

Wacław Strobel<sup>1</sup>, Jerzy Tys<sup>1</sup>, Agnieszka Sujak<sup>2</sup>, Mariusz Gagoś<sup>2</sup>, Wojciech Żak<sup>2</sup>,  
Anna Kotlarz<sup>3</sup>, Roman Rybacki<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Instytut Agrofizyki PAN w Lublinie, <sup>2</sup> Akademia Rolnicza w Lublinie

<sup>3</sup> Akademia Rolnicza w Szczecinie, <sup>4</sup> Zakłady Tłuszczowe „Kruszwica” SA

## Wpływ technologii zbioru na zawartość chlorofili i karotenoidów w nasionach rzepaku, wytlókach i oleju

### Harvesting technique versus the content of chlorophylls and carotenoids in rape seeds, oilcakes and rapeseed oil

**Słowa kluczowe:** rzepak, olej, wytlóki, karotenoidy, chlorofile

Celem pracy było określenie zawartości barwników w nasionach rzepaku, oleju i wytlókach, w zależności od terminu i technologii zbioru. Metoda badania stężenia karotenoidów i chlorofili polegała na analizie ich widm absorpcji elektronowej w zakresie UV-Vis. Przeprowadzone badania zawartości barwników wykazały, że termin zbioru ma wpływ na stężenie zarówno chlorofilu, jak i karotenoidów powodując zmniejszenie ich ilości. W przypadku zbioru dwuetapowego stężenie barwników w nasionach jest większe niż podczas zbioru jednoetapowego. Stosując zbiór dwuetapowy obserwowano dynamiczne zmiany zawartości barwników. Badania wskazują na to, iż wytlóki zawierają największe stężenie barwników.

**Key words:** rapeseed, oil, rapeseed cake, carotenoids, chlorophylls

The content and composition of photosynthetic pigments are indicators of the quality of seeds and oil. The applied harvesting technique is one of the factors limiting the crop quality.

The aim of the research was to estimate the pigment content and composition in seeds, oil and rapeseed cake and its concentration in relation to the applied harvesting technologies as well as harvest time. Cultivar Lisek harvested at different stages of maturity was used and two-stage harvest technique was applied. The analysis was conducted on the oil obtained by pressing the seeds in hydraulic press at the temperature of 20°C. The UV-Vis absorption technique was applied as the method of determination of carotenoid pigments and chlorophyll content. The results show that pigments content in seeds, oil and rapeseed cake strongly depended on the harvest time. It was found that the delayed harvest resulted in reduction of the pigment and chlorophyll content in each of examined plant material. It was of notice that the ratio of total concentrations of the pigments remained approximately constant and was independent of harvesting time and maturity stage of rape. The direct combining and two-stage harvesting methods were additionally compared and nearly three-fold decrease in total pigment concentration was found in the case of direct combining harvesting. The chlorophyll contents alterations were observed in a two-stage harvesting method. Summing up, the used harvesting technique as well as the harvesting time were the crucial factors in final seeds quality. The results also show that oil cakes contained much higher pigment concentrations as compared to oil.

## Wstęp

---

Zawartość i skład barwników w nasionach rzepaku ma kluczowe znaczenie dla jakości oleju rzepakowego. W oleju rzepakowym możemy generalnie wyróżnić dwie główne grupy barwników: pierwsze należą do grupy karotenoidów, drugie to chlorofile (a oraz b). O ile obecność karotenoidów jest pożądana z powodu ich działania prowitaminowego, to chlorofile (a zwłaszcza produkty ich rozpadu) niekorzystnie wpływają na jakość oleju, co przejawia się zmniejszeniem stabilności oleju, działaniem prooksydacyjnym i wpływem na przyciemnienie oleju (Britton i in. 1995a, 1995b, Cenkowski i in. 1989, Daun i in. 1987, Gruszecki 1999, Jerzewska i in. 1986, Niewiadomski 1966, Sadowska i in. 1995). Z tego względu zawartość chlorofilu w nasionach rzepaku technologicznego nie powinna przekraczać 24 ppm (Daun i in. 1987). Istotnym wskaźnikiem jakości nasion oraz oleju, szczególnie oleju tłoczonego na zimno, jest zawartość i skład poszczególnych barwników (Kozłowska i in. 1988; Krygier i in. 1996, 2000; Pathak i in. 1991). Ponieważ ilość oleju, skład chemiczny, a co za tym idzie jego jakość, związane są z dojrzałością nasion (Babuchowski 1963, Rybacki 2003), badania zmiany zawartości barwników w końcowej fazie dojrzewania nasion mogą stanowić cenną informację agrotechniczną.

