

DOROTA DEREWIAKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI

## WPLYW OBRÓBKII TERMICZNEJ NA ZAWARTOŚĆ STEROLI W OLEJU RZEPAKOWYM ORAZ W MIESZANINACH NA BAZIE OLEJU RZEPAKOWEGO

### Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu obróbki termicznej na skład steroli zawartych w oleju rzepakowym oraz mieszaninach na jego bazie. Przedmiotem badań był olej rzepakowy oraz olej rzepakowy z dodatkiem: 5 % preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa. Próby poddano obróbce termicznej: mikrofalowej oraz ogrzewaniu w temp. 150 °C.

Analizę zawartości steroli przeprowadzono za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas, uprzednio próbki poddając zmydłaniu oraz derywatywacji.

Wykazano, że większe ubytki zawartości steroli wystąpiły podczas ogrzewania mikrofalowego w porównaniu z ogrzewaniem w temp. 150 °C. Mieszaniny oleju rzepakowego z dodatkiem BHT charakteryzowały się najmniejszym ubytkiem zawartości steroli spośród wszystkich mieszanin oleju rzepakowego.

**Słowa kluczowe:** olej rzepakowy, sterole, obróbka termiczna, GC-MS

### Wprowadzenie

Sterole to acykliczne alkohole sterydowe, zawierające II-rzędową grupę alkoholową. Grupa tych związków charakteryzuje się budową 4-pierścieniową, zawiera rdzeń steranu z grupą wodorotlenową w pozycji 3 oraz łańcuch boczny w pozycji 17. Sterole obecne w produktach żywnościowych występują w postaci steroli wolnych i zestryfikowanych, estrów kwasów tłuszczowych, glukozy, glikolipidów oraz pochodnych kwasów ferulowego i hydroksycynamonowego [3]. W olejach roślinnych fitosterole występują w formie zestryfikowanej (do 50 % całkowitej zawartości fitosteroli). Stopień zestryfikowania fitosteroli jest różny, np. w oleju rzepakowym  $\beta$ -sitosterol i kampesterol występują w formie estrów w 50 %,

brassikasterol i stigmasterol odpowiednio w 40 i 25 %. Dominującymi kwasami tłuszczowymi zestryfikowanymi ze sterolami są kwasy nasycone [16].

Głównym źródłem fitosteroli w diecie człowieka są oleje roślinne, ziarna zbóż, orzechy, owoce i warzywa. Fitosterole występują również w tkankach zwierzęcych, aczkolwiek w nieznacznych ilościach w porównaniu z cholesterolem, a ich obecność jest konsekwencją spożywania roślin lub fitoplanktonu.

Fitosterole zarówno w formie wolnej, jak i zestryfikowanej są uważane za czynnik przeciwdziałający hipercholesterolemii. W raporcie ekspertów Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) z 2008 r. stwierdzono, że zalecana dawka estrów fitosteroli i/lub fitostanoli, która wywiera efekt obniżający poziomu cholesterolu w surowicy krwi (10 - 15 %) to 1 - 3 g/dobę [10]. Stwierdzono, że efekt obniżenia koncentracji cholesterolu w surowicy krwi nie jest zależny od nośnika pokarmowego, rodzaju żywności, częstotliwości spożycia, ale skumulowanego dziennego pobrania, zatem świadomego zróżnicowania całodobowej diety [2, 7, 8, 17]. W innych badaniach dowiedziono, że fitosterole mogą przeciwdziałać nowotworom, miażdżycy oraz stanom zapalnym [14]. Niepożądanym działaniem fitosteroli w ustroju człowieka jest zakłócanie absorpcji karotenoidów, likopenu i witaminy E, jednak zastosowanie dawki 1,6 g fitosteroli na dobę nie wpływa znacząco na obniżenie poziomu karotenoidów i witaminy E w osoczu [16].

Obróbka termiczna prowadzona w wysokiej temperaturze np. podczas rafinacji chemicznej lub fizycznej prowadzi do zmniejszenia zawartości fitosteroli w oleju jadalnym [20]. Zastosowanie temp. 180 °C przez 10 min podczas smażenia prowadziło do około 5 % strat zawartości sitosterolu w oleju rzepakowym z dodatkiem estrów sitosterolu [15]. Ubytek zawartości fitosteroli podczas obróbki termicznej olejów uzależniony jest od wielu czynników, takich jak: warunki prowadzenia procesu, obecność przeciwutleniaczy oraz substancji o charakterze utleniającym [5]. Podczas produkcji olejów jadalnych stwierdza się zmniejszenie zawartości fitosteroli, np. w tłoczonym oleju rzepakowym zawartość fitosteroli wynosiła średnio 8,5 mg/g, natomiast olej ekstrakcyjny zawierał o 25 % fitosteroli więcej. Proces rafinacji olejów prowadzi do zmniejszenia zawartości fitosteroli, szczególnie neutralizacja, która może skutkować ubytkiem nawet do 20 % fitosteroli [13].

Celem pracy była ocena stabilności steroli zawartych w oleju rzepakowym oraz w mieszankach otrzymanych na jego bazie podczas ogrzewania konwekcyjnego w temp. 150 °C oraz ogrzewania mikrofalowego. Analizowano wpływ dodatku: 5 % preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % dodatku oleju z amarantusa na przemiany zachodzące w składzie steroli występujących w oleju rzepakowym.

