

ANETA JAROSŁAWSKA, ANNA SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA, JAN OSZMIAŃSKI

PRÓBA ZASTOSOWANIA NATURALNYCH POLIFENOLI DO STABILIZACJI OLEJU SŁONECZNIKOWEGO

Streszczenie

W pracy podjęto próbę zastosowania związków izolowanych z roślin, jako przeciwutleniaczy, do stabilizacji oleju słonecznikowego. Zbadano aktywność pięciu przeciwutleniaczy: tarczycy bajkalskiej, głogu oraz witamin antyoksydacyjnych (kwasu askorbinowego i α -tokoferolu) oraz kwasu cytrynowego. Wśród tych preparatów, preparat procyjanidyn z głogu był najlepszym inhibitorem przemian oksydacyjnych zachodzących w emulsji oleju słonecznikowego, przechowywanej w temp. 50°C i przy natężeniu oświetlenia 3600–3900 lx. Również mieszanina głogu z kwasem cytrynowym i askorbinowym charakteryzowała się wysoką siłą hamowania powstających nadtlenków i aldehydu dimalonowego. W przypadku użycia mieszanin tarczycy bajkalskiej z kwasem cytrynowym i α -tokoferolem uzyskano efekt prooksydacyjny.

Słowa kluczowe: polifenole, przeciwutleniacze, synergent, emulsja oleju słonecznikowego.

Wstęp

Oleje roślinne o dużej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych są nietrwałe, szybko ulegają niekorzystnym przemianom, zwłaszcza podczas procesu przetwarzania i przechowywania. Głównymi czynnikami, które wywołują niekorzystne przemiany oksydacyjne są reaktywne formy tlenu (RTF), światło, wysoka temperatura, promieniowanie jonizujące [14]. W wyniku tych reakcji powstają pierwotne oraz wtórne produkty utleniania, szkodliwe dla zdrowia konsumenta. Jednym ze sposobów hamowania tych przemian jest użycie przeciwutleniaczy. Obecnie wzrosło zainteresowanie przeciwutleniaczami naturalnymi, do których zaliczamy polifenole izolowane z surowców roślinnych, m.in. kwiatów, korzeni, liści, kory, nasion [2] oraz witaminy antyoksydacyjne, o właściwościach inhibitujących utlenianie lipidów. przeciwutleniacze to aktywne związki działające według różnych mechanizmów. M.in. są one zdolne do przerywania reakcji łańcuchowej procesu autooksydacji lipidów poprzez utlenienie

się, uczestniczą również w konwersji rodników do bardziej stabilnych związków, tworzą kompleksy z jonami metali katalizującymi reakcję utleniania. Ze względu na naturalne występowanie i spożywanie z pokarmem roślinnym [4] są one w pełni akceptowane przez konsumentów.

Badania ostatnich lat wskazują na możliwość stosowania jako przeciwutleniaczy do żywności związków izolowanych z roślin leczniczych, przypraw i ziół. Roślinami bogatymi w polifenole o takim właśnie charakterze są głóg (*Crataegus oxyacantha*) i tarczycza bajkalska (*Scutellaria baicalensis* Georgi).

Źródłem flawonów tarczycy bajkalskiej, która znajduje się na liście roślin leczniczych tradycyjnej medycyny chińskiej (TCM), jest korzeń. Izolowane flawony najczęściej z dwu- lub trzyletnich korzeni stosowane są w leczeniu licznych schorzeń astmacyjnych, alergicznych, miażdżycowych, nowotworowych, wirusowych. Dotychczas zidentyfikowano ponad 40 substancji flawonoidowych, wśród których dominuje bajkalinina (7-0-glukuronoid bajkaleiny), bajkaleina (5,6,7-trihydroksyflawon), wogonina i wogonozyd. Zawartość związków flawonowych w korzeniach jest bardzo duża i wynosi ponad 20%, z czego około 12–17% przypada na bajkalinę i 3–4% na wogonozyd [8, 18].

Procyjanidyny z grupy katechin, izolowane z kory, liści czy owoców głogu również posiadają aktywność przeciwutleniającą [12]. Obecnie są one wykorzystywane w leczeniu chorób nasicowych, działają uspokajająco, przez co polecane są w nerwicy ogólnej i serca [22].

