

*Antoni Rutkowski, Zdzisław Makus, Aleksandra Stefaniuk*

## ZALEŻNOŚĆ TRWAŁOŚCI OLEJU RZEPAKOWEGO OD STOPNIA DOJRZAŁOŚCI NASION

Instytut Przemysłu Tłuszczowego w Warszawie

Dyrektor Instytutu: doc. dr A. Rutkowski

Procesy przebiegające w okresie dojrzewania nasion są szczególnie interesującym przedmiotem badań biochemicznych. W tym okresie przebiegają intensywnie przemiany substancji nasiennej, które wywierają zasadniczy wpływ na charakter kształtującego się nasienia. Okres ten ma np. decydujący wpływ zarówno na własności samych nasion rzepaku jak i zawartego w nich tłuszczu.

Rozpatrując zagadnienie zmian zachodzących w czasie dojrzewania nasion wyłącznie w aspekcie trwałości tłuszczu najistotniejsze będzie skoncentrowanie uwagi na:

a) aktywność lipazy nasiennej, która powoduje w czasie przechowywania nasion hydrolizę tłuszczu. Powstające w tym procesie wolne kwasy tłuszczowe są przyczyną strat w czasie produkcji oleju rafinowanego, oraz pośrednio obniżają odporność tłuszczu na autooksydację,

b) odporność tłuszczu na autooksydację, która decyduje o większej lub mniejszej trwałości zawartego w nasionach oleju.

Zagadnienie hydrolizy tłuszczów jest związane bezpośrednio z lipazą. Lipaza, w rosnącej roślinie bierze udział w procesie syntezy tłuszczu. Po oddzieleniu nasienia od macierzystej rośliny jest ona biokatalizatorem procesu hydrolizy tłuszczu<sup>5, 10</sup>.

Willstater i Waldschmied - Leitz<sup>16</sup> prowadząc badania nad lipazą nasienną określili jej dwie formy występujące w nasionach. Według tego podziału w nasionach znajdujących się w stanie biologicznego spoczynku, występuje tzw. „Spermatolipaza“, która w okresie kiełkowania przechodzi w „Blastolipazę“. Spermatolipaza jest ściśle związana z kompleksem białkowym cytoplazmy i na skutek tego jest prawie że nieczynna w środowisku obojętnym. Na skutek zwiększenia aktywności enzymów w okresie kiełkowania, kompleks białkowy lipazy ulega odbudowie i lipaza rozpoczyna destruktywne działanie na tłuszcze wyrażające

się wzrostem zawartości wolnych kwasów tłuszczowych. Do niedawna sądzono, że lipaza roślinna nie jest rozpuszczalna w wodzie, jednak prace B a m a n n a i innych<sup>2</sup> problem ten całkowicie wyjaśniły wykazując dobrą rozpuszczalność jej w wodzie, glicerynie i słabych ługach.

Materiał nasienny różnego pochodzenia wykazuje znaczne różnice w zawartości enzymów lipolitycznych. Pewien wpływ wywiera tu dojrzałość i wiek poszczególnych nasion<sup>1</sup>. Również warunki klimatyczne mogą oddziaływać na zawartość enzymów. Stwierdzono na przykład, że większa aktywność enzymów występuje u nasion pochodzących z północnych szerokości geograficznych<sup>11</sup>. Istnieją również przesłanki stwierdzające oddziaływanie rocznego cyklu endogenicznego na aktywność lipolityczną. Np. w czasie przechowywania nasion *Helloborus niger* aktywność lipazy była większa w kwietniu, aniżeli w styczniu<sup>1</sup>. Mechanizm działania i aktywność lipazy kształtującego się nasienia ma ogromne znaczenie dla poznania procesu fizjologii tworzenia się tłuszczu w roślinie. Jednocześnie problem ten w odniesieniu do nasion oddzielonych od rośliny wzbudza duże zainteresowanie w aspekcie przechowywania nasion oleistych. M. T o t h e<sup>13</sup>, W. M. K o p i e i k o w s k i i in.<sup>7</sup> badając zachowanie się nasion w czasie składowania wykazali, że aktywność lipazy, wzrasta wraz ze zwiększeniem się zawartości wody w nasionach.