Zarówno technologia zbioru, jak i termin jego przeprowadzenia, ma decydujące znaczenie dla końcowej jakości nasion. Istotne znaczenie będą miały właściwe terminy rozpoczęcia i zakończenia poszczególnych elementów procesu technologicznego, np. pokosowania, zbioru roślin z pokosów czy zbioru jednoetapowego (Babuchowski 1963, Tys 1997, Rodkiewicz i in. 2002). Ścisłe przestrzeganie tych terminów jest wymuszone dynamiką procesów biologicznych i fizycznych zachodzących w czasie dojrzewania. W efekcie niewłaściwej agrotechniki do przerobu trafiają nasiona z wysoką zawartością chlorofilu, o niekorzystnym profilu kwasów tłuszczowych i silnie zaawansowanych procesach oksydacyjnych (Rybacki 2003). Uzyskanie z takich nasion oleju o wysokiej jakości wymaga stosowania dodatkowych kosztownych operacji technologicznych (ziemi bielącej, węgla aktywnego itd.). Wpływa to na dodatkowe podrożenie produkcji oraz zmniejszenie wydajności i jakości (Rybacki 2003).

Jedną z technologii coraz częściej stosowanych do pozyskiwania oleju z nasion rzepaku jest metoda tłoczenia „na zimno”. Istotną wadą tego procesu jest jego stosunkowo niska wydajność, ponieważ część oleju pozostaje w wytloku. Jak wykazują badania (Fornal i in. 1989, 1994; Jackowska i in. 2004) stężenie oleju w wytloku pochodzącym z różnych typów tłoczni wynosi od 10,5 do 14%. Z tych względów badanie zawartości i analiza składu barwników w nasionach, oleju i wytlokach w zależności od terminu i techniki zbioru stało się celem niniejszej pracy.

## Metoda oznaczania barwników

---

W badaniach użyto nasion rzepaku odmiany Lisek zbieranych w różnym stopniu dojrzałości, od bardzo wczesnej do opóźnionej. Dodatkowo porównywano dwie metody zbioru: jedno- i dwuetapową. Badania prowadzono na nasionach, oleju oraz wyciekach. Materiał pochodził z doświadczeń odmianowych SDOO Głębokie. Próbkę nasion rzepaku pobierano z pola co 2 dni. Łącznie pobrano próbki w 9 terminach, po 4 ze zbioru przyspieszonego i opóźnionego oraz 1 w terminie optymalnym. Dojrzałość techniczną (dla technologii dwuetapowej) oraz optymalną (dla technologii jednoetapowej) określano posługując się kluczem opracowanym przez Muśnickiego i Horodyskiego (1989). Badania laboratoryjne wykonano w przeciągu 30 dni od pobrania, w tym czasie nasiona o wilgotności 7% były przechowywane bez dostępu światła w temperaturze 7–9°C.

### Ekstrakcja barwników z nasion

Nasiona poddane rozdrobnieniu w młynku laboratoryjnym (2 g) zalewano 15 ml roztworu chloroformu i alkoholu metylowego (w stosunku 2 : 1; temperatura otoczenia 20°C; bez dostępu światła). Następnie próbkę wytrząsano przez 15 min. w celu ekstrakcji barwników chlorofilowych i karotenoidowych, po czym poddano odwirowaniu (15000 obr./min.) w celu pozbycia się resztek rozdrobnionego rzepaku.

### Otrzymywanie oleju

Olej z nasion rzepaku tłoczono w prasie hydraulicznej wyprodukowanej w warsztatach Instytutu Agrofizyki. Próbkę 20 g całych nasion poddano narastającemu naciskowi do około 10000 kPa przez 1 min. (temperatura nasion 20°C, efektywność procesu ok. 70%). Olej gromadzono w światłoszczelnym pojemniku wypełnionym azotem i natychmiast poddawano badaniom na zawartość barwników.