## Material i metody badań

Badaniom poddano olej rzepakowy (termin przydatności do spożycia: grudzień 2014 r.) zakupiony w handlu oraz mieszaniny oleju rzepakowego z dodatkiem: 5 % preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa. Preparat fitosteroli zawierał: sitosterol (47 %), stigmasterol (10 %), kampesterol (26,5 %), brassikasterol (15 %), cholesterol (0,5 %) i pochodził z firmy Neptune Biotechnologies and Bioresources (czystość 55 %). Preparat cholesterolu i butylohydroksytoluenu (BHT) zakupiono w firmie Sigma-Aldrich (czystości >99 %), skwalen w firmie Fluka (czystości >97 %), olej z amarantusa w PPHU "Szarłat" s.c. (o zawartości kampesterolu  $23,3 \pm 1,8$  mg/100 g oleju; stigmasterolu  $11,0 \pm 0,9$  mg/100 g oleju, sitosterolu  $486,7 \pm 37,9$  mg/100 g oleju). Zawartość skwalenu w 16 % dodatku oleju z amarantusa odpowiadała 1 % dodatkowi preparatu skwalenu.

Próbki ogrzewano w temp.  $150 \pm 5$  °C w suszarce laboratoryjnej, stosując warstwę tłuszczu  $10 \pm 0,5$  mm. Po ustabilizowaniu temperatury ogrzewania próbki kolejno wyjmowano po: 10, 30, 60 min.

Ogrzewanie mikrofalowe polegało na przeniesieniu oleju rzepakowego oraz mieszanin na bazie oleju rzepakowego do szklanych butelek o objętości 250 ml i umieszczeniu w kuchence mikrofalowej (moc 400 W). Próbki były ogrzewane przez: 10, 30, 60 min.

Każdy z procesów obróbki termicznej prowadzono w trzech powtórzeniach.

Oznaczenie steroli wykonywano za pomocą chromatografii gazowej, adaptowaną metodą przedstawioną przez Ubhayasekera i wsp. [19]. Do oleju (100 - 200 mg) dodawano 2 ml heksanu oraz 100 µl roztworu standardu wewnętrznego 5 $\alpha$ -cholestanu, a następnie mieszano przez 1 min. Zmydlanie prowadzono w temp. 20 - 24 °C, dodając 0,5 ml 2M roztworu KOH w metanolu przez 1 - 2 h, wytrząsając okresowo próbkę. Następnie 200 µl roztworu frakcji niezmydlonej przenoszono do szklanej próbki. Po odparowaniu rozpuszczalników w strumieniu azotu, dodawano 100 µl odczynnika BSTFA z 1 % TCMS oraz 100 µl pirydyny, próbkę wytrząsano i prowadzono reakcję derywatywacji w temp. 20 - 24 °C przez 24 h, a następnie dodawano 1 ml heksanu. Analizę prowadzono, stosując chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem masowym firmy Shimadzu, model GCMS-QP2010S, przy użyciu kolumny kapilarnej ze złożem fazy fenylosilikonowej, typ DB5ms (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25 µm) firmy Zebron. Temperatura pracy kolumny kapilarnej: początkowa 50 °C przez 2 min, wzrost temperatury w tempie 15 °C/min do 230 °C, następnie programowany wzrost temperatury w tempie 3 °C/min do 310 °C i izoterma końcowa przez 10 min. Temperatura komory nastrzykowej i źródła jonów wynosiła odpowiednio 230 i 220 °C. Gazem nośnym był hel, a jego przepływ wynosił 36 ml z szybkością liniową stałą. Temperatura łącznika GC-MS – 240 °C. Analizę zawartości steroli prowadzono w trybie przemiatań w zakresie 40 - 600 m/z, stosując standardową energię jonizacji

– 70 eV. Identyfikacji steroli dokonywano na podstawie porównania czasu retencji z czasem dostępnych standardów oraz posiadanych i utworzonych bibliotek widm masowych, jak również danych literaturowych. Do obliczeń ilościowych zastosowano technikę dodatku standardów wewnętrznych [1].

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono za pomocą programu Microsoft Office 2009 oraz Statistica 8.0 firmy Statsoft. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi wykonano stosując test tzw. porównań wielokrotnych przy poziomie istotności  $p = 0,05$ .

### **Wyniki i dyskusja**

Olej rzepakowy zawierał ponad 700 mg fitosteroli w 100 g, w tym 370 mg sitosterolu, 270 mg kampesterolu, 70 mg brassikasterolu oraz 2 mg stigmasterolu. W trakcie ogrzewania w temp. 150 °C stwierdzono ubytek sumarycznej zawartości steroli w badanych olejach modelowych (rys. 1). Największe straty steroli podczas 60-minutowej obróbki termicznej wykazano w oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem fitosteroli (15 %) oraz w oleju rzepakowym z 16 % dodatkiem oleju z amarantusa i 1 % dodatkiem skwalenu, odpowiednio 10 i 9 %. W oleju rzepakowym i oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem cholesterolu ubytek steroli wynosił 11 %. Najmniejszy ubytek sumarycznej zawartości fitosteroli stwierdzono podczas 60-minutowej obróbki termicznej oleju rzepakowego z 1 % dodatkiem BHT – 5 %. Należy podkreślić, że w największym stopniu degradacji ulegały fitosterole zawierające kilka wiązań podwójnych, tj. stigmasterol oraz brassikasterol, w drugiej kolejności ubytki dotyczyły kampesterolu, sitosterolu oraz cholesterolu. Szczegółowe zawartości steroli w badanych olejach podczas obróbki termicznej przedstawiono w tab. 1 i 2.

W ciągu 60-minutowej obróbki mikrofalowej największe straty sumarycznej zawartości steroli stwierdzono w oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli i cholesterolu, które wynosiły odpowiednio 34 i 23 % (rys. 2). Ubytki sumarycznej zawartości steroli w samym oleju wynosiły 12 % i były zbliżone do ubytków steroli zaobserwowanych w oleju rzepakowym z 16 % dodatkiem oleju z amarantusa, natomiast w oleju z 1 % dodatkiem skwalenu były one wyraźnie mniejsze i osiągnęły 7 % początkowej zawartości fitosteroli. W oleju rzepakowym z 1 % dodatkiem BHT stwierdzono najmniejsze straty sumarycznej zawartości steroli podczas obróbki mikrofalowej, które wynosiły 6 %. Szczegółowa zawartość steroli w badanych olejach podczas ogrzewania mikrofalowego przedstawiono w tab. 3 i 4.