Na skłonność oleju nasienia do autooksydacji istotny wpływ wywierają dwa czynniki: skład chemiczny tłuszczu oraz zawartość towarzyszących substancji nietłuszczowych.

Istotnym czynnikiem wpływającym na przyspieszenie autooksydacji tłuszczu w aspekcie jego składu chemicznego jest zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych, a szczególnie linolowego i linolenowego. W wielu pracach<sup>6</sup> wykazano wzrost liczby jodowej w miarę dojrzewania nasion. Większa ilość nienasyconych wiązań w tłuszczu zwiększa jego skłonność do autooksydacji. Z drugiej strony czynnikiem hamującym procesy autooksydacji są naturalne przeciwutleniacze zawarte w nasionach. Aktywność substancji przeciwutleniających, występujących w nasionach jest wypadkową działania szeregu składników niedostatecznie jeszcze obecnie poznanych oraz specyficznych dla każdego rodzaju tkanki. Do substancji przeciwutleniających najlepiej obecnie poznanych należą tokoferole. W surowych olejach roślinnych występują tokoferole, najczęściej w ilościach zbliżonych do optymalnych dla uzyskania pełnej stabilności oleju<sup>12</sup>. Ilość substancji stabilizujących wydaje się wzrastać w miarę dojrzewania nasion. Np. zawartość działającego przeciwutleniająco gossypolu występującego w oleju bawełnianym wzrasta wraz z dojrzwaniem nasion<sup>6</sup>.

Większość obserwacji o aspekcie technologicznym podawanych przez literaturę dotyczy nasion zbieranych w okresie pełnej dojrzałości.

Brak natomiast publikacji, które naświetlałyby wpływ stopnia dojrzałości nasion oleistych na wartość technologiczną oleju.

W świetle powyższych danych postanowiono stwierdzić, jak kształtuje się stabilność oleju i aktywność lipazy w nasionach rzepaku zbieranych w okresie od dojrzałości zielonej aż do osiągnięcia dojrzałości pełnej. Zagadnienie to posiada szczególnie ważny aspekt praktyczny, gdyż z jednej strony stosowanie sprzętu mechanicznego rzepaku stwarza tendencję do stosowania jak najwcześniejszych terminów zbioru (zapobieganie csywania się nasion), a z drugiej strony doświadczenia przemysłu wykazują, że najlepszy olej uzyskuje się z nasion zebranych w pełnej dojrzałości.

### CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Metody analityczne — w toku niniejszej pracy stosowano następujące metody analityczne:

1) zawartość wilgoci w nasionach wg DGF<sup>4</sup> — temperatura 105° C,  
2) liczba nadtlenkowa tłuszczu wg Tollenara<sup>15</sup>. Wyniki podano w milirównoważnikach O<sub>2</sub>/kg tłuszczu,

3) aktywność lipazy w nasionach wg A. N. Jeremakowa, N. W. Arasimowicza, M. J. Smirnowa, I. Konnikowa, J. K. Murri<sup>9</sup>. Wyniki podano w ml 0,1 n KOH, zużytych do zobojętnienia wolnych kwasów tłuszczowych, powstałych na skutek hydrolizy tłuszczu w ciągu 24 godz i w temperaturze 30° C, pod wpływem 1 g rozdrobnionych nasion rzepaku,

4) stabilność tłuszczu wg metody własnej<sup>14</sup>, oznaczano wzrost liczby nadtlenkowej w próbie tłuszczu naniesionej w roztworze chloroformu na krążek bibuły. Przyspieszano autooksydację za pomocą promiennika UV, temperatura pokojowa 20° C,