Wytłoki pochodziły z nasion, które poddano procesowi tłoczenia. Postępowano z nimi w taki sam sposób jak z nasionami z pominięciem rozdrabniania w młynku.

Zawartość barwników przedstawiano w postaci barwy ogólnej (Norma Branżowa. Tłuszcze roślinne jadalne. Spektrofotometryczne oznaczenie barwy ogólnej olejów. BN-86 8050-30), która została wyrażona jako suma absorbancji karotenoidów i chlorofili  $\times 1000$ . Dodatkowo, w tych jednostkach, na wykresach przedstawiono osobno punkty pomiarowe dla chlorofili i karotenoidów.

Oznaczanie stężenia karotenoidów i chlorofili oraz barwy ogólnej w wyciekonym oleju polegało na pomiarze absorbancji rozcieńczonych w acetonie próbek olejów zgodnie z wyżej wymienioną Normą Branżową. Próbki olejów rozcieńczano zgodnie z zaleceniami zawartymi w normie. Według zamieszczonych w normie wzorów dokonano również obliczeń barwy ogólnej, barwy karotenoidów i chlorofili.

Metoda badania ilości barwników karotenoidowych oraz chlorofilowych polegała na analizie ich widm absorpcji w zakresie 400–750 nm. Pomiar widm absorpcji elektronowej zostały dokonane przy użyciu dwuwiązkowego spektrofotometru UV-Vis Cary 300 Bio firmy Varian, wyposażonego w kuwety kwarcowe o pojemności 2 ml, o drodze optycznej 1 cm, z rozdzielczością 0.5 nm. Pomiarów dokonano na trzech niezależnych próbach, z każdej kombinacji oleju, nasion i wytłoku. Badania prowadzono w temperaturze 20°C. Temperatura stabilizowana była elementem Peltiera z dokładnością  $\pm 0,1^\circ\text{C}$ .

Widma absorpcji zostały poddane analizie przy pomocy programu Grams firmy Galactic oraz przedstawione w postaci wykresów widm przy użyciu programu Grapher 2.0.