T a b e l a 1

Zawartość steroli w oleju rzepakowym oraz w oleju rzepakowym z dodatkiem 5 % preparatu fitosteroli lub 5 % cholesterolu, podczas obróbki termicznej w temp. 150 °C.

Content of sterols in rapeseed oil and in rapeseed oil with additions of 5 % of phytosterol preparation or 5% of cholesterol during thermal processing at temp. of 150° C.

Próba Sample	Czas procesu Time of heating [min]	Zawartość steroli / Content of sterols [mg/100 g]							Suma Sum
		Cholesterol Cholesterol	Brassikasterol Brassicasterol	Kampesterol Campesterol	Stigmasterol Stigmasterol	Sitosterol Sitosterol			
Olej rzepakowy Rapeseed oil	Próba kontrolna Control sample n = 5	no	70,3±6,9 <sup>a</sup>	271,1±27,1 <sup>a</sup>	2,0±0,1 <sup>a</sup>	367,7±14,0 <sup>a</sup>			711,2±48,1 <sup>a</sup>
	10, n = 5	no	69,5±2,6 <sup>a</sup>	263,0±4,0 <sup>ab</sup>	1,9±0,1 <sup>ab</sup>	374,8±9,4 <sup>ab</sup>			709,2±16,0 <sup>a</sup>
	30, n = 5	no	67,7±1,9 <sup>a</sup>	253,6±12,2 <sup>ab</sup>	1,7±0,1 <sup>bc</sup>	363,3±10,1 <sup>ab</sup>			686,3±24,3 <sup>a</sup>
	60, n = 5	no	59,6±1,6 <sup>b</sup>	237,5±16,8 <sup>b</sup>	1,7±0,1 <sup>c</sup>	350,6±8,6 <sup>b</sup>			649,3±27,1 <sup>b</sup>
Olej rzepakowy + 5 % preparat fitos- teroli Rapeseed oil + 5 % of phytosterol preparation	Próba kontrolna Control sample n = 5	60,9±3,2 <sup>a</sup>	244,6±14,0 <sup>a</sup>	517,5±26,2 <sup>a</sup>	571,3±53,7 <sup>a</sup>	1320,4±74,2 <sup>a</sup>			2714,7±171,4 <sup>a</sup>
	10, n = 5	61,0±1,8 <sup>a</sup>	236,3±12,2 <sup>ab</sup>	513,1±27,2 <sup>ab</sup>	550,9±10,6 <sup>ab</sup>	1244,4±50,8 <sup>ab</sup>			2605,7±99,9 <sup>b</sup>
	30, n = 5	56,1±2,7 <sup>a</sup>	230,4±18,5 <sup>ab</sup>	492,9±23,7 <sup>ab</sup>	495,6±10,8 <sup>bc</sup>	1156,3±52,5 <sup>b</sup>			2431,3±52,5 <sup>b</sup>
	60, n = 5	57,1±2,4 <sup>a</sup>	213,2±9,6 <sup>b</sup>	470,7±12,6 <sup>b</sup>	463,8±20,2 <sup>c</sup>	1107,5±106,8 <sup>b</sup>			2312,3±97,4 <sup>b</sup>
Olej rzepakowy + 5 % cholesterolu Rapeseed oil + 5 % of cholesterol	Próba kontrolna Control sample n = 5	4787,3±89,6 <sup>a</sup>	86,7±3,7 <sup>a</sup>	241,1±12,0 <sup>a</sup>	2,5±0,3 <sup>a</sup>	344,7±12,9 <sup>a</sup>			5462,2±118,5 <sup>a</sup>
	10, n = 5	4461,0±59,4 <sup>b</sup>	88,0±1,3 <sup>a</sup>	233,0±11,1 <sup>a</sup>	2,4±0,1 <sup>ab</sup>	338,7±3,5 <sup>a</sup>			5123,1±75,5 <sup>a</sup>
	30, n = 5	4337,4±63,3 <sup>b</sup>	79,6±2,9 <sup>b</sup>	232,2±4,2 <sup>a</sup>	2,1±0,2 <sup>b</sup>	324,1±4,0 <sup>b</sup>			4975,4±74,5 <sup>a</sup>
	60, n = 5	4206,4±120,7 <sup>c</sup>	76,8±2,8 <sup>b</sup>	232,1±4,1 <sup>a</sup>	2,1±0,1 <sup>b</sup>	314,5±6,7 <sup>b</sup>			4831,8±134,2 <sup>a</sup>

Objasnienia: / Explanatory notes:

<sup>a,b</sup> ...- jednakowe litery w kolumnach – brak statystycznie istotnych różnic na poziomie p≤0,05 w próbkach oleju w trakcie ogrzewania / the same letters in the columns: no statistically significant differences at p ≤ 0.05 in the oil samples during heating; no – nie oznaczono / not determined; n – liczba prób/ number of samples.

Tabela 2

Zawartość steroli w oleju rzepakowym z dodatkiem 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa, podczas obróbki termicznej w temp. 150 °C.  
 Content of sterols in rapeseed oil with addition of 1 % of BHT, 1 % of squalene, and 16 % of amaranth oil during thermal processing at temp. of 150°C.