Celem pracy było zbadanie możliwości stabilizacji oleju słonecznikowego przez procyjanidyny z kory głogu (*Crataegus oxyacantha*) i flawony z korzeni tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis* Georgi) oraz ocenienie ich zdolności do współdziałania z synergentami: α -tokoferolem, kwasem cytrynowym i askorbinowym.

Materiał i metody badań

Materiałem do badań był olej słonecznikowy, zakupiony w handlu detalicznym, oczyszczony z naturalnych polifenoli metodą podaną przez Chimi i wsp. [10].

Emulsję olejową (3%) sporządzono na bazie 0,05 M buforu TRIS:HCL o pH 7,54 wymieszanego z Tweenem 20 (3%). Preparaty polifenolowe użyto w ilości 100 i 300 ppm oraz w ilości po 100 ppm w mieszaninach z synergentami. Do otrzymania preparatu procyjanidyn z kory głogu zastosowano metodę Oszmiańskiego [21]. Flawony tarczycy bajkalskiej zakupiono w firmie WIMEX BEIJING (Chiny). Emulsję olejową przechowywano przez okres 5 dni w termostacie, w temp. 50°C i przy oświetleniu o natężeniu 3600-3900 lx. W dniu wykonywania analiz emulsję homogenizowano homogenizatorem Heidolph DIAX 900 przez 1,5 min.

W próbach oznaczano zawartość hydronadtlenków metodą TBARS [20] oraz liczbę nadtlenkową metodą tiocyjanianową wg Haraguchi i wsp. [13] za pomocą spek-

trofotometru UV-2401 PC firmy Shimadzu. Ilość powstałych produktów wtórnych, oznaczanych w wyniku reakcji aldehydu dimalonowego z kwasem 2-tiobarbiturowym, podano jako stężenie aldehydu malonowego (MDA)/g oleju, przeliczonego na podstawie krzywej wzorcowej. Zdolność hamowania obliczano na podstawie zależności podanej przez Marinowa i wsp. [19]:

$$\text{HAMOWANIE} = 100 \cdot [1 - \Delta i \cdot (\Delta k)^{-1}] [\%],$$

gdzie:

Δi – przyrost absorbancji roztworu w próbie z inhibitorem,

Δk – przyrost absorbancji roztworu w próbie kontrolnej.

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statgraphics. Przeprowadzono analizę wariancji i wyznaczono grupy jednorodne testem Duncana na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zastosowany w badaniach olej słonecznikowy zawierał 60% wielonienasyconych, 20% jednonienasyconych oraz około 11% nasyconych kwasów tłuszczowych. Ze względu na dużą zawartość kwasów nienasyconych olej ten łatwo ulega procesowi jęlczenia podczas przechowywania, dlatego w celu zapobieżenia niekorzystnym przemianom był stabilizowany związkami o charakterze przeciwutleniaczy.

Wyniki hamowania reakcji tworzenia nadtlenczków oraz substancji reagujących z kwasem 2-tiobarbiturowym (tab. 1) wskazują, że największą siłą hamowania wykazały procyjanidyny z kory głogu (100 i 300 ppm) oraz flawony tarczycy bajkalskiej w dawce 300 ppm.

Badane związki polifenolowe (z głogu i tarczycy bajkalskiej) charakteryzowały się większą zdolnością hamowania niekorzystnych przemian podczas utleniania emulsji oleju słonecznikowego w temp. 50°C i naświetleniu o natężeniu 3600-3900 lx niż kwas cytrynowy, askorbinowy i α -tokoferol. Wśród badanej grupy polifenoli i ich dawek, tylko flawony tarczycy bajkalskiej w ilości 100 ppm odznaczały się niską siłą hamowania zarówno nadtlenczków, jak i substancji reagujących z kwasem 2-tiobarbiturowym. Aktywność związków fenolowych jest związana z obecnością grup hydroksylowych w pierścieniach szkieletu flawonoidowego. Im większa jest liczba tych grup w pierścieniu B tym wyższa aktywność przeciwutleniająca [7]. Przykładem takiego związku są zastosowane w doświadczeniu procyjanidyny z kory głogu, których monomer, (-)epikatechina posiada 2 grupy w pierścieniu B, a łącznie pięć grup hydroksylowych. Natomiast cząsteczka bajkaliny, głównego związku preparatu, tylko trzy grupy, ale w pierścieniu A, w tym jedna jest połączona z kwasem glukuronowym (rys. 1). Chen i wsp. [7] podają, że związki z większą liczbą grup hydroksylowych są aktywniejsze jako przeciwutleniacze w środowisku wodno-olejowym niż olejowym.