## Wyniki badań

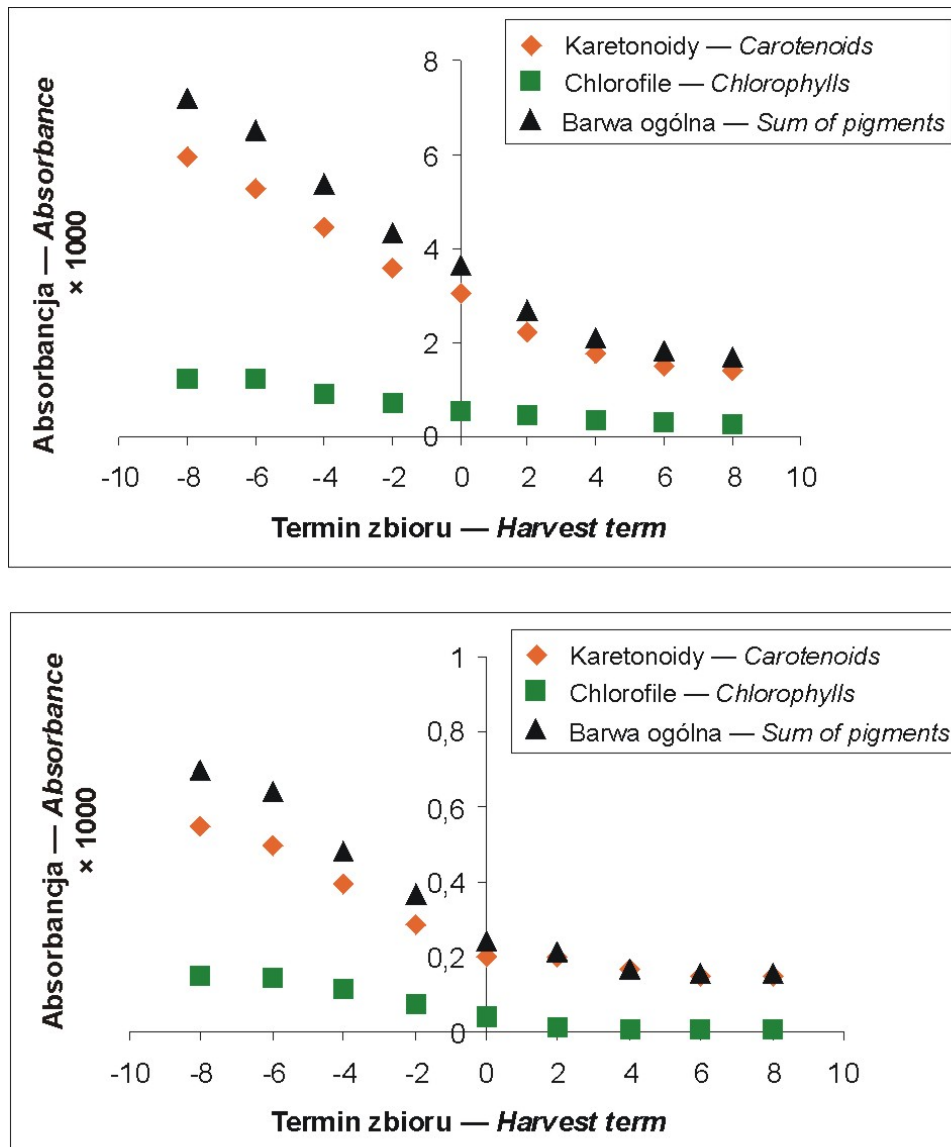
---

Uzyskane wyniki badań potwierdzają, że zarówno sposób zastosowanego zbioru, jak i jego termin znacząco różnicują obecność karotenoidów, jak i chlorofili. Największą koncentrację karotenoidów stwierdzono w nasionach pochodzących ze zbioru dwuetapowego bardzo przyspieszonego (rys. 1).

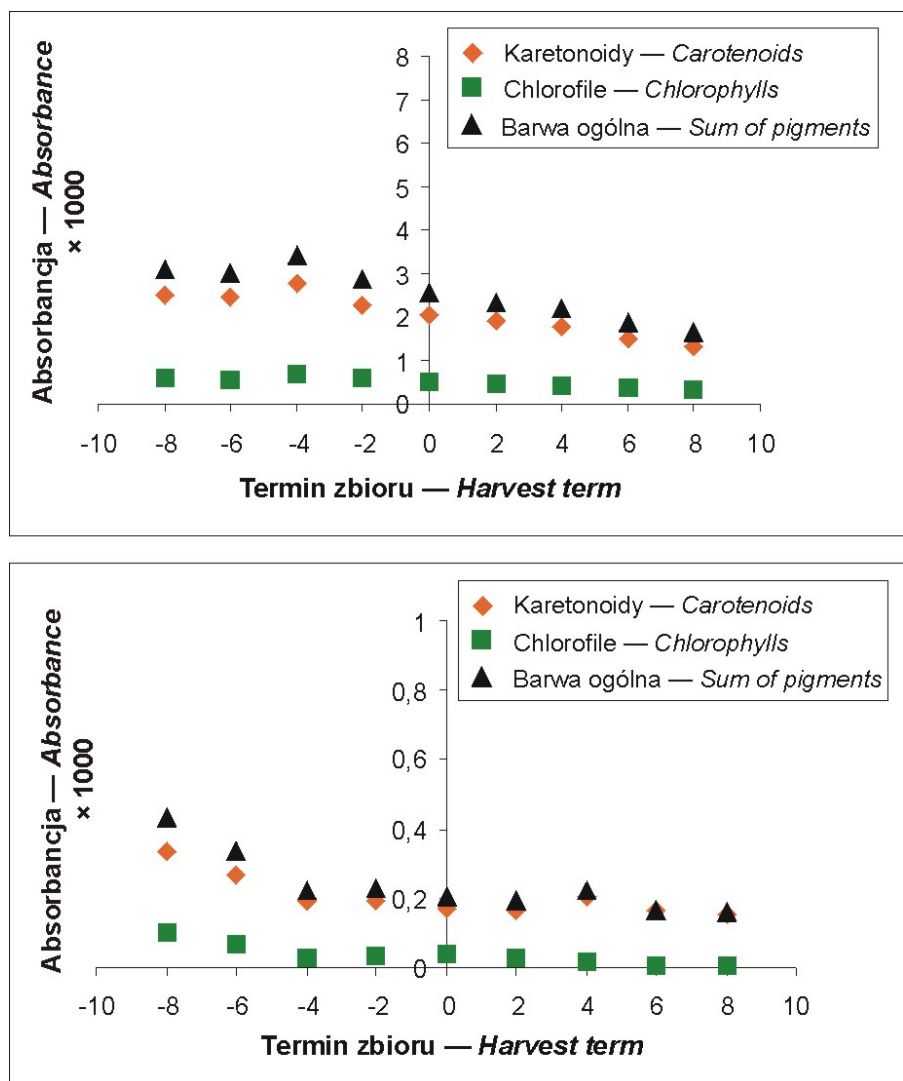
Zawartość chlorofili w tych samych nasionach była sześciokrotnie mniejsza i zachowująca tendencję spadkową przy zbiorze opóźnionym. Wyższe ilości chlorofili w nasionach pochodzących ze zbioru dwuetapowego stwierdzono również w innych wieloletnich badaniach. Stwierdzona ilość chlorofili była uzależniona zarówno od terminu pokosowania, jak i terminu omłotu pokosów (Tys 1997). Wskazuje to na możliwość naturalnego „sterowania” i kontroli zawartości tego niekorzystnego dla technologii przetwórstwa barwnika (Dąbrowski i in. 1987). Zawartość karotenoidów w nasionach zmniejsza się nieznacznie w zależności od terminu zbioru. Prawidłowo przeprowadzony zbiór stwarza możliwość prawie całkowitego wykluczenia niekorzystnych chlorofili przy jednoczesnym zachowaniu znacznej ilości cennych karotenoidów.