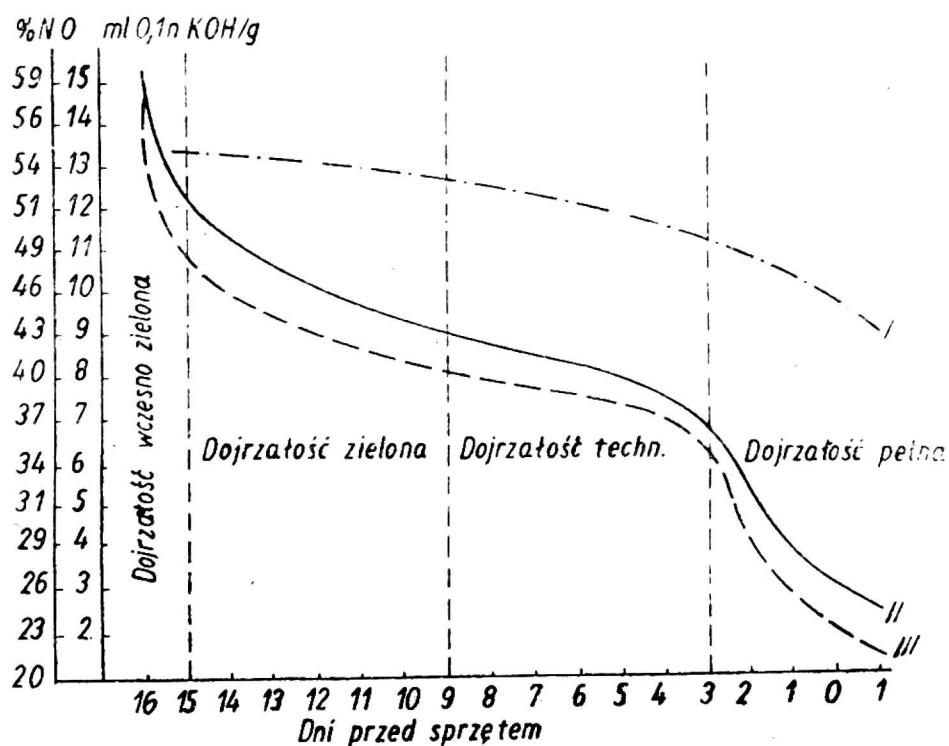
5) zawartość tokoferolu oznaczano metodą podaną przez M. P. Zacharowa i W. A. Dewiatnina<sup>17</sup>.

Zbiór nasion i przygotowanie prób. Obserwacje nad aktywnością lipazy i stabilnością oleju w poszczególnych stadiach dojrzałości nasion wykonano opierając się o materiały z uprawy polowej rzepaku w PGR Fiszewo pow. Elbląg. Badania przeprowadzono codziennie w okresie od 10 do 27 lipca 1957 r. (tab. 1). Nasiona przeznaczone do doświadczeń łuskano bezpośrednio po zerwaniu z rośliny (do 2 godz.). W części otrzymanych nasion oznaczano zawartość wody, a resztę rozdrabniano w moździerzu porcelanowym. W miazdze oznaczano bezpośrednią aktywność lipazy oraz wilgotność. Resztę rozdrobnionej miazgi nasion zalewano eterem naftowym (tw 40—60° C) w celu zakonserwowania do późniejszego

oznaczania stabilności tłuszczu oraz zawartości tokoferolu, których to oznaczeń nie można było przeprowadzić w warunkach polowych. Oznaczenia te wykonano w miesiąc po zebraniu prób. Przed przystąpieniem do analiz eter z misceli odparowano w atmosferze dwutlenku węgla.