Tabela 1

Hamowanie [%] reakcji tworzenia nadtlenczków [A] oraz substancji reagujących z kwasem 2-tiobarbiturowym [B] w roztworach emulsyjnych.

Influence of natural antioxidant on the inhibition [%] of formation of peroxides [A] and TBARS [B], during oxidative processes in oil emulsions.

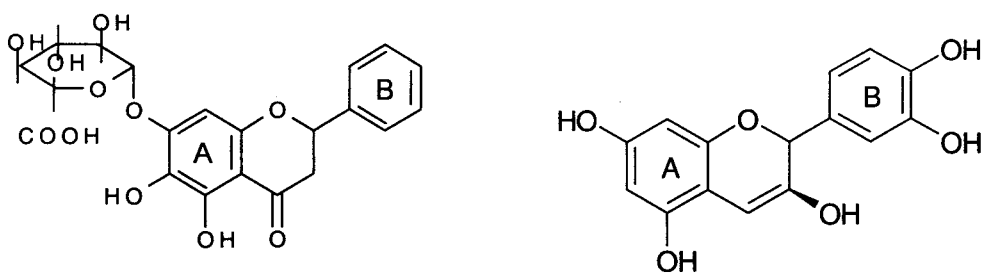
Rodzaj preparatu Origin of preparation	Metoda tiocyjanianowa [A] Thiocyanian method [A]				Metoda TBARS [B] TBARS metod [B]			
	2	3	4	*	2	3	4	*
100 ppm głóg / hawthorn	75	81	79	<i>a</i>	99	97	93	<i>a</i>
300 ppm głóg / hawthorn	81	84	85	<i>a</i>	98	97	97	<i>a</i>
100 ppm tarczycza bajkalska / scullcap	69	42	18	<i>bc</i>	92	55	14	<i>b</i>
300 ppm tarczycza bajkalska / scullcap	73	79	73	<i>a</i>	96	96	91	<i>a</i>
100 ppm kwas cytrynowy / citric acid	14	12	5	<i>cd</i>	6	3	3	<i>cd</i>
100 ppm α -tokoferol / α -tocopherol	16	0	27	<i>cd</i>	20	33	31	<i>cd</i>
100 ppm kwas askorbi- nowy / ascorbic acid	1	13	6	<i>cd</i>	5	11	3	<i>d</i>

a, b, c – różne litery przy wartościach średnich w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie przy $\alpha \leq 0,05$.

a, b, c – means with different letters within the same column are significantly different at $\alpha \leq 0,05$.

Kwasy cytrynowy i askorbinowy oraz α -tokoferol (tab. 1), jako samodzielne preparaty wykazały niewielki efekt ochronny. Wyniki, jakie uzyskali Beddows i wsp. [5], Marinowa i wsp. [19], Abdall i wsp. [1], Jung i wsp. [17], Ariga i wsp. [3] potwierdzają, że związki izolowane z roślin są lepszymi stabilizatorami niż witaminy antyoksydacyjne czy stosowane przeciwutleniacze syntetyczne tj. BHT, BHA.