Podobny trend, lecz przy około dziesięciokrotnie mniejszym udziale barwników, obserwujemy dla próbek oleju.

W nasionach zebranych technologią jednoetapową stwierdzono prawie trzykrotnie mniejsze ilości badanych barwników (rys. 2). Wskazuje to na lepszą jakość nasion zbieranych tą technologią. W oleju takich relacji nie stwierdzono, a oleje pochodzące z nasion zbieranych różnymi technologiami różnią się w stopniu nieznacznym, świadczy to o stałym poziomie frakcji chlorofili rozpuszczonych w lipidach.

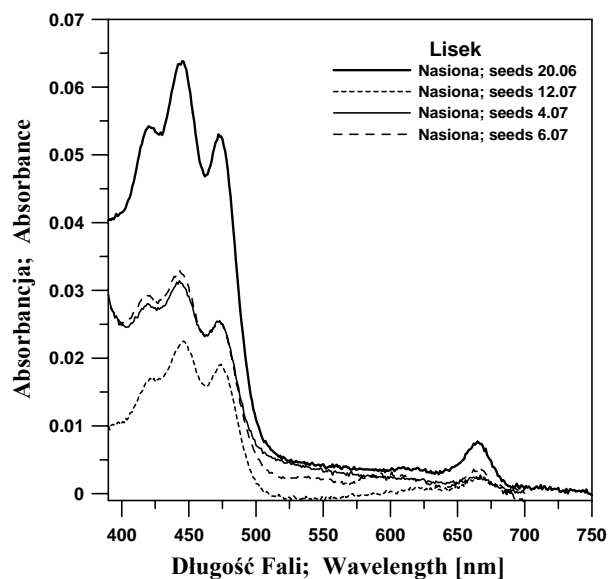


Rys. 1. Zmiany zawartości barwników w nasionach (panel górny) i oleju (panel dolny) w zależności od terminu zbioru dwuetapowego — Changes in pigment content in seeds extracts (upper panel) and oil (lower panel) versus harvesting time in 2-stage harvesting method