Próba Sample	Czas procesu Time of heating [min]	Zawartość steroli / Content of sterols [mg/100 g]					Suma Total
		Brassicasterol Brassicasterol	Kampesterol Cam- pesterol	Stigmasterol Stigmasterol	Sitosterol Sitosterol	Sitosterol Sitosterol	
Olej rzepakowy + 1 % BHT Rapeseed oil + 1 % of BHT	Próba kontrolna Control sample, n = 5	70,3±6,9 <sup>a</sup>	271,1±29,4 <sup>a</sup>	2,0±0,1 <sup>a</sup>	367,7±14,0 <sup>a</sup>	711,2±50,4 <sup>a</sup>	
	10, n = 5	69,4±2,2 <sup>a</sup>	264,7±5,5 <sup>a</sup>	1,9±0,1 <sup>a</sup>	356,1±7,1 <sup>a</sup>	692,1±14,9 <sup>a</sup>	
	30, n = 5	67,4±7,9 <sup>a</sup>	251,6±11,9 <sup>a</sup>	1,9±0,1 <sup>b</sup>	356,2±31,8 <sup>a</sup>	677,1±51,7 <sup>a</sup>	
	60, n = 5	65,1±2,3 <sup>a</sup>	254,1±6,7 <sup>a</sup>	1,8±0,1 <sup>b</sup>	353,9±12,7 <sup>a</sup>	674,9±21,7 <sup>a</sup>	
Olej rzepakowy + 1 % skwalenu Rapeseed oil + 1 % of squa- lence	Próba kontrolna Control sample, n = 5	72,6±2,1 <sup>a</sup>	269,7±1,6 <sup>a</sup>	2,2±0,1 <sup>a</sup>	370,0±7,2 <sup>a</sup>	714,5±10,8 <sup>a</sup>	
	10, n = 5	71,4±3,0 <sup>a</sup>	266,5±13,4 <sup>a</sup>	2,1±0,05 <sup>a</sup>	357,4±11,6 <sup>ab</sup>	697,4±28,0 <sup>a</sup>	
	30, n = 5	67,7±2,1 <sup>ab</sup>	250,3±6,9 <sup>b</sup>	2,1±0,1 <sup>a</sup>	352,9±3,4 <sup>bc</sup>	673,0±12,5 <sup>b</sup>	
	60, n = 5	62,1±4,9 <sup>b</sup>	243,9±6,0 <sup>b</sup>	1,9±0,1 <sup>b</sup>	338,3±9,2 <sup>c</sup>	646,2±20,2 <sup>c</sup>	
Olej rzepakowy + 16 % oleju z amarantusa Rapeseed oil + 16 % of amaranth oil added	Próba kontrolna Control sample, n = 5	68,4±2,9 <sup>a</sup>	265,2±6,8 <sup>a</sup>	2,3±0,5 <sup>a</sup>	376,4±11,6 <sup>a</sup>	712,4±21,7 <sup>a</sup>	
	10, n = 5	66,8±2,5 <sup>ab</sup>	258,7±9,1 <sup>a</sup>	2,2±0,2 <sup>a</sup>	358,0±9,1 <sup>ab</sup>	685,7±20,7 <sup>b</sup>	
	30, n = 5	63,6±1,3 <sup>bc</sup>	237,6±8,5 <sup>b</sup>	2,1±0,1 <sup>a</sup>	353,5±14,7 <sup>ab</sup>	656,8±24,5 <sup>c</sup>	
	60, n = 5	62,8±1,2 <sup>c</sup>	231,6±6,1 <sup>b</sup>	2,0±0,1 <sup>a</sup>	349,4±17,5 <sup>b</sup>	645,8±24,8 <sup>c</sup>	

Oznaczenia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Tabela 3

Zawartość steroli w oleju rzepakowym oraz w oleju rzepakowym z dodatkiem 5 % preparatu fitosteroli lub 5 % cholesterolu, podczas obróbki mikrofalowej. Sterol content in rapeseed oil, rapeseed oil with addition 5 % of phytosterol preparation, cholesterol during microwave processing.

Próba Sample	Czas procesu Time of heating [min]	Zawartość steroli / Sterol content [mg/100 g]								Suma Total
		Cholesterol	Brassicasterol	Kampesterol	Stigmasterol	Sitosterol	Stigmasterol	Sitosterol	Suma Total	
Olej rzepakowy Rapeseed oil	Próba kontrolna Control sample, n = 5	no	70,3±6,9 <sup>a</sup>	271,1±27,1 <sup>a</sup>	2,0±0,1 <sup>a</sup>	367,7±14,0 <sup>a</sup>			711,2±19,9 <sup>a</sup>	
	10, n = 5	no	67,8±2,4 <sup>ab</sup>	269,7±21,0 <sup>a</sup>	2,0±0,1 <sup>a</sup>	350,9±14,8 <sup>a</sup>			690,4±9,8 <sup>ab</sup>	
	30, n = 5	no	64,3±2,6 <sup>ab</sup>	246,4±23,5 <sup>ab</sup>	1,9±0,1 <sup>ab</sup>	342,9±21,6 <sup>a</sup>			655,4±32,9 <sup>bc</sup>	
	60, n = 5	no	62,8±1,5 <sup>b</sup>	220,7±13,1 <sup>b</sup>	1,8±0,1 <sup>b</sup>	338,4±17,1 <sup>a</sup>			623,7±30,7 <sup>c</sup>	
Olej rzepakowy + 5 % prep. fitosteroli Rapeseed oil + 5 % of phy- tosterol prepara- tion	Próba kontrolna Control sample, n = 5	50,4±6,3 <sup>a</sup>	263,9±17,4 <sup>a</sup>	527,1±18,0 <sup>a</sup>	550,9±20,1 <sup>a</sup>	1383,6±15,9 <sup>a</sup>			2776,0±60,9 <sup>a</sup>	
	10, n = 5	46,9±2,6 <sup>ab</sup>	231,5±15,4 <sup>b</sup>	469,3±22,8 <sup>b</sup>	505,9±20,4 <sup>b</sup>	1225,2±49,6 <sup>b</sup>			2478,6±61,9 <sup>b</sup>	
	30, n = 5	40,8±1,5 <sup>b,c</sup>	217,5±9,8 <sup>bc</sup>	429,3±18,2 <sup>c</sup>	426,3±9,4 <sup>c</sup>	1040,9±94,4 <sup>c</sup>			2154,9±94,0 <sup>c</sup>	
	60, n = 5	36,3±2,8 <sup>c</sup>	194,7±14,3 <sup>c</sup>	380,9±23,3 <sup>d</sup>	352,4±17,0 <sup>d</sup>	945,2±40,3 <sup>c</sup>			1909,6±85,2 <sup>d</sup>	
Olej rzepakowy + 5 % cholesterolu Rapeseed oil + 5 % of chole- sterol	Próba kontrolna Control sample, n = 5	4787,3±89,6 <sup>a</sup>	86,7±3,7 <sup>a</sup>	241,1±12,0 <sup>a</sup>	3,5±0,3 <sup>a</sup>	344,7±12,9 <sup>a</sup>			5463,2±90,9 <sup>a</sup>	
	10, n = 5	4471,8±180,6 <sup>b</sup>	84,1±3,7 <sup>a</sup>	234,8±8,6 <sup>a</sup>	3,3±0,1 <sup>a</sup>	329,7±15,6 <sup>a</sup>			5123,7±186,2 <sup>b</sup>	
	30, n = 5	4043,1±144,0 <sup>c</sup>	67,1±2,3 <sup>b</sup>	187,5±10,3 <sup>b</sup>	2,8±0,2 <sup>bc</sup>	273,3±16,3 <sup>b</sup>			4573,8±126,3 <sup>c</sup>	
	60, n=5	3757,8±100,8 <sup>d</sup>	62,1±1,4 <sup>b</sup>	111,4±8,9 <sup>c</sup>	2,7±0,4 <sup>c</sup>	243,8±22,9 <sup>b</sup>			4177,8±132,0 <sup>d</sup>	

