

SPEKTRALNE WŁAŚCIWOŚCI BIOOLEJÓW OTRZYMANÝCH Z NASION WYBRANYCH ROŚLIN ALTERNATYWNYCH

*Halina Pieńkowska*¹, *Bogdan Smyk*², *Ryszard Zadernowski*³

¹ Instytut Wychowania Technicznego, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

² Katedra Fizyki i Biofizyki, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

³ Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wstęp

Rośliny alternatywne to takie, które zastępują lub uzupełniają dotychczasowy asortyment rutynowo uprawianych roślin. Mają one zastosowanie w farmakoterapii lub służą do produkcji zdrowej żywności, rozumianej jako wzbogacanie składników pokarmowych [PIEŃKOWSKA 1996].

Oleje z nasion wiesiołka dziwnego i ogórecznika lekarskiego są cenne ze względu na swój skład chemiczny i właściwości farmakologiczne. Zawierają one obok triacylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych, kwas gamma linolenowy, który wspomaga leczenie wielu chorób [GRYS 1998]. Niewielkie ilości substancji, które nie ulegają zmydłaniu pod działaniem alkaliów – frakcja niezmydlająca (nieglicerynowa) stanowi 0,8% oleju z nasion wiesiołka dziwnego i 0,72% oleju z nasion ogórecznika lekarskiego [ZADERNOWSKI i in. 1993]. Frakcja ta zawiera sterole, węglowodory, barwniki oraz tokoferole i tokotrienole. Składniki tej frakcji spełniają różnorodne funkcje w olejach. Niektóre z nich są biologicznie czynne, inne wpływają na trwałość tłuszczów [NIEWIADOMSKI, BRATKOWSKA 1970].

Przemiany oksydacyjne nienasyconych kwasów tłuszczowych zawartych w olejach roślinnych są poważnym problemem dietetycznym, ponieważ powstają toksyczne formy nienasyconych aldehydów i ich hydroksy pochodne [ARUOMA 1994]. Utlenianie nienasyconych składników frakcji niezmydlającej i nienasyconych kwasów tłuszczowych przebiega według tego samego wolnorodnikowego mechanizmu. Produkty przemian frakcji niezmydlającej pozostają w oleju i wpływają na pozostałą frakcję tłuszczową [MAŁECKA 1995]. Podczas utleniania tej frakcji następuje oderwanie wodoru sąsiadującego z wiązaniem podwójnym i przeszerogowanie wewnątrzcząsteczkowe, które doprowadza do powstania układu sprzężonych wiązań podwójnych. Efektem tych zmian jest pojawienie się charakterystycznych pasm absorpcji.

Według ekspertów FAO, najwyższą toksyczność wykazują tłuszcze o wysokiej liczbie nadtlenkowej i karbonylowej [PORTER i in. 1995]. Liczba nadtlenkowa

uważana za podstawowy wskaźnik stopnia utlenienia tłuszczu nic jest wskaźnikiem pewnym, ponieważ wodorotlenki stanowią przejściowy etap peroksydacji i w zaawansowanym procesie można już ich nie obserwować. Aktualnie w analityce laboratoryjnej brak jest szybkich, a zarazem dokładnych metod i technik analitycznych, pozwalających na obiektywne określenie stanu jakościowego produktu podczas przechowywania. Poszukuje się więc nowych metod, które pozwalałyby na obiektywną ocenę jakości bioolejów i wskazywałyby na ich przydatność do spożycia. Aby sprostać tym zadaniom, coraz częściej sięga się po metody instrumentalne, takie jak np.: spektrofotometria, chemiluminescencja czy spektrometria EPR (elektronowego rezonansu paramagnetycznego).