Tabela 1  
Charakterystyka badanego surowca — nasion rzepaku  
z uprawy polowej

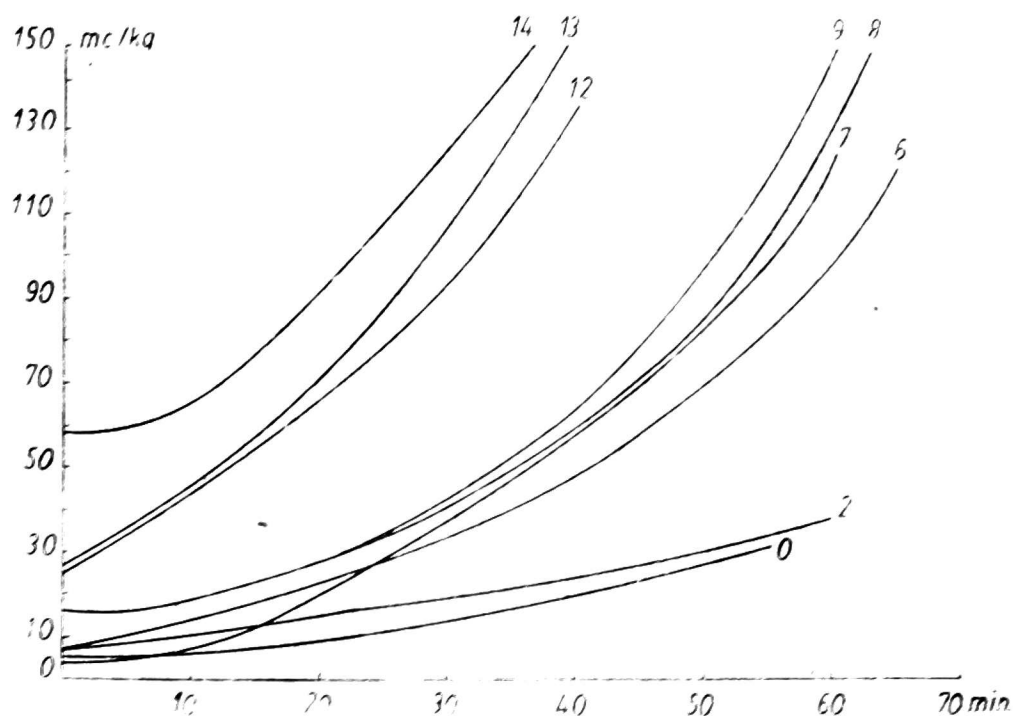
Dni przed sprzętem	Data	Wilgotność %	Stopień dojrzałości
16	10.7	58,2	wczesno zielona
15	11.7	49,1	wczesno zielona
14	12.7	46,4	zielona
15	13.7	46,0	zielona
12	14.7	42,2	późno-zielona
10	16.7	43,7	późno-zielona
9	17.7	40,0	wczesno-techniczna
8	18.7	40,0	techniczna
7	19.7	39,5	techniczna
6	20.7	38,9	techniczna
5	21.7	36,6	techniczna
3	23.7	36,3	pełna
2	24.7	28,3	pełna
0	26.7	24,5	pełna-sprzet



Rys. 1. Aktywność lipazy w czasie dojrzewania nasion rzepaku a zawartość w nich wody: I — Aktywność lipazy przeliczona na zawartość wody w nasionach, II — zawartość wody w nasionach, III — Aktywność lipazy przeliczona na suchą masę nasion



**O m ó w i e n i e w y n i k ó w.** Obserwacja zmian aktywności lipazy w okresie poprzedzającym sprzęt rzepaku wykazała wyraźnie zmniejszenie się jej wpływu na proces hydrolizy tłuszczu w miarę dojrzewania nasion (tab. 2). Spadek aktywności występuje na przestrzeni całego okresu dojrzewania. Szczególnie interesujące jest porównanie stosunku aktywności lipazy do zawartej w nasionach wilgoci i suchej masy (rys. 1). W tym przypadku można stwierdzić, że aktywność lipazy w nasionach rzepaku wykazuje tylko nieznaczny spadek w stosunku do zawartości wody w nasionach. Natomiast spadek jej aktywności jest proporcjonalny do zawartości suchej masy nasion. Stosunkowo największy spadek zawartości wody oraz aktywności lipazy (w stosunku do suchej masy) obserwowano najpierw w okresie przechodzenia niewykształconego nasienia w okres dojrzałości zielonej, a następnie w okresie przechodzenia nasienia z dojrzałości technicznej w dojrzałość pełną. Powyższe spostrzeżenia w odniesieniu do aktywności lipazy wydają się znajdować uzasadnienie w teorii *Willstattera*<sup>16</sup>. Mianowicie w czasie dojrzewania nasion lipaza wiąże się w kompleks z białkiem nasienia, tworząc „Spermatolipazę“ i wykazuje mniejszą jej efektywną aktywność w stosunku do tłuszczu.