Na rys. 2. przedstawiono wyniki analiz współdziałania preparatów polifenolowych z synergentami w stabilizacji oleju słonecznikowego w dawce po 100 ppm. Badania przeprowadzone przez Beddowsa i wsp. [6], Hraša i wsp. [16], Wonga i wsp. [25] wskazują na możliwość i skuteczność używania mieszanin przeciwutleniaczy w układzie dwu- lub nawet trójskładnikowym.



a) flawon tarczycy bajkalskiej
flavon from scullcap

b) (-)epikatechina głogu
(-)epicatechin from hawthorn

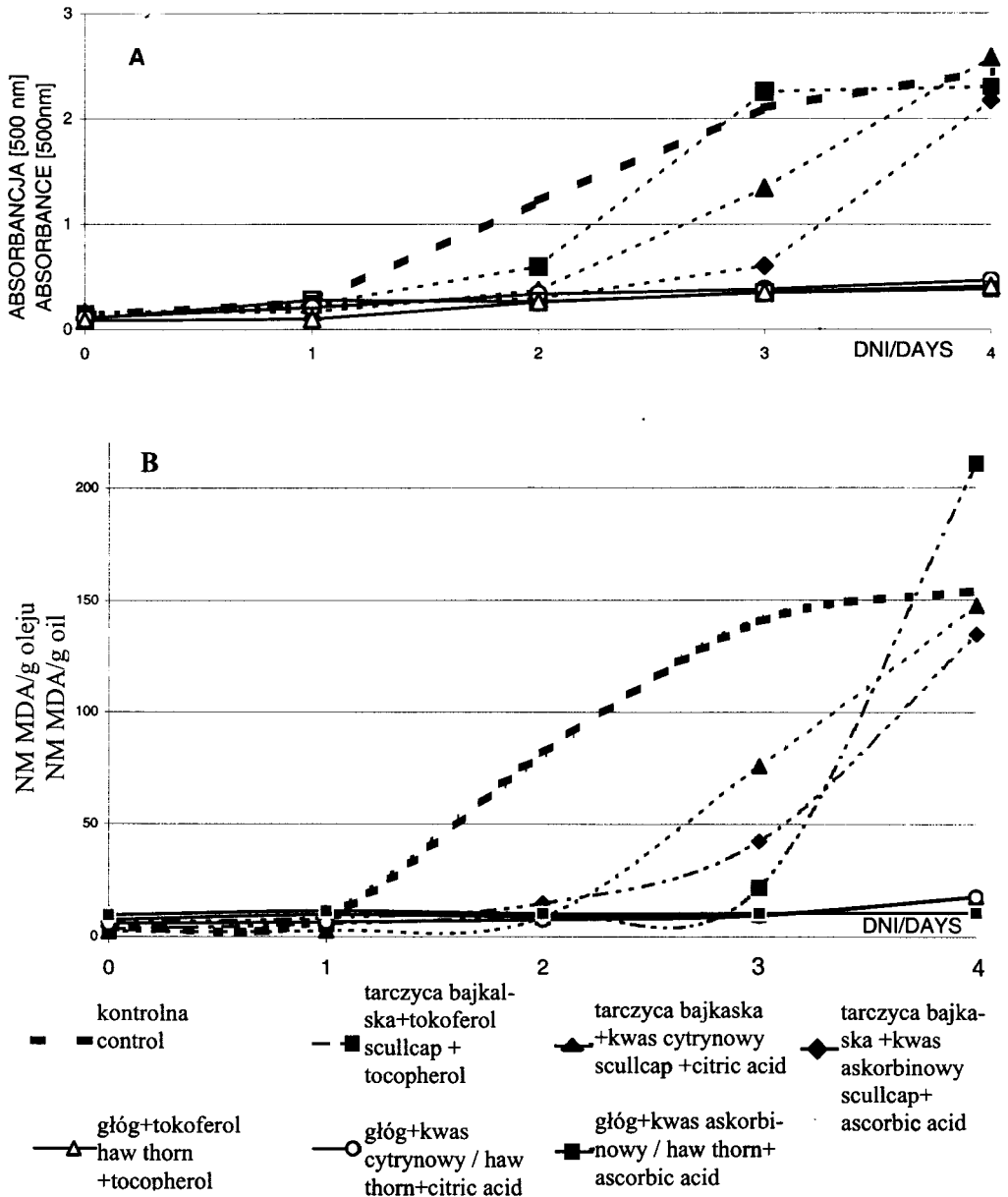
Rys 1. Chemiczna struktura flawonu tarczycy bajkalskiej oraz katechiny głogu.