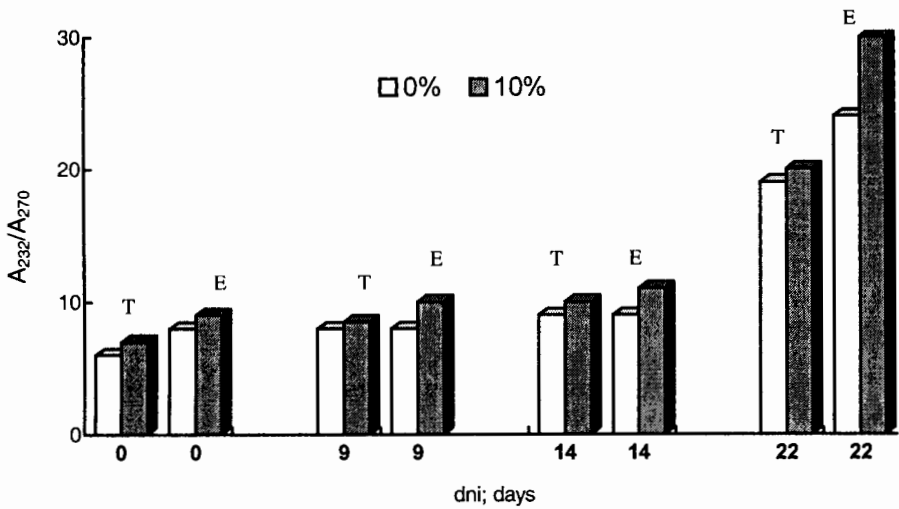
Ważnym czynnikiem determinującym trwałość oleju jest jakość surowca, a przede wszystkim jego dojrzałość. Nasiona niedojrzałe zawierają chlorofil, który jako silny prooksydant powoduje szybkie psucie się oleju [BRATKOWSKA, NIEWIADOMSKI 1973]. W niniejszej pracy wykorzystano metodę spektrofotometryczną do badania przemian zachodzących w olejach podczas przechowywania otrzymanych z nasion dojrzałych i zawierających 10% nasion zielonych.

Materiały i metody

Materiałem do badań były oleje otrzymane z nasion wiesiołka dziwnego (*Oenothera paradoxa* Hudziok), ogórecznika lekarskiego (*Borago officinalis* L.); nasiona z owoców: porzeczki czarnej (*Ribes nigrum* L.) i agrestu (*Ribes grossularia* L.) Olej z nasion tłoczono za pomocą prasy ślimakowej typu „Komet”, model CA/59, prod. Krupa. Olej ekstrahowany otrzymano przez zęściokrotne zalanie rozdrobionych nasion heksanem. Otrzymane miscela zagęszczano w temp. około 40°C. Barwniki z grupy karotenoidów i chlorofili oznaczono spektrofotometrycznie zgodnie z Normą Branżową BN-86/8050-30 [1986]. Otrzymane wyniki podano w tab. 1. Widma absorpcji zmierzono na spektrofotometrze Cary 300, firmy Varian, a widma fluorescencji na spektrofotometrze LS50B, firmy Perkin-Elmer. Próbkę do pomiarów spektrofotometrycznych przygotowano, rozpuszczając oleje w spektralnie czystym n-heksanie. Pomiaru frakcji tłuszczowej wykonano w kuwecie o grubości 0,2 cm, w zakresie od 250 nm do 350 nm. Pomiaru frakcji niezmydlającej, zawierającej barwniki, wykonano w kuwecie o grubości 1 cm, w zakresie od 300 nm do 750 nm.

Wyniki i dyskusja

Podczas przechowywania olejów, pod wpływem czynników zewnętrznych takich jak: temperatura, tlen zawarty w powietrzu, światło itp., z dwu izolowanych wiązań nienasyconych powstaje sprzężony układ dienowy z maksimum absorpcji przy 232 nm, a z trzech nienasyconych wiązań sprzężonych układ trienowy z maksimum absorpcji przy 270 nm. Wg [O'CONNORS'A 1960] tłuszcze naturalne charakteryzuje stosunek wartości absorbancji dla długości fali 232 nm (A_{232}), do wartości absorbancji dla długości fali 270 nm (A_{270}). Na rys. 1 przedstawiono wartości tego stosunku dla prób oleju otrzymanego z nasion dojrzałych wiesiołka dziwnego i zawierających 10% nasion niedojrzałych. Olej przechowywano w naczyniach szklanych, w temperaturze pokojowej, w powietrzu i w obecności światła, przez 22 dni. Te wartości obliczono dla oleju tłoczonego (T) i oleju ekstrahowanego (E).