Oznaczenia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

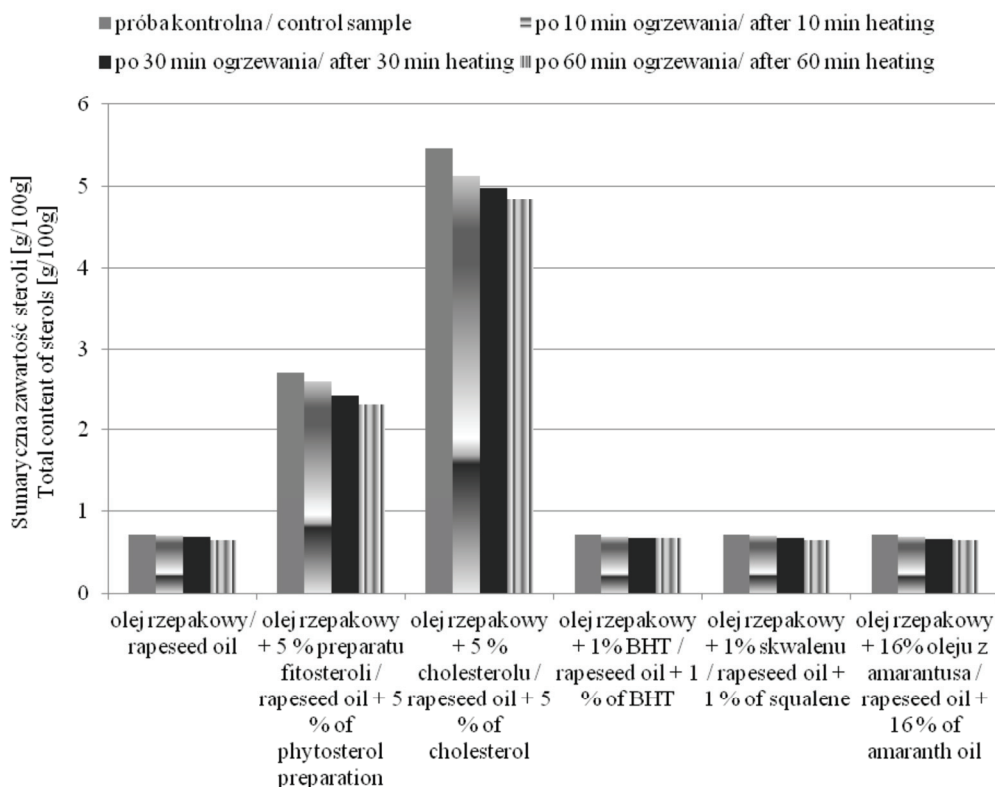
Tabela 4

Zawartość steroli w oleju rzepakowym z dodatkami: 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa, podczas obróbki mikrofalowej. Sterol content in rapeseed oil with 1 % of BHT, 1 % addition of squalene and 16 % addition of amaranth oil during microwave processing.

