.
- [20] Szukalska E. Wybrane zagadnienia utleniania tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, **38**, 42-64.
- [21] Szydłowska-Czeraniak A., Karlovits G., Hellner G., Dianoczki H., Szlyk E.: Effect of enzymatic and hydrothermal treatments of rapeseeds on quality of the pressed oils: Part I. Antioxidant capacity and antioxidant content. *Process Biochem.*, 2010, **45**, 7-17.
- [22] Szydłowska-Czeraniak A., Karlovits G., Hellner G., Szlyk E.: Effect of enzymatic and hydrothermal treatments of rapeseeds on quality of the pressed oils: Part II. Oil yield and oxidative stability. *Process Biochem.*, 2010, **45**, 247-258.
- [23] 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.

- [24] Wilska-Jeszka J. Monosacharydy i oligosacharydy. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa 1994, ss. 93-130.
- [25] Wilska-Jeszka J.: Polifenole, glukozynolany i inne związki prozdrowotne i antyżywniowe. W: Chemia żywności. Składniki żywności. Red. Z.E. Sikorski. Wyd. 5. WNT, Warszawa 2007, ss. 203-226.
- [26] Wroniak M., Cenker J.: Porównanie cech sensorycznych, fizykochemicznych i stabilności oksydacyjnej wybranych olejów tłoczonych na zimno. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 2015, **581**, 123-133.

**EFFECT OF ENZYMATIC AND HYDROTHERMAL TREATMENT OF SEEDS,
AND OF ADDING ANTIOXIDANT AND VITAMIN E ON STABILITY OF FLAX OIL
DURING STORAGE**

S u m m a r y

The objective of this research study was to determine the effect of enzymatic and hydrothermal treating of seeds and of adding of antioxidant and vitamin E on the stability of cold pressed flax oil during storage. The initial research material consisted of flaxseeds of high linolenic variety "Bukoz". Seeds were subject to the enzymatic and hydrothermal treatment at a temperature of 50°C during a period of 3 hours. A mixture was used of cellulase and protease enzymes in the form of Celluclast 1.5 L and Alcalase 2.4 L preparations. The oil was cold pressed in a "Farmet" screw press, and purified by the natural sedimentation and decantation. A mixture was used of the α -tocopherol, ascorbyl palmitate, and soy lecithine as the antioxidant, and the dl- α -tocopheryl acetate as the vitamin E. The oils were stored in brown glass bottles for 6 months, at a temperature of 6°C under the cooling conditions. The oils from the seeds without treatment were analyzed as were the oils from the seeds after treatment and those from the seeds after treatment with the antioxidant and vitamin E added. In the oils, the degree of hydrolysis was assayed as was the degree of primary and secondary lipid peroxidation; the oils were also sensory assessed. It was proved that the enzymatic and hydrothermal treatment of seeds before cold pressing exerted a beneficial effect on the oil stability during 6 months of storing them under the cool conditions. At the end of the storage period, the overall degree of the oxidation determined as a Totox index didn't exceed 10 units, which define a good quality of edible oils. It was found that the enzymatic and hydrothermal treatment of seeds caused significant changes in the sensory characteristics of oils, in which a strong "crust of bread" note appeared. During storage, the intensity of that note decreased and the intensity of the "oxidized" and "bitter" note increased; the final assessment of overall palatability of oil was at the limit of acceptability and totalled 6 points on a 10 point scale. The antioxidant added in the amount of 150 mg/kg delayed the primary and secondary oxidation processes and, also, reduced unfavourable sensory changes. The dl- α -tocopheryl acetate added in the amount of 400 mg/kg made it possible to reach a recommended Harris coefficient (0.6).

Key words: flaxseeds, enzymatic and hydrothermal treatment, flax oil, storage ☒