Rys. 1. Wartość A_{232}/A_{270} dla oleju wiesiołkowego tłoczonego (T) i ekstrahowanego (E), otrzymanego z nasion dojrzałych i niedojrzałych, przechowywanego przez 22 dni

Fig. 1. A_{232}/A_{270} ratio for evening primrose oil pressed (T) and extracted (E) from the ripe and unripe seeds during 22 days storage

Oleje tłoczone i ekstrahowane są mieszaniną triacylogliceroli, acylogliceroli częściowych, wolnych kwasów tłuszczowych, barwników (karotenoidy i chlorofile), steroli i witamin. Udział procentowy poszczególnych komponentów zależy od dojrzałości nasion. Barwa olejów tłoczonych i ekstrahowanych spowodowana jest obecnością barwników z grupy karotenidów i chlorofili. Oznaczono ją w pracy [PIEŃKOWSKA i in. 1998a] dla olejów tłoczonych i ekstrahowanych z nasion wiesiołka dziwnego, ogórecznika lekarskiego, agrestu i porzeczki czarnej. Barwa oleju miała wartości: 268 dla oleju tłoczonego i 231 dla ekstrahowanego z nasion wiesiołka dziwnego; dla oleju z nasion ogórecznika lekarskiego tłoczonego wynosiła 590, a dla ekstrahowanego 500. Podobne pomiary wykonano w tej pracy dla oleju tłoczonego z nasion dojrzałych wiesiołka dziwnego i zawierających 10% nasion zielonych. Wartości barwy oraz karotenoidów umieszczono w tabeli 1.

Tabela 1; Table 1

Barwniki naturalne w oleju z dojrzałych i niedojrzałych nasion wiesiołka dziwnego
Natural pigments in oil from ripe and unripe seeds of evening primrose

Udział nasion zielonych Percentage of unripe seeds	0%	10%
Karotenoidy; Carotenoids (mg·100 g ⁻¹)	3,9 ± 0,6	3,5 ± 0,9
β-karoten; β-carotene (mg·100 g ⁻¹)	śl	śl
Barwa; Colour ($A_{460} + A_{660}$)x1000	260	760

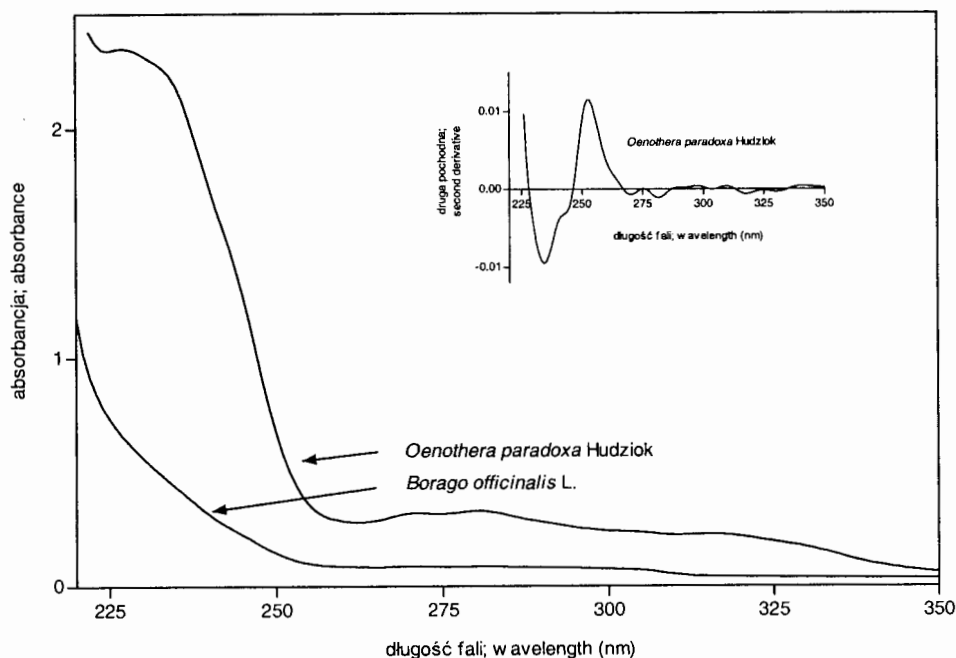
śl – ślad; trace

Ilość karotenoidów jest taka sama, a barwa wzrosła od wartości 260 do 760, co świadczy o większej ilości barwnika zielonego. Duża ilość barwnika zielonego w przechowywanych olejach wpłynęła na wartość stosunku absorpcji przy długości fali 232 nm, do absorpcji przy długości fali 270 nm. Proces starzenia oleju przebiega szybciej w oleju ekstrahowanym z nasion zawierających 10% nasion zielonych (rys. 1).