Rys. 2. Stabilność oleju w czasie dojrzewania nasion rzepaku. Numeracja krzywych odpowiada ilości dni przed osiągnięciem przez rzepak dojrzałości pełnej. *me* — milirównoważników  $O_2/kg$

Drugim zasadniczym elementem, mającym decydujący wpływ na jakość oleju, jest odporność oleju na proces autooksydacji. Przeprowadzone przez nas doświadczenia wykazały niedwuznacznie, że wraz ze wzrostem stopnia dojrzałości nasion wzrasta stabilność oleju (rys. 2). Szczeg-

gólnie małą trwałość wykazywały oleje z nasion zbieranych we wczesnych stadiach dojrzałości zielonej, na co również niewątpliwie wpływa większa zawartość chlorofilu w tych olejach. Biorąc pod uwagę, że w czasie dojrzewania nasion wzrasta ilość nienasyconych kwasów tłuszczowych, fakt większej stabilności oleju z nasion dojrzałych należy przypisać w pierwszym rzędzie tworzącym się naturalnym przeciwutleniaczom. Nasze badania wykazały, że zawartość tokoferoli w okresie dojrzewania nasienia wzrasta (tab. 3). Uzasadnia to tezę o tworzeniu się kompleksu czynników przeciwutleniających w oleju w miarę postępującej dojrzałości nasion, jak również tłumaczy wzrost stabilności oleju mimo równoczesnego wzrostu zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych w oleju.

Z kolei zbadano czy zmiany aktywności lipazy oraz stabilności tłuszczu w czasie dojrzewania nasion mają praktyczny wpływ na jakość oleju w przechowywanych nasionach. W tym celu zebrano w jednakowych

warunkach nasiona rzepaku, które po zbiorze wysuszono podługowo do wilgotności ca 12% i podzielono na następujące grupy:

Tabela 2  
Aktywność lipazy nasion rzepaku

Dni przed sprzętem	Aktywność lipazy w ml 0,1 n KOH przeliczona na		
	1 g nasion	1 g s. m. nasion	1 g wody w nasionach
16	6,4	15,3	11,0
15	6,2	12,2	12,7
14	6,2	11,5	13,2
13	6,3	11,7	13,8
12	8,1	10,6	14,5
10	5,1	9,1	11,8
9	3,2	8,6	12,9
8	5,3	8,9	13,3
7	5,4	8,9	13,7
6	4,3	7,0	10,6
5	4,1	6,5	11,2
3	4,3	7,0	12,3
2	3,4	4,8	12,1
0	2,7	3,5	10,8

Tabela 3

Zawartość tokoferolu i stabilność oleju rzepakowego

Dni przed sprzętem	Stabilność 50 milirównoważników O <sub>2</sub> /kg osiągnięto w ciągu:	Zawartość tokoferoli w %
9	36 min.	31,4 mg
8	37 min.	34,1 mg
6	41 min.	36,6 mg
2	73 min.	35,7 mg
0	82 min.	44,6 mg

I — nasiona o pełnej dojrzałości — barwa czarna, wykształcenie całkowite, średnica powyżej 2 mm,

II — nasiona o dojrzałości technicznej — barwa brunatno-czarna, niecałkowite wykształcenie, częściowo lekko pomarszczone, średnica 1,5—2 mm,

III — nasiona niedojrzałe — barwa brązowa, niewykształcone, silnie pomarszczone, średnica poniżej 1,5 mm.