Fig. 1. Chemical structures of scullcap flavon and hawthorn catechin.

Jednym z czynników decydujących o sile hamowania, w przypadku zastosowanej w doświadczeniu mieszaniny polifenoli z synergentami, był rodzaj użytego preparatu polifenolowego (rys. 2).

Wysoką aktywność przeciwutleniającą wykazały mieszaniny preparatu procyanidyn głogu z kwasem cytrynowym, α -tokoferolem oraz kwasem askorbinowym. W przypadku mieszanin z flawonami tarczycy bajkalskiej efekt ochronny występował w mniejszym stopniu. Działanie ochronne tego układu było widoczne jedynie przez pierwsze dwa dni, przy mierzonej ilości nadtlenków w przechowywanej emulsji olejowej. Podobne wartości uzyskano oznaczając ilości produktów powstałych w wyniku reakcji kwasu 2-tiobarbiturowego z produktami utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Aktywność przeciwutleniającą mieszanin z flawonami można uszeregować w zależności od zastosowanego synergentu w następujący sposób: kwas askorbinowy > kwas cytrynowy > α -tokoferol.

Przeprowadzona analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic pomiędzy użytymi w doświadczeniu preparatami procyanidyn głogu z badanymi związkami synergistycznymi, w przeciwieństwie do wcześniej omawianego układu. Zdolność hamowania ilości nadtlenków przez procyanidyny głogu w mieszaninie z synergentami była na poziomie 72–84%, natomiast hamowanie tworzenia MDA w tej grupie spadło z 89 do 14% w przypadku mieszaniny z kwasem cytrynowym. Kwas askorbinowy należy do grupy przeciwutleniaczy wtórnych i w połączeniu z innymi witaminami antyoksydacyjnymi, jak i z polifenolami daje dobre efekty stabilizujące [24].



Rys. 2. Wpływ preparatów polifenolowych w układzie z synergentami (po 100 ppm) na utlenianie oleju słonecznikowego (metoda tiocyjanianowa [A] i metoda TBARS [B]).

Fig. 2. Influence of added preparations of polyphenols with synergent (both in amount of 100 ppm) on oxidation of sunflower emulsion oil (+peroxide value [A] and method TBARS [B]).

Obliczoną zdolność hamowania pierwszorzędowych jak i wtórnych produktów utleniania, po zastosowaniu mieszanin do stabilizacji emulsji oleju słonecznikowego zamieszczono w tab. 2.

Tabela 2

Hamowanie [%] reakcji tworzenia nadtlenków [A] oraz substancji reagujących z kwasem 2-tiobarbiturowym [B] w roztworach emulsyjnych w układzie z synergentami w dawce po 100 ppm.
Influence of natural antioxidant on the inhibition [%] of formation of peroxides [A] and TBARS [B] during oxidative processes in oil emulsions with synergent added in amount 100 ppm.

Rodzaj preparatu Origin of preparation	Metoda tiocyjanianowa [A] Thiocyanian method [A]				Metoda TBARS [B] TBARS metod [B]			
	2	3	4	*	2	3	4	*
głóg + kwas askorbinowy hawthorn + ascorbic acid	72	82	81	a	99	95	92	a
głóg + α -tokoferol hawthorn + α -tocopherol	79	83	83	a	98	98	93	a
głóg + kwas cytrynowy hawthorn + citric acid	78	83	84	a	89	74	14	a
tarczycza bajkalska + kwas askorbinowy scullcap + ascorbic acid	76	71	11	ab	89	74	14	b
tarczycza bajkalska + kwas cytrynowy scullcap + citric acid	51	7	-6	cd	91	86	38	ab
tarczycza bajkalska + α -tokoferol scullcap + α -tocopherol	69	36	-6	bc	92	46	3	b

a, b, c – różne litery przy wartościach średnich w kolumnie oznaczają różnice istotne statystycznie przy $\alpha \leq 0,05$

a, b, c – means with different letters within the same column are significantly different at $\alpha \leq 0,05$