Widma absorpcji zmierzone dla badanych olejów nie posiadają wyraźnych, charakterystycznych pasm (rys. 2); są sumą wielu pasm, trudnych do rozdzielenia. Dlatego w celu identyfikacji pasm (co wiąże się z identyfikacją składników), często wykorzystuje się metodę liczenia II i IV pochodnej z widm absorpcji w funkcji długości fali [BUKOVITS, LEZEROVICH 1987]. Widma absorpcji można otrzymać różnymi sposobami.

W naszym przypadku zróżniczkowano widmo po pomiarze, metodą numeryczną.

Na rysunkach nr 2 i 3 przedstawiono te widma w zakresie absorpcji frakcji tłuszczowej i barwników, dla oleju wiesiołkowego i ogórecznikowego.

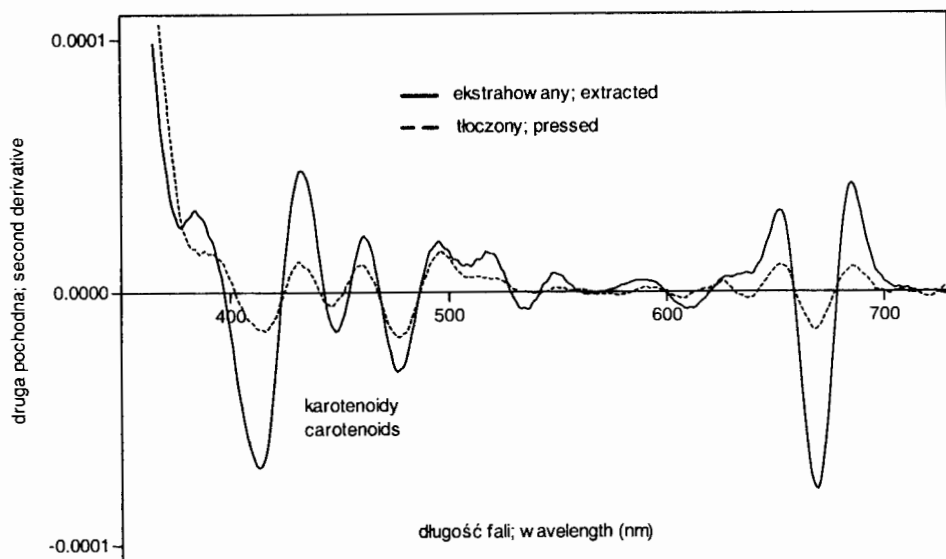


Rys. 2. Widma absorpcji oleju tłoczonego i ekstrahowanego z wiesiołka dziwnego i ogórecznika lekarskiego. Druga pochodna widma absorpcji oleju tłoczonego z wiesiołka dziwnego

Fig. 2. Absorption spectra of pressed and extracted biooil from evening primrose and borage. Second derivative of absorption spectrum of oil pressed from evening primrose

Widma różniczkowe absorpcji (rys. 2) pozwalają określić wartość absorpcji form dienowych i trienowych w części tłuszczowej. Wartość absorpcji form

dienowych jest wiêksza niê form trienowych, poniewaê iloœç kwasów tûszczowych nienasyconych zawieraj¹cych dwa wi¹zania podwójne jest prawie dwukrotnie wiêksza, niê kwasów tûszczowych zawieraj¹cych trzy wi¹zania podwójne [ZADERNOWSKI i in. 1992].