Nasiona przechowywano następnie w temp. 18—20° C i wilgotności względnej powietrza około 60%, oznaczając w nich co pewien okres czasu

Tabela 4

Wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i nadtlenków w czasie przechowywania nasion rzepaku o dojrzałości pełnej, technicznej i niedojrzałego  
Sprzęt nasion nastąpił dn. 26. VII. 1956 r.

Data	Dni po sprzęcie	Stopień dojrzałości nasion		
		pełna	techniczna	niedojrzałe
Liczba nadtlenkowa milirównoważników O <sub>2</sub> /kg				
13. 9	49	1,2	1,2	2,5
28. 9	64	1,7	1,9	—
8. 10	74	—	—	3,1
22. 10	88	1,8	1,6	—
20. 11	117	2,2	2,1	4,1
19. 12	147	3,2	2,8	5,0

Liczba kwasowa mg KOH/g

13. 9	49	1,1	2,1	4,3
8. 10	74	—	2,1	6,4
22. 10	88	1,9	2,1	—
5. 11	102	1,9	2,3	7,8
20. 11	117	2,1	2,1	—
19. 12	147	—	—	9,0
22. 12	150	2,1	2,4	—

liczbę nadtlenkową i liczbę kwasową tłuszczu (tab. 4). W czasie przechowywania wilgotność wszystkich trzech prób spadła do 4,5%. Otrzymane wyniki potwierdzają uzyskane uprzednio spostrzeżenia, mianowicie zaobserwowano, że znacznie silniej nastąpił proces hydrolizy i autooksydacji tłuszczów w nasionach niedojrzałych, aniżeli w nasionach o dojrzałości technicznej i pełnej, które nie wykazywały istotnych różnic między sobą.

## WNIOSKI

Badania nad aktywnością lipazy i stabilnością oleju w dojrzewających nasionach rzepaku wykazały co następuje:

- 1) wraz ze wzrostem stopnia dojrzałości nasion maleje aktywność zawartej w nich lipazy,
- 2) aktywność lipazy w nasionach dojrzewających stoi w odwrotnym stosunku do wzrostu suchej masy dojrzewających nasion,
- 3) wraz ze wzrostem stopnia dojrzałości nasion wzrasta stabilność zawartego w nich oleju,
- 4) zawartość tokoferoli wzrasta wraz z dojrzewaniem nasion.

Z powyższych rozważań wynikają następujące wnioski dla praktyki przemysłowej, a w szczególności dla przechowywania nasion:

1) nasiona po sprzęcie, a szczególnie nasiona niedojrzałe powinny być natychmiast wysuszone, celem obniżenia aktywności zawartej w nich lipazy i zapobiegnięciu powstawania nadmiernych ilości wolnych kwasów tłuszczowych,

2) dla zapewnienia maksymalnej stabilności i niskiej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych oleju w nasionach należy rzepak zbierać w okresie dojrzałości pełnej lub technicznej. Nasiona niedojrzałe należy przechowywać jak najkrócej i jak najszybciej kierować do przerobu.