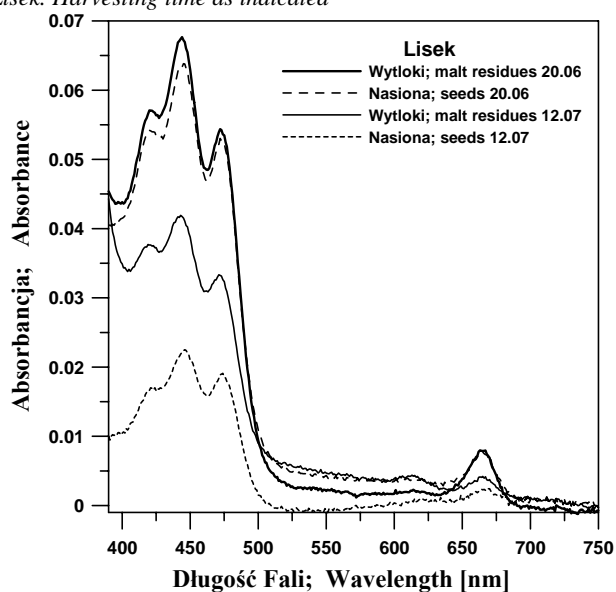


Rys. 2. Zmiany zawartości barwników w nasionach (panel górný) i oleju (panel dolny) w zależności od terminu zbioru jednoetapowego — *Changes in pigment content in seeds extracts (upper panel) and oil (lower panel) versus harvesting time in 1-stage harvesting method*

Dokonana analiza porównania widm absorpcji ekstraktów (chloroformowo-metylowych) nasion pochodzących z różnych terminów zbioru (rys. 3) wskazuje na wyraźną różnicę pomiędzy zawartością karotenoidów w porównaniu do ilości chlorofili, jak również różnicę w zawartości obu tych barwników w nasionach zbieranych w różnych terminach dojrzałości.



Rys. 3. Przykładowe widma absorpcji elektronicznej ekstraktów z nasion rzepaku odmiany Lisek zbieranych w różnych terminach — *The exemplary electronic absorption spectra of rape seeds extract, cultivar Lisek. Harvesting time as indicated*



Rys. 4. Przykładowe widma absorpcji elektronicznej ekstraktów z wylłoku nasion rzepaku odmiany Lisek zbieranych w różnych terminach — *The exemplary electronic absorption spectra of malt residues rape seeds extract, cultivar Lisek. Harvesting time as indicated*

Badania wykazały większą zawartości barwników w wytlókach niż w nasionach (rys. 4). Wytłok zawiera znacznie większe ilości suchej masy i tym możemy tłumaczyć „zagęszczenie” barwników w wytloku pomimo częściowej redukcji spowodowanej ich obecnością również w oleju. Obecność w wytloku okrywy nasiennej decyduje również o większych różnicach pomiędzy absorbancją dla nasion i oleju (Płatek i in. 1998, Rotkiewicz i in. 1999). Wynika z tego, że przy określaniu zawartości barwników w oleju tłoczonym z nasion znaczna ilość barwników powinna zostać w wytloku. Przeprowadzone badania potwierdziły ten fakt.

## Podsumowanie

---

Terminy zbioru miały wpływ na zawartość chlorofili. Nasiona pochodzące z bardzo wczesnego zbioru, niezależnie od stosowanej technologii, charakteryzowały się wysoką zawartością chlorofili. Świadczą o tym zmierzone wartości absorbancji. Barwa ogólna dla zbioru dwuetapowego była na poziomie od 775 do 1200, a dla jednoetapowego od 557 do 667. Wskazuje to na nieprawidłowo dobrany termin zbioru dwuetapowego. Dla oleju maksymalnie wynosiła 140 dla zbioru dwuetapowego, a 102 dla jednoetapowego. W przypadku zbioru opóźnionego stwierdzono śladowe ilości chlorofili.

Przeprowadzone badania w celu określenia zawartości karotenoidów w oleju otrzymanym metodą tłoczenia z nasion rzepaku pochodzących z różnych terminów zbioru wykazały, że zawartość barwników karotenoidowych zmienia się nieznacznie: dla próbek oleju od 163 do 497 dla zbioru dwuetapowego i od 163 do 332 dla jednoetapowego. Natomiast zakres zmienności barwników karotenoidowych dla nasion wynosił odpowiednio dla zbioru dwu- i jednoetapowego 1754–5976 i 1755–2442.