Chen i wsp. [9] podają, że kwas askorbinowy skuteczniej chroni mieszaninę procyanidyn niż kwas cytrynowy. Także Beddows i wsp. [5, 6] w swoich badaniach wykazali pozytywny efekt synergistyczny pomiędzy kwasem askorbinowym a oregano, majerankiem oraz rozmarynem, podkreślając przy tym, że sam kwas askorbinowy jako stabilizator oleju słonecznikowego nie daje pożądanego efektu przeciwutleniającego. Uzyskane wyniki potwierdziły skuteczność przeciwutleniającą kwasu askorbinowego, zarówno w układzie z procyanidynami jak i flawonami. Wartości ujemne powstawania nadtlenków przy badanych mieszaninach flawonów z kwasem cytrynowym i α -tokoferolem, w 4. dniu przechowywania, wskazują na efekt przyspieszający autooksydację emulsji sporządzonej na bazie oleju słonecznikowego. Hopia i wsp. [15] podają,

że polifenole, oprócz cennych właściwości przeciwutleniających, mogą wywoływać efekt przyspieszający autooksydację tłuszczów. Wpływa na to ma nie tylko poziom stężenia zastosowanego przeciwutleniacza, ale również typ środowiska, pH, dostępność tlenu i światła, podwyższona temperatura [11, 23].

Na podstawie otrzymanych wyników utleniania emulsji olejowej zaobserwowano, że zastosowana dawka procyjanidyn w mieszaninach (po 100 ppm związków) była równie skuteczna jak dawka 300 ppm badanego związku (tab. 1 i 2). W przypadku układów z flawonami tarczycy bajkalskiej takiej zależności nie zaobserwowano.

Wnioski

1. Najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi w stosunku do oleju słonecznikowego odznaczały się próby zawierające procyjanidyny z kory głogu, zarówno same jak i w mieszaninach.
2. W warunkach doświadczenia, flawony z tarczycy bajkalskiej (zarówno same jak i w mieszaninach z synergentami) wykazywały słabsze właściwości przeciwutleniające niż preparaty z głogu.
3. Spośród synergetów, kwas askorbinowy w układzie z polifenolami wykazał silne właściwości przeciwutleniające w emulsji olejowo-wodnej.
4. Kwas cytrynowy i askorbinowy oraz α -tokoferol, jako samodzielne preparaty, w niewielkim stopniu zapobiegły utlenieniu oleju słonecznikowego (0–33%).

Praca wykonana w ramach projektu badawczego KBN nr 5 PO6 G 02019

Literatura

- [1] Abdalla A.E., Roozen J.P.: Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chem.*, 2001, **64**, 323-329.
- [2] Alan L. Miller N.D.: Antioxidant flavonoids: structure, function and clinical usage. *Alt. Med. Rev.*, 1996, **1**[A], 103-111.
- [3] Ariga T., Koshiyama I., Fukushima D.: Antioxidative properties of procyanidins B-1 and B-3 from Azuki Beans in aqueous system. *Agric. Biol. Chem.*, 1988, **52**, 2717-2722.
- [4] Barlow S.: Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In: *Food antioxidants*. Ed: B. Hudson., Elsevier, London, 1990, **3**, 253.
- [5] Beddows C.G., Jagait C., Kelly M.J.: Effect of ascorbyl palmitate on the preservation of α -tocopherol in sunflower oil, alone and with herbs and spices. *Food Chem.*, 2001, **73**, 255-262.
- [6] Beddows C.G., Jagait C., Kelly M.J.: Preservation of α -tocopherol in sunflower oil by herbs and spices. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2000, **51**, 327-339.
- [7] Chen Z.Y., Chan P.T., Ho K.Y., Fung K.P., Wang J.: Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. *Chem. Phys. Lipids*, 1996, **79**, 157-163.