Próba Sample	Czas procesu Time of heating [min]	Zawartość steroli / Sterol content [mg/100 g]					Suma Sum
		Brassikasterol Brassicasterol	Kampesterol Campesterol	Stigmasterol Stigmasterol	Sitosterol Sitosterol		
Olej rzepakowy + 1 % BHT Rapeseed oil + 1 % BHT	Próba kontrolna Control sample, n = 5	70,4±6,7 <sup>a</sup>	251,1±12,1 <sup>a</sup>	2,1±0,1 <sup>a</sup>	367,2±15,9 <sup>a</sup>	690,8±30,3 <sup>a</sup>	
	10, n = 5	70,9±1,6 <sup>a</sup>	246,3±13,7 <sup>a</sup>	2,1±0,1 <sup>a</sup>	359,5±14,1 <sup>a</sup>	678,8±23,8 <sup>a</sup>	
	30, n = 5	69,1±1,8 <sup>a</sup>	249,3±22,1 <sup>a</sup>	2,1±0,1 <sup>a</sup>	351,4±17,2 <sup>a</sup>	671,9±15,2 <sup>a</sup>	
Olej rzepakowy + 1 % skwalenu Rapeseed oil + 1 % squalene	60, n = 5	66,0±2,5 <sup>a</sup>	238,5±18,0 <sup>a</sup>	2,0±0,1 <sup>b</sup>	340,6±11,8 <sup>a</sup>	647,0±31,6 <sup>a</sup>	
	Próba kontrolna Control sample, n = 5	72,6±2,5 <sup>a</sup>	253,0±11,5 <sup>a</sup>	2,2±0,1 <sup>a</sup>	343,3±12,1 <sup>a</sup>	671,1±21,0 <sup>a</sup>	
	10, n = 5	71,6±1,2 <sup>a</sup>	246,8±9,6 <sup>a</sup>	2,1±0,1 <sup>a</sup>	343,2±17,5 <sup>a</sup>	663,8±24,7 <sup>a</sup>	
Olej rzepakowy + 16 % oleju z amarantusa Rapeseed oil + 16 % addi- tion of amaranth oil	30, n = 5	70,7±2,3 <sup>a</sup>	235,4±10,2 <sup>a</sup>	2,0±0,1 <sup>a</sup>	334,3±11,7 <sup>a</sup>	642,4±13,0 <sup>ab</sup>	
	60, n = 5	63,0±2,3 <sup>b</sup>	231,2±20,0 <sup>a</sup>	1,8±0,1 <sup>b</sup>	324,2±15,1 <sup>a</sup>	620,2±14,2 <sup>b</sup>	
	Próba kontrolna Control sample, n = 5	67,9±2,8 <sup>a</sup>	273,5±11,3 <sup>a</sup>	2,1±0,1 <sup>a</sup>	375,5±6,2 <sup>a</sup>	718,9±14,1 <sup>b</sup>	
Olej rzepakowy + 16 % oleju z amarantusa Rapeseed oil + 16 % addi- tion of amaranth oil	10, n = 5	65,3±2,5 <sup>ab</sup>	249,3±19,0 <sup>ab</sup>	2,1±0,1 <sup>a</sup>	362,0±11,4 <sup>ab</sup>	678,7±27,8 <sup>ab</sup>	
	30, n = 5	64,8±0,9 <sup>ab</sup>	245,1±21,6 <sup>ab</sup>	2,0±0,1 <sup>ab</sup>	355,0±12,8 <sup>bc</sup>	666,8±24,4 <sup>b</sup>	
	60, n = 5	63,9±1,5 <sup>b</sup>	229,5±17,5 <sup>b</sup>	1,9±0,1 <sup>b</sup>	335,5±10,9 <sup>c</sup>	630,7±25,2 <sup>b</sup>	

Oznaczenia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

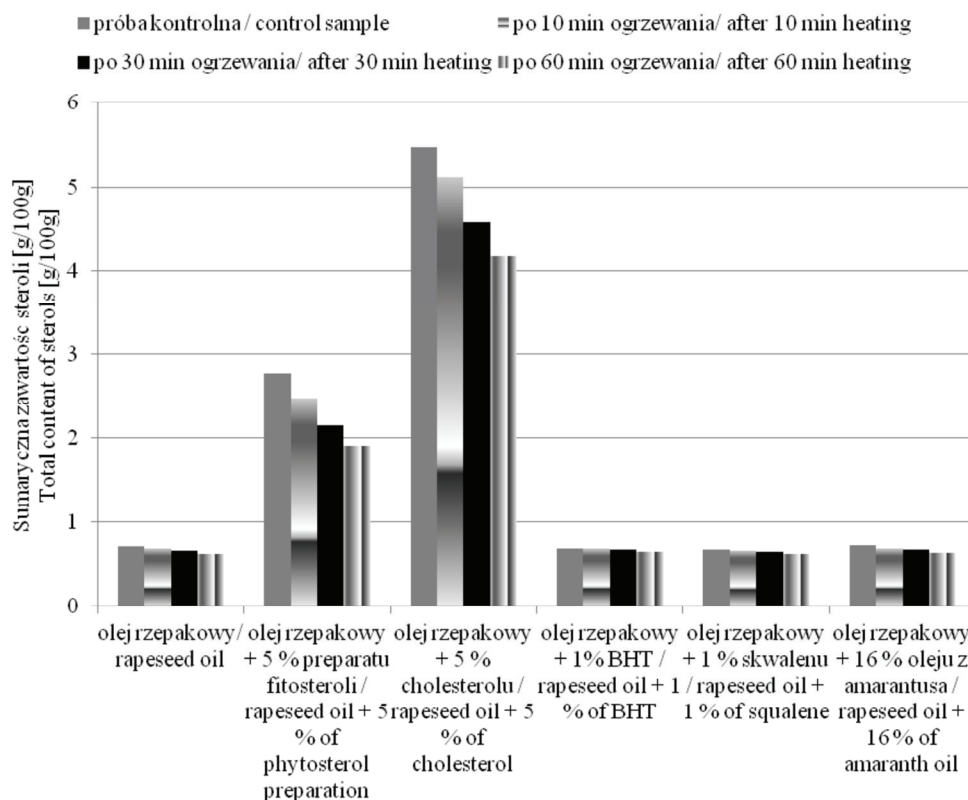




Rys. 1. Sumaryczna zawartość steroli [g/100 g] w oleju rzepakowym oraz w oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli, cholesterolu, 1 % dodatkiem BHT, skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa podczas ogrzewania w temp. 150 °C.

Fig. 1. Total content of sterols [g/100 g] in rapeseed oil and rapeseed oil with additions of 5 % of phytosterols preparation, 5% of cholesterol, 1 % of BHT, 1% of squalene, and 16 % of amaranth oil during heating at 150 °C.