Należy zauważyć, że zawartość karotenoidów w próbkach nasion pobranych w ostatnich terminach obiema metodami pozostawała na jednakowym poziomie. Natomiast we wczesnym zbiorze dwuetapowym była około dwukrotnie większa niż w przypadku zbioru jednoetapowego.

Również zakres zmian barwy ogólnej (określanej jako suma absorbancji barwników z grupy karotenoidowych i chlorofilowych) ilustruje znaczne różnice pomiędzy zawartością barwników w próbkach oleju i nasion pochodzących z terminów bardzo wczesnych w stosunku do najpóźniejszych. Można zauważyć, że całkowity stosunek zawartości chlorofili do karotenoidów we wszystkich terminach zbioru pozostawał niezmienny. Zatem tylko całkowita zawartość barwników ulegała zmianie, lecz ich stosunek pozostawał niemal stały dla wszystkich z badanych terminów. Praktycznie może to oznaczać, że pewna równowaga stosunku zawartości chlorofil – karotenoid, związana oczywiście z terminem zbioru, zapewnia dobrą jakość nasion. Przekroczenie właściwych dla danej odmiany terminów zbioru może powodować zachwianie tej liniowej równowagi, czyli



zmianę stosunku barwników. Może to spowodować pogorszenie jakości otrzymanego oleju.

Jak wynika z przeprowadzonych badań, im wcześniejszy termin zbioru (20.06) tym stężenie zarówno chlorofili, jak i karotenoidów jest większe. Dla terminów 4.07 i 6.07 istotnych różnic nie stwierdzono. Natomiast porównując skrajne terminy zbioru (20.06 i 12.07) można zauważyć znaczny spadek zawartości barwników karotenoidowych oraz chlorofilowych, niemniej jednak całkowity stosunek zawartości chlorofili do karotenoidów dla obu skrajnych terminów zbioru pozostaje stały i wynosi  $0,16 \pm 0,03$ . Dla terminów pośrednich 4.07 i 6.07 stosunek ten wynosi również  $0,16 \pm 0,03$ . Zatem całkowita zawartość barwników ulega zmianie, lecz ich stosunek pozostaje niemal stały dla wszystkich z badanych terminów. Związane jest to z przemianami biochemicznymi zachodzącymi w nasionach na poziomie molekularnym. Podobnie mają się do siebie stosunki barwników w wyciekach nasion dla skrajnych i środkowych terminów zbioru.

## Wnioski

---

Przeprowadzone badania wykazały, iż termin i sposób zbioru ma wpływ zarówno na ilość chlorofilu, jak i karotenoidów. Stwierdzono około 10-krotnie mniejsze stężenie barwników w oleju niż w nasionach. Zbiór opóźniony wpływa na zmniejszenie zawartości obu barwników w każdym z badanych materiałów. Termin zbioru ma kluczowe znaczenie, jeżeli chodzi o zawartość barwników fotosyntetycznych, lecz stosunek ich koncentracji (chlorofil / karotenoidy) pozostaje w przybliżeniu stały. Dodatkowo porównano różne metody zbioru (zbiór jedno- i dwuetapowy). Można stwierdzić, że dla zbioru dwuetapowego zmniejszenie zawartości barwników jest procesem bardziej dynamicznym niż dla zbioru jednoetapowego. Obserwowano tę tendencję zarówno dla próbek oleju jak i nasion. Może to wskazywać na nieprawidłowe, zbyt wczesne ustalenie terminów zbioru dwuetapowego.

## Literatura

---

- Babuchowski K. 1963. Wpływ stopnia dojrzałości nasion rzepaku na ilość i jakość oleju. *Tłuszcze i Środki Piorące*, 2: 57-67.
- Britton G. 1995a. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal*, 9: 1551-1558.
- Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. 1995b. Carotenoids. Vol. 1A, Birkhäuser Verlag, Basel, s. 2, 3, 27-70.
- Cenkowski S., Sokhansoni S., Sosulski F.W. 1989. The effect of drying temperature on green colour and chlorophyll content of canola seed. *Can. Inst. Food Sci. Technol.*, 22, 4: 383-386.