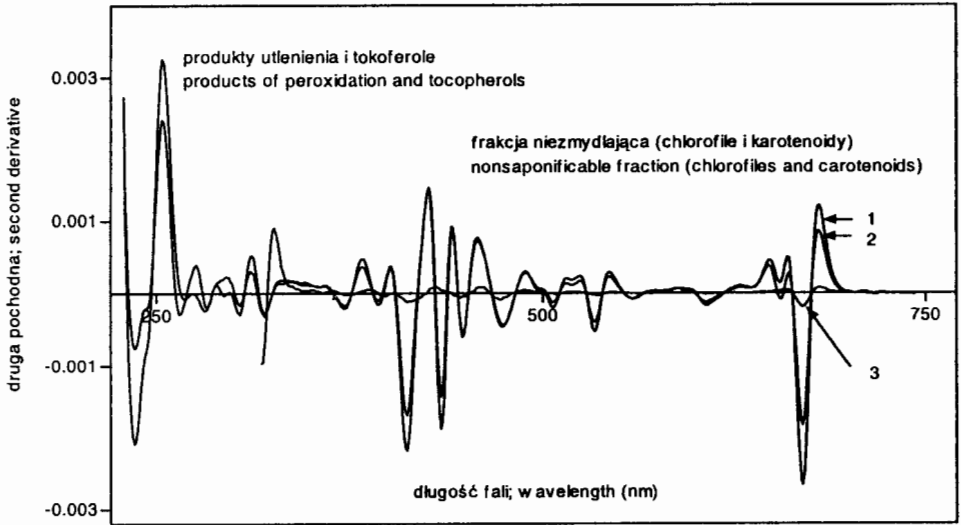


Rys. 3. Widma różniczkowe (2-pochodna) olejów z ogórecznika lekarskiego w zakresie absorpcji barwników

Fig. 3. 2nd derivative spectra of borage biooil in pigment absorption range

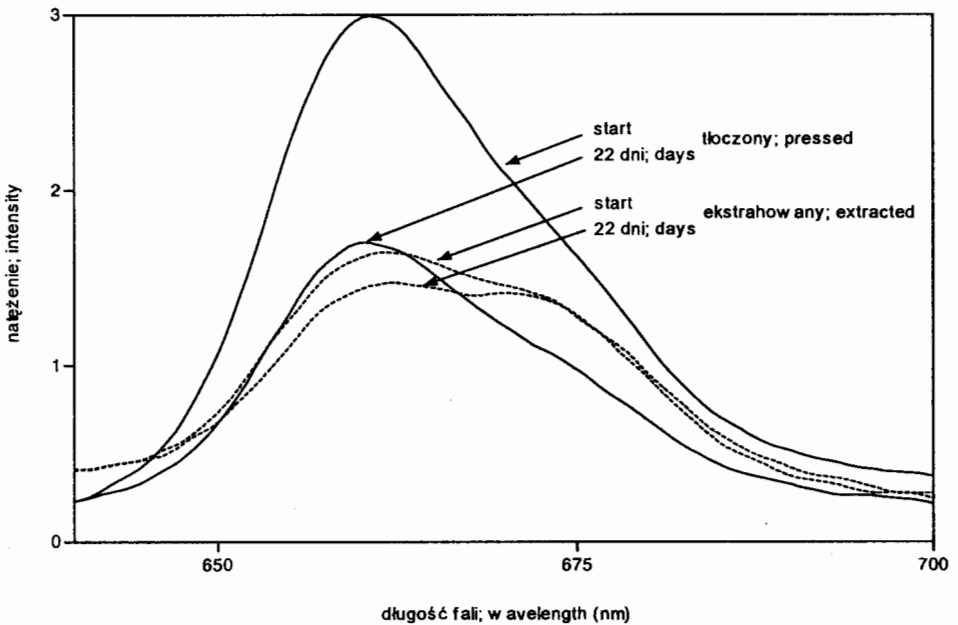
Barwniki – składniki frakcji niezmydlającej, to związki z grupy karotenoidów i chlorofili. Widmo różniczkowe (rys. 3) olejów z ogórecznika lekarskiego w zakresie absorpcji barwników pozwoliło zidentyfikować utlenione formy chlorofili – feofityny. Stwierdzono na podstawie tych widm, że nie ma feofityny *b* w oleju z nasion ogórecznika lekarskiego [PIEŃKOWSKA i in. 1998b]. Wartość absorbancji w maksimum absorpcji feofityny w badanych olejach jest zawsze wyższa dla olejów ekstrahowanych. Podobnie jak chlorofil, feofityna działa jak prooksydant i powoduje szybsze utlenianie się części tłuszczowej (rys. 1). Dużo barwnika zielonego zawierają oleje z nasion owoców porzeczki i agrestu. W tych olejach stwierdzono występowanie feofityny *a*, z maksimum absorpcji przy 410 nm i 670 nm, oraz feofityny *b*, z maksimum absorpcji przy 433 nm i 655 nm [GOEDHEER 1960].