- [8] Chen Z-Y., Su Y-L., Bi Y-R., Tsang S.Y., Huang Y.: Effect of baicalein and acetone extract of *Scutellaria baicalensis* on canola oil oxidation. *JAOCS*, 2000, **1** (77), 73-78.
- [9] Chen Z-Y., Zhu Q. Y., Wong Y.F., Zhang Z., Chung H.Y.: Stabilizing effect of ascorbic acid on green tea catechins. *J. Agric. Food Chem.* 1998, **46**, 2512-2516.
- [10] Chimi H., Cillard J., Cillard P.: Autooxidation de l'huile d'argan *Argania spinosa* L. du Maroc. *Sciences De Aliments*, 1994, **14**, 1.
- [11] Frankel E.N, Huang S., Aeschbach R.: Antioxidant activity of green teas in different lipid systems. *JAOCS*, 1997, **74**, 1309-1322.
- [12] Hammerstone J.F., Sheryl A. L., Schmitz H.H.: Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 2086S-2092S.
- [13] Haraguchi H., Hashimoto K., Yagi A.: Antioxidative Substances in Leaves of *Polygonum hydro-piper*. *J. Agric. Food Chem.*, 1992, **40**, 1349-1351.
- [14] Hodges D.M., DeLong J.M., Forney C.F., Prange R.K.: Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 1999, **207**, 604-611.
- [15] Hopia A.I., Huang S., Schwarz K., Bruce German J., Frankel E.N.: Effect of different lipid systems on antioxidant activity of rosemary constituents carnosol and carnosic acid with and without α -tocopherol. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **44**, 2030-2036.
- [16] Hraš A.R., Hadolin M., Knez Ž., Bauman D.: Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem.*, 2000, **71**, 229-233.
- [17] Jung M.Y. Kim J.P. Kim S.Y.: Methanolic extract of *Coptis japonica* Makino reduces photosensitized oxidation of oils. *Food Chem.*, 1999, **67**, 261-268.
- [18] Lamer-Zarawska E.: Opracowanie literaturowe chińskiej rośliny leczniczej – tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis* Georgi) do wprowadzenia do uprawy na teren Polski. www.bpf.com.pl, 2000.
- [19] Marinowa E.M., Yanishlieva N.V.: Antioxidative activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. *Food Chem.*, 1997, **58**, 245-248.
- [20] Mei J., McClements J., Wu J., Decker E.A.: Iron-catalyzed lipid oxidation in emulsion as affected by surfactant, pH and NaCl. *Food Chem.*, 1998, **3**, 307-312.
- [21] Oszmiański J.: Sposób otrzymywania aktywnych biologicznie oligomerów proantocyjanidyn z surowców roślinnych. Patent PL 169082 B1. 1996.
- [22] Rohr G.E., Meier B., Sticher O.: Quantitative reversed-phase HPLC of procyanidins in *Crataegus* leaves and flowers. *J. Chromat.* 1999, **A. 835**, 59-65.
- [23] Ruth S.M., Roozen J.P., Posthumus M.A., Jansen F.J.: Volatile composition of sunflower oil-in-water emulsions during initial lipid oxidation: influence of pH. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4365-4369.
- [24] Szukalska E.: Przeciwtleniacze i ich rola w opóźnianiu niepożądanych przemian tłuszczów spowodowanych utlenianiem. *Żyw. Człow. Metab.* 1999, **XXVI**, **1**, 81-86.
- [25] Wong J.W., Hashimoto K., Shibamoto T.: Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model meat system. *J. Agric. Food Chem.* 1995, **43**, (10), 2707.

USE OF NATURAL POLYPHENOLS TO STABILIZATION OF SUNFLOWER OIL

S u m m a r y

The possibility of stabilization of vegetable oil with natural antioxidants isolated from plants is presented in this paper. The antioxidative activities of five natural antioxidants: scullcap and hawthorn extracts, α -tocopherol, citric and ascorbic acid in sunflower oil stored at 50°C and light 3600–3900 lx were studied. The hawthorn extract exhibited the best antioxidant effect, as determined by peroxide value and TBARS measurements. The synergistic effects of α -tocopherol, citric and ascorbic acid on hawthorn and scullcap were investigated, too. The mixture hawthorn with α -tocopherol gave the best antioxidant effect, while the mixtures scullcap with citric and scullcap with ascorbic acid showed prooxidant effects.

Key words: polyphenol, antioxidant, synergent, sunflower oil emulsion ☒