- Dąbrowski K., Peć K., Rutkowski A., Kopczyński J. 1987. Zmiany zawartości substancji niepożądanych w trakcie dojrzewania nasion uszlachetnionych odmian rzepaku. Wyniki badań nad rzepakiem ozimym, IHAR, 121-129.
- Daun J.K. 1987. Chlorophyll in Canadian Canada and Rapeseed and its role in grading. 7th International Rapeseed Congress, Poznań, Poland, 1451-1456.
- Fornal I., Jaroch R., Kaczyńska B., Ornowski A. 1989. The influence of hydrothermal treatment of rapeseeds on their selected physical properties and ability to crush during grinding. *Fat Sci. Technol.*, 94 (5): 192-196.
- Fornal I., Sadowska I., Jaroch R., Kaczyńska E., Winnicki T. 1994. Effect of drying of rapeseeds on their mechanical properties and technological usability. *Int. Agrophysics*, 8 (2): 215-224.
- Gruszecki W.I. 1999. Carotenoids in Membranes. In: Frank H.A., Young A.J., Britton G., Cogdell R. (eds.). *The Photochemistry of Carotenoids*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London.
- Jackowska I., Krasucki W., Piekarski W., Tys J., Zajac G. 2004. *Rzepak z pola do baku*. PWRiL, Warszawa.
- Jerzewska M., Płatek T. 1986. Instrumentalna metoda oznaczania barwy olejów roślinnych z wykorzystaniem aparatu Spekol-11. *Tłuszcze Jadalne*, XXIV, 2: 10-21.
- Kozłowska H., Nowak H., Zadernowski R. 1988. Rapeseed hulls fat characteristics. *Fat Sci. Technol.*, 6: 216-219.
- Krygier K., Obiedziński M., Ratusz K. 1996. Impact of bleaching process on quality of cold crushed rapeseed oil. *Vegetable Plants*, IHAR, 455-459.
- Krygier K., Wroniak M., Grześkiewicz S. 2000. Research on impact of broken seeds on the quality of cold-pressed rapeseed oil. *Vegetable Plants*, IHAR, 587-596.
- Muśnicki Cz., Horyński A. 1989. Projekt klucza do oznaczania stadiów rozwojowych rzepaku ozimego. *Zesz. Probl.*, IHAR, Radzików, I: 152-165.
- Niewiadomski H., Bratkowska I. 1966. Zawartość barwników grup chlorofilu w surowych olejach rzepakowych. *Roczniki Technologii i Chemii Żywności*, XII: 207-221.
- Pathak P.K., Agrawal Y.C., Singh B.P.N. 1991. Effect of elevated drying temperature on rapeseed oil quality. *Journal of the AOCS*, 68 (8): 580-582.
- Płatek T., Jerzewska M., Węgorowski J., Katter A. 1998. Obserwacje procesów przemysłowej rafinacji oleju z nasion rzepiku potrójnie ulepszonego. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XIX: 211-218.
- Rotkiewicz D., Konopka I. 1999. Przechowalnicze możliwości zwiększania stabilności oleju rzepakowego. *Natural Science*, 2: 21-27.
- Rotkiewicz D., Konopka I., Tańska M. 2002. Barwniki karotenoidowe i chlorofilowe olejów roślinnych oraz ich funkcje. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXIII (2): 561-576.
- Rybacki R. 2003. Czynniki kształtujące cechy jakościowe nasion rzepaku. Praca doktorska. Instytut Agrofizyki PAN, Lublin.
- Sadowska I., Fornal I., Ostaszyk A., Winnicki T. 1995. Evaluation of the technological quality of rapeseeds dried in industrial driers. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 427: 127-135.
- Tys J., Rybacki R. 2001. Rzepak – jakość nasion. Procesy zbioru, suszenia, przechowywania. *Acta Agrophysica*, 44: 1-73.
- Tys J. 1997. Czynniki kształtujące właściwości agrofizyczne rzepaku. *Acta Agrophysica*, 6: 1-72.