Na rys. 4, przedstawiającym widmo różniczkowe oleju z nasion owoców porzeczki i agrestu, zaznaczono główne maksima absorpcji karotenoidów przy 448 nm i 474 nm [KOYAMA 1991]. Karotenoidy bardzo słabo fluoryzują. Pod koniec doświadczenia zaobserwowano fotobłaknięcie tego barwnika w układzie z chlorofilem podczas przechowywania, w obecności światła [BARRY i in. 1990]. Ze względu na silnie nienasycony charakter, karotenoidy utleniają się szybciej niż kwasy tłuszczowe. Cząsteczki te efektywnie wygaszają tlen singletowy, a także reagują z różnymi wolnymi rodnikami powstałymi w wyniku peroksydacji lipidów [BARTOSZ 1995].



Rys. 4. Widmo różniczkowe (2-pochodna) oleju z nasion agrestu (1), porzeczki (2) i ogórecznika lekarskiego (3)

Fig. 4. 2nd derivative spectra of biooils from goosberry (1), currants (2) and borage (3) seeds



Rys. 5. Widmo fluorescencji oleju tłoczonego i ekstrahowanego z nasion wiesiołka dziwnego po 22 dniach przechowywania, $\lambda_{wzb.}=440$ nm

Fig. 5. Fluorescence spectra of pressed and extracted biooils from evening primrose seeds, after 22 days storage, $\lambda_{exc.}=440$ nm

Otrzymane widma fluorescencji (rys. 5) olejów tłoczonych i ekstrahowanych sugerują, że energia wzbudzenia jest przekazywana od karotenidów do feofityny. Taki wniosek można wyciągnąć obserwując maksimum widma fluorescencji olejów wzbudzanych długością fali, równą 440 nm.

Wzbudzenie olejów falą o długości $\lambda_{\text{wzb.}}=440$ nm powoduje emisję z maksimum, około 700 nm, co odpowiada emisji barwników zielonych.

Wnioski

1. Stosunek wartości absorbancji przy długości fali 232 nm do wartości absorbancji przy długości fali 270 nm jest wyższy w olejach ekstrahowanych niż tłoczonych i rośnie podczas przechowywania olejów. Wpływ na wartość tego stosunku mają barwniki z grupy karotenoidów i chlorofili.
2. Różniczkowanie widm absorpcji pozwala zidentyfikować różne formy barwników.
3. Karotenoidy przekazują energię optycznego wzbudzenia do feofityny.

Literatura

- ARUOMA O.I. 1994. *Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants*. *Fd. Chem. Toxic.* 32: 671–683.
- BARRY P., YOUNG A.J., BRITTON G. 1990. *Photodestruction of pigments in higher plants by herbicide action*. *J. Exp. Bot.* 41: 123–129.
- BARTOSZ G. 1995. *Peroksydacja lipidów*. W: *Druga twarz tlenu*. PWN, Warszawa: 94–98.
- BRATKOWSKA I., NIEWIADOMSKI H. 1973. *The Relationship between Autoxidation of Triglycerides and Chlorophylls Transformation*. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 136: 71–75.
- BUKOVITS G.J., LEZEROVICH A. 1987. *Determination of individual tocoferol by derivative spectrophotometry*. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 64(4): 167–170.
- GOEDHEER J.C. 1960. *Spectroscopy of chlorophylls and chlorophyll proteins*. In.: *The Chlorophylls* Eds. Vernon L.P. and Seely G.R., section 4: 723–729.
- GRYS S. 1998. *Patologiczne efekty rozkojarzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych rodziny n-6, n-3 w organizmie człowieka*. III Sympozjum pt. „Olej z nasion wiesiołka i inne oleje zawierające kwasy n-6, n-3 w profilaktyce i terapii. Sulejów, 15–16 V 1998: 89–107.
- KOYAMA Y. 1991. *Structures and function of carotenoids in photosynthetic system*. *J. Photochem. Photobiol.* 9B: 265–280.
- MAŁECKA M. 1995. *Składniki frakcji nieglicerynowej olejów roślinnych jako przeciwutleniacze*. *Tłuszcze Jadalne* 30(3): 123–130.
- NIEWIADOMSKI H., BRATKOWSKA I. 1970. *The influence of the autooxidation of rapeseed oil on the decomposition of pigments of chlorofil group*. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 91: 207–211.
- Norma Branżowa BN-86/8050-30. 1986. *Spektrofotometryczne oznaczanie barwy ogólnej*

olejów.