Olej rzepakowy oraz olej rzepakowy z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu i 16 % dodatkiem oleju z amarantusa został poddany różnym obróbkom termicznym: ogrzewaniu w temp. 150 °C i ogrzewaniu mikrofalowemu. Analizując sumaryczną zawartość steroli w olejach przed oraz po przeprowadzeniu obróbki termicznej stwierdzono, że największe ubytki steroli wystąpiły w trakcie obróbki mikrofalowej (6 - 34 %), a najmniejsze podczas ogrzewania w temp. 150 °C (5 - 15 %). Najmniejsze straty zawartości steroli w olejach wystąpiły w próbkach z 1 % dodatkiem BHT, natomiast największe podczas ogrzewania oleju rzepakowego z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli i cholesterolu.



Rys. 2. Sumaryczna zawartość steroli [g/100 g] w oleju rzepakowym oraz w oleju rzepakowym z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli, cholesterolu, 1 % dodatkiem BHT, 1 % dodatkiem skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa podczas obróbki mikrofalowej.

Fig. 2. Total content of sterols [g/100 g] in rapeseed oil and rapeseed oil with addition of: 5 % of phytosterol preparation, 5% of cholesterol, 1 % of BHT, 1% of squalene, and 16 % of amaranth oil during microwave heating.

Źródła literaturowe podają, że straty zawartości steroli podczas obróbki termicznej tłuszczów są wynikiem wielu czynników. Najbardziej udokumentowany został wpływ wysokiej temperatury na koncentrację steroli podczas ogrzewania. Badania przeprowadzone przez Oehrl i wsp. [6] dowodzą, że obróbka termiczna oleju rzepakowego w temp. [°C]: 100, 150 i 180 przez 20 h prowadziła do ubytku zawartości steroli odpowiednio o 33, 95 i 96 %. Natomiast badania przeprowadzone przez Thanh i wsp. [18] wykazały, że obróbka olejów roślinnych w temp. 100°C przez 1 h nie powodowała żadnych strat zawartości steroli, w przeciwieństwie do ogrzewania w temp. 200 °C, które skutkowało nawet 60 % ich ubytkiem. W innym doświadczeniu, oprócz zastosowania temp. procesu obróbki 120 i 180 °C przez 4 h, podjęto próbę określenia stopnia degradacji fitosteroli podczas ogrzewania w atmosferze tlenu lub

powietrza. Największy ubytek steroli (15 % początkowej zawartości) stwierdzono podczas ogrzewania w 180 °C oraz przy dostępie tlenu [12]. Ponadto porównano ubytki zawartości fitosteroli podczas ogrzewania oleju w temp. 120 °C przez 4 h przy dostępie tlenu oraz powietrza. Wynosiły one odpowiednio 12 i 8 %.

Eksperymenty wykonane przez Soupas [15] miały na celu określenie zmian zawartości sitosterolu podczas obróbki termicznej w temp.: 160, 180 i 200 °C przez 10 min w oleju rzepakowym zawierającym dodatki: 8 % wolnego sitosterolu, 8 % zestryfikowanego sitosterolu oraz 8 % estrów sitostanolu. Znaczne ubytki sitosterolu stwierdzono podczas ogrzewania oleju w temp. 160 °C, a wynosiły one w samym oleju 4 % w stosunku do początkowej jego zawartości. W oleju z dodatkiem wolnych fitosteroli straty zawartości sitosterolu wynosiły 2,7 %, z dodatkiem zestryfikowanych fitosteroli – 3,3 %, a w oleju z 8 % dodatkiem estrów fitostanolu nie zaobserwowano strat koncentracji fitosteroli [15]. Sterole występujące w żywności w formie zestryfikowanej, np. z kwasami tłuszczowymi, ulegają degradacji w wyższym stopniu podczas obróbki termicznej niż ich formy wolne, co może wynikać z ich niższej temperatury topnienia [11]. Znaczący efekt na proces degradacji steroli ma rodzaj środowiska, w którym występują sterole. Najprostszym przykładem jest porównanie ubytków steroli podczas ogrzewania oleju rzepakowego oraz standardu fitosteroli. Straty zawartości fitosteroli obserwowane podczas obróbki w temp. 180 °C przez 48 h wynosiły od 31 do 36 % [4], natomiast ogrzewanie standardu fitosteroli przez 5 h prowadziło do całkowitego rozkładu steroli [9]. Obecność w oleju roślinnym związków o charakterze przeciwutleniającym, jak również efekt ochronny samego medium prowadził do zahamowania niekorzystnych przemian steroli. Zastosowanie dodatku syntetycznych tokoferoli, ekstraktu z zielonej herbaty, kwasu synapowego, naturalnych tokoferoli z oleju rzepakowego oraz BHT podczas ogrzewania w temp. 180 °C przez 4 h skutkowało obniżeniem strat zawartości  $\beta$ -sitosterolu na poziomie [%]: 2,9; 4,3; 4,6; 6,28; i 9,5. W oleju rzepakowym poddanym obróbce termicznej w tych samych warunkach zanotowano 15,6 % ubytek zawartości  $\beta$ -sitosterolu [5].

## Wnioski

1. Podczas obróbki termicznej oleju rzepakowego oraz jego mieszanin z dodatkiem: 5 % preparatu fitosteroli, 5 % cholesterolu, 1 % BHT, 1 % skwalenu oraz 16 % oleju z amarantusa stwierdzono, że stabilność steroli w przypadku obróbki mikrofalowej była mniejsza (ubytek zawartości 6 - 34 %), natomiast w przypadku ogrzewania w temp. 150 °C sterole charakteryzowały się większą stabilnością (ubytek zawartości od 5 do 15 %).
2. Spośród wszystkich analizowanych mieszanin oleju rzepakowego ogrzewanych za pomocą mikrofal lub termostatowo największą stabilnością steroli wyróżniała się mieszanina oleju rzepakowego z 1 % dodatkiem BHT, natomiast najmniejszą

mieszaniny oleju rzepakowego z 5 % dodatkiem preparatu fitosteroli i cholesterolu.