#### LITERATURA CYTOWANA

1. E. B a m a n n, E. U l l m a n n: Biochem. Z. 1942, t. 12, s. 9, cyt. 9.
2. E. B a m a n n, E. U l l m a n n, N. T i e t z: Biochem. Z. 1953, t. 323, s. 489.
3. H. K. B a u e r: Fettchem. Umschau 1944, t. 41, s. 1, cyt. T. H. Hilditch.
4. DGF-Eeinheitsmethoden. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft. Stuttgart 1950.
5. G. G o r b a c h: Fette u. Seifen, 1941, t. 48, s. 308.
6. T. M. H i l d i t c h: The Chemical Constitution of Natural Fats. Chapman, Hall. London 1949.
7. W. M. K o p i e i k o w s k i, Z. K. Z a b i e l i n a, W. G. S z c z e r b a k o w: Maśłobojno-Żirow. Promyszl. 1956, nr 6, s. 9.
8. J. J a n i c k i, A. R u t k o w s k i i i n.: Roczniki Technol. i Chemii Żywn. 1957 t. 1, s. 85.
9. A. N. J e r e m a k o w, N. W. A r a s i m o w i c z i i n.: Metody biochemicznego issliedowanija rastienij. Sielchozgis, Moskwa 1952.
10. H. P. K a u f m a n n I. G. T h i e m e: Fette u. Seifen 1950, t. 57, s. 1040.
11. M. J. L i s c h k e w i t s c h, S. P. P r i z e m i n a: Biochem. Z. 1929, t. 212, s. 280.
12. H. R e i t h e l: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch. 1942, t. 95, s. 212.
13. M. R o t h e: Fette u. Seifen 1955, t. 57, s. 905.
14. A. R u t k o w s k i, Z. M a k u s: Roczniki Technol. i Chemii Żywn. 1957, t. 2, s. 79.
15. F. D. T o l l e n a r: Central Institute for Nutrition Research TNO, Rep. nr 307 E, 1952.
16. R. W i l l s t ä t e r E. W a l d s c h m i e d - L e i t z: Z. Phys. Chem. 1922, t. 134, s. 161; cyt. K. B e r n h a u e r: Biochemie der Fette und Fettprodukte. Springer, Wien 1936.
17. W s i e s o j u z n y j N a u c z n o - I s s l e d o w a t i e l n y j I n s t i t u t M P P S S S R; Metody oprediele-nia witaminow, Piszczepromizdat, Moskwa 1951.

### ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ ЗРЕЛОСТИ РАПСОВОГО СЕМЕНИ НА СТАБИЛЬНОСТЬ МАСЛА

#### Р е з ю м е

Изучено влияние степени зрелости рапсового семени на активность липазы и стабильность масла в течение 16 дней до сбора растений. Из проведенных опытов можно вывести следующее:

1. активность липазы обратно пропорциональна содержанию сухого вещества в семени и уменьшается по мере созревания семян;



2. стабильность рапсового масла увеличивается по мере созревания семян. Одновременно увеличивается содержание токоферолов (с 31,4 на 44,6 мг %).

3. за время 5-месячного хранения рапсовых семян, накопление свободных жирowych кислот и пероксидов наблюдалось в значительно большей степени у семян незрелых, чем у семян ноказывающих полную зрелость.

## INFLUENCE OF RAPE SEED MATURITY ON OIL STABILITY

### Summary

Investigations were conducted on lipase activity and oil stability of rape-seed at a period of 16 days before harvesting. It was found in these studies that the activity of lipase contained in the seed declines with maturity. Lipase activity in seeds was in reverse to the increase of dry matter. Stability of rape-seed oil increases distinctly with maturity, in which case also tocopherol content showed an increase from 31.4 mg% to 44.6 mg% over a period of 9 days before harvesting, as also the stability—from 37 min. to 62 min. necessary for attaining 50 milliequivalents  $O_2$ /kg. Immature seeds as compared to mature seeds stored over a period of 5 months showed a greater increase of fatty acids and peroxides.

## EINFLUSS DES REIFUNGSGRADES DER RAPSSAMEN AUF DIE STABILITÄT DES ÖLES

### Zusammenfassung

Der Einfluss des Reifungsgrades der Rapssamen auf die Stabilität des Öles und die Aktivität der Lipase im Zeitabschnitt von 16 Tagen vor der Ernte wurde untersucht. Auf Grund dieses Versuches stellen wir folgendes vor:

1. Die Aktivität der Lipase steht im umgekehrten Verhältnis zu dem Trockensubstanzgehalt der Samen, und nimmt während des Reifungsprozesses der Samen ab.

2. Die Stabilität des Rapsöls wächst mit dem Reifungsgrad von Samen. Gleichzeitig wächst der Gehalt an Tocopherolen von 31,4 mg% bis 44,6 mg%.

3. Während der 5-monatigen Lagerung, die unreifen Rapssamen zeigten grössere Steigerung des Gehaltes an freien Fettsäuren und Peroxiden, als die voll- und technisch-reifen Samen.