O'CONNORS R.T. 1960. *Fats, oils, fatty acid and glycerides UV spectroscopy*. In: The Encyclopedia of Spectroscopy New York: 102–129.

PIEŃKOWSKA H. 1996. *Wybrane rośliny alternatywne*. Humanistyka i Przyrodznawstwo, ART Olsztyn 2: 205–214.

PIEŃKOWSKA H., SMYK B., RASHED A.A., ZADERNOWSKI R. 1998a. *Substancje biologicznie aktywne bioolejów roślinnych. Cz 2. Charakterystyka spektralna bioolejów*. Zbiór Prac III Sympozjum pt. Olej z nasion wiesiołka i inne oleje zawierające kwasy n-6, n-3 w profilaktyce i terapii. Sulejów 15–16 V 1998: 145–148.

PIEŃKOWSKA H., SMYK B., ZADERNOWSKI R., NOWAK-POLAKOWSKA H. 1998b. *Metody spektroskopowe wykorzystane do badań bioolejów roślinnych stosowanych w medycynie*. II Ogólnopolskie Sympozjum pt. Problemy Fizyki Medycznej. Szczyrk, 15–18 XI 1998: 82–85.

PORTER N.A., CALDWELL S.E., MILLS K.A. 1995. *Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids*. Lipids 30: 277–290.

ZADERNOWSKI R., NOWAK-POLAKOWSKA H., WIERZBICKA B., PIEŃKOWSKA H. 1993. *Charakterystyka lipidów bioolejów roślinnych. Wpływ składu kwasów tłuszczowych na trwałość oleju z nasion wiesiołka i bulwek cibory*. Acta Acad. Agricult. Tech. Olst. 25: 217–230.

ZADERNOWSKI R., PIEŃKOWSKA H., STOŁYCHWO A. 1992. *Charakterystyka lipidów nasion wiesiołka*. Zbiór Prac I Sympozjum pt. Olej wiesiołkowy w profilaktyce i terapii. Łódź, 9–10 X 1992: 58–63.

Słowa kluczowe: rośliny alternatywne, biooleje, widma absorpcji, widmo różniczkowe, feofityna, karotenoidy

Streszczenie

Przeprowadzono pomiary spektralne bioolejów: z nasion wiesiołka dziwnego i ogórecznika lekarskiego oraz z nasion owoców porzeczki i agrestu. Zwrócono uwagę na chlorofil, który powoduje oksydację bioolejów w obecności światła podczas przechowywania. Zmiany oksydacyjne w bioolejach określono analizując widma absorpcji i fluorescencji. W celu zidentyfikowania słabo rozdzielonych pasm, odpowiedzialnych za część tłuszczową i frakcję niezmydlającą, różniczkowano widma absorpcji.

SPECTRAL PROPERTIES OF BIOOILS OBTAINED FROM SEEDS
OF SELECTED ALTERNATIVE PLANTS*Halina Pieńkowska*¹, *Bogdan Smyk*², *Ryszard Zadernowski*³¹ Institute of Technical Development, Warmia and Masuria University, Olsztyn² Department of Physics and Biophysics, Warmia and Masuria University, Olsztyn³ Department of Processing and Chemistry of Plant Materials,
Warmia and Masuria University, Olsztyn

Key words: biooil, absorption spectra, 2nd derivative spectra, pheophytin, carotenoids

Summary

Spectral measurements of biooils from seeds of evening primrose, borage and currant and gooseberry fruits were performed. Attention was paid to chlorophylls, which cause an oxidation of biooils at presence of light during storage. Oxidative changes in biooils were qualified by analysis of the absorption and fluorescence spectra. The absorption spectra were differentiated to identify slightly separated bands related to fatty acids and unsaponifiable fraction.

Dr Halina Pieńkowska

Instytut Wychowania Technicznego

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

ul. Okrzei 1a

10-256 OLSZTYN