### Literatura

- [1] Derewiaka D., Obiedziński M.: Modelowe badania nad utlenianiem steroli. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 335-343.
- [2] Jesch E.D., Carr T.P.: Sitosterol reduces micellar cholesterol solubility in model bile. *Nutr. Res.*, 2006, **26**, 579-584.
- [3] Kaloustian J., Alhanout K., Amiot-Carlin A.J., Lairon D., Portugal H., Nicolay A.: Effect of water cooking on free phytosterol levels in beans and vegetable. *Food Chem.*, 2008, **107**, 1379-1386.
- [4] Kmieciak D.: Wpływ procesów termicznych na przemiany steroli w oleju rzepakowym. Praca doktorska, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, 2007.
- [5] Kmieciak D., Korczak J., Rudzińska M., Kobus-Cisowska J., Gramza-Michałowska A., Heś M.:  $\beta$ -Sitosterol and campesterol stabilisation by natural and synthetic antioxidants during heating. *Food Chem.*, 2011, **128**, 937-942.
- [6] Oehrl L.L., Hansen P.A., Rohrer C.A., Fenner G.P., Boyd L.C.: Oxidation of phytosterol in a test food system. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2001, **78**, 1073-1078.
- [7] Ose L.: Phytosterol intake and dietary recommendation. XVI Int. Symp. on Atherosclerosis, Roma, Italy, 2006, 18-22 VI 2006, We-S12:3
- [8] Plat J., van Onselen E.N.M., van Heugten M.M.A., Mensink R.P.: Effects on serum lipids, lipoproteins and fat soluble antioxidant concentrations of consumption frequency of margarines and shortenings enriched with plant stanol esters. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2000, **54**, 671-677.
- [9] Przybylski R., Zambiasi R., Li W.: Kinetics of sterols changes during storage and frying of canola oils. [on-line] 10th International Rapeseed Congress, Canberra Australia 1999. Dostępny w internecie: [http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/349.htm#P0\\_0](http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/349.htm#P0_0).
- [10] Raport EFSA: Consumption of food and beverages with added plant sterols in the European Union. *The Efsa J.*, 2008, **133**, 1-21.
- [11] Rosenstein F.K.U., Kircher H.W.: Analysis of mixtures of stigmasterol, stigmastanol and sitosterol. *Lipids*, 1973, **80**, 107-110.
- [12] Rudzińska M.: Studia nad tworzeniem się produktów utleniania fitosteroli podczas przechowywania i przetwarzania żywności. Praca doktorska, Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, 2003.
- [13] Rudzińska M., Uchman W., Wąsowicz E.: Plant sterols in food technology. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 2005, **4**, 147-156.
- [14] Ryan E., Chopra J., McCarthy F., Maguire A.R., O'Brien N.M.: Qualitative and quantitative comparison of the cytotoxic and apoptotic potential of phytosterol oxidation products with their corresponding cholesterol oxidation products. *Br. J. Nutr.*, 2005, **94**, 443-451.
- [15] Soupas L., Huikko L., Lampi A.M., Piironen V.: Pan-frying may induce phytosterol oxidation. *Food Chem.*, 2007, **101**, 286-297.
- [16] Szymańska R., Kruk J.: Fitosterole – występowanie znaczenie dla człowieka. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, 2007, **56**, 107-114.
- [17] Trautwein E.A.: Phytosterols and cholesterol – lowering efficiency in different food formats. XVI Int. Symp. on Atherosclerosis, Roma, Italy, 18 – 22 VI 2006, We-S12:2.
- [18] Thanh T.T., Verges M.V., Kaloustian J., El-Moselhy T.F., Amiot-Carlin M.J., Portugal H.: Effect of storage and heating on phytosterol concentrations in vegetable oils determined by GC/MS. *J. Sci. Food Agric.*, 2006, **86**, 220-225.

- [19] Ubhayasekera S.J.K.A.: Cholesterol oxidation products – analytical methods and levels in sweets containing heated butter oil. [on-line] Praca magisterska, Uniwersytet Saint Luis, 2004. Dostępna w internecie: [http://ex-epsilon.slu.se/archive/00000527/01/Kumari\\_thesis.pdf](http://ex-epsilon.slu.se/archive/00000527/01/Kumari_thesis.pdf).
- [20] Verleyen T., Sosinska U., Ioannidou S., Verhe R., Dewettinck K., Huyghebaert A., De Greyt W.: Influence of the oil refining process on free and esterified sterols. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2002, **79**, 947-953.

#### EFFECT OF THERMAL PROCESSING ON CONTENTS OF STEROLS IN RAPESEED OIL AND IN RAPESEED OIL-BASED MIXTURES

##### Summary

The objective of the study was to determine the effect of thermal processing on the composition of sterols contained in rapeseed oil and in mixtures on its basis. The subject of the research comprised rapeseed oil and rapeseed oil with the addition of: 5 % of phytosterols, 5 % of cholesterol, 1 % of BHT, 1 % of squalene, and 16 % of amaranth oil. The samples analyzed were thermally treated using microwave heating and conventional heating processes at 150 °C.

The analysis of the contents of sterols was performed using a gas chromatograph coupled with a mass spectrometer; prior to the analysis, the samples were saponified and derivatized.

It was confirmed that the higher sterol losses occurred during the microwave heating than during the conventional heating at 150 °C. Among all the rapeseed oil mixtures analyzed, the mixtures of rapeseed oil and the BHT added were characterized by the lowest sterol content loss.

**Key words:** rapeseed oil, sterols, thermal processing, GC-MS 