

Małgorzata Jerzewska, Stanisław Ptasznik
Instytut Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego w Warszawie

Charakterystyka niektórych margaryn i „mixów” krajowych z uwzględnieniem zmienności składu kwasów tłuszczowych

Characteristics of some domestic margarines and „mix” type products as regards the variability of fatty acids composition

Słowa kluczowe: margaryny miękkie, „mixy”, analiza chromatograficzna, grupy kwasów tłuszczowych, *trans* izomery, analiza statystyczna, współczynnik zmienności

Key words: soft margarines, „mix” type margarines, chromatographic analysis, groups of fatty acids, *trans* isomers, statistical analysis, variability coefficient

Celem określenia zmienności składu kwasów tłuszczowych zbadano 11 wybranych krajowych margaryn miękkich wytwarzanych głównie na bazie oleju rzepakowego niskoerukowego oraz 2 „mixy” z dodatkiem tłuszczu mlecznego. Ze względu na zawartość fazy tłuszczowej, a tym samym kaloryczność, produkty reprezentowały 3 grupy. Analiza składu kwasów tłuszczowych metodą GLC umożliwiła określenie udziału kwasów nasyconych, *trans* izomerów geometrycznych i pozycyjnych (TKT), kwasów jedno- i wielonienasyconych w poszczególnych produktach. Stwierdzono, że izomery *trans* C_{18:1} stanowią 89–97% ogólnej ilości TKT w margarynach konwencjonalnych (od 60% fazy tłuszczowej i więcej) oraz 50% w niskokalorycznych (od 50% fazy tłuszczowej i poniżej). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w ocenie partii produktów, które natomiast wystąpiły pomiędzy asortymentami. Z analizy statystycznej wynika, że odchylenie standardowe (SD) we wszystkich badanych margarynach dla sumy KT nasyconych waha się od 21,6 do 29,2%, dla sumy TKT od 1,1 do 6,9%, dla sumy KT nienasyconych od 66,6 do 70,9%, a dla kwasu erukowego od 0,25 do 1,5%. W grupie kwasów nienasyconych obserwuje się najniższy współ-

Selected 11 fresh samples of soft margarines, mainly with low erucic rapeseed oil blend and 2 „mix” type margarines with milk fat addition, from domestic producers, were taken to evaluate their variability of fatty acids composition. The share of saturated acids, geometrical and positional mono- and polyunsaturated acids in products was estimated by GLC analysis. It was observed that the *trans* isomers of C_{18:1} make 89–97% of total TFA in conventional margarines (from 60% fat and higher) and 50% in low caloric ones (from 50% fat and lower). No statistically significant differences in the estimation of products were observed, but reversely to the assortments. From statistical analysis results that standard deviation (SD) for total saturated FA varied 21.6–29.2%, for total TFA there was 1.1–6.9%, for total unsaturated FA relatively 66.6–70.9% and 0.25–1.5% for erucic acid. In the unsaturated FA group the lowest variability coefficient 0.41–10% was observed. In relation to 1995th the proportion of total SFA to C_{18:1} and to C_{18:2} + C_{18:3} = 1 : 1.5 : 1.3 is more profitable. The comparison of presented investigation to the foreign one shows its conformity or somewhat better results.

czynnik zmienności od 0,41 do 10%. W stosunku do roku 1995 w margarynach miękkich poprawiła się proporcja sumy KT nasyconych do C_{18:1} i do C_{18:2} + C_{18:3}, która wyniosła 1:1,5:1,3. Korzystnie wypadło porównanie badanych prób z odpowiednikami zagranicznymi.

Wprowadzenie

Kampania na rzecz zwiększania spożycia tłuszczów roślinnych przyniosła w ostatnich latach znaczny wzrost konsumpcji margaryn miękkich (kubkowych) wytwarzanych na bazie ciekłych olejów roślinnych i z ograniczonym udziałem tłuszczów częściowo uwodornionych, dla których ekwiwalentem staje się coraz częściej dodatek tłuszczów przeestryfikowanych bądź tzw. naturalnych olejów, czyli palmowych i kokosowego. Składniki osnowy tłuszczowej o podwyższonej temperaturze topnienia są nośnikami niezbędnej fazy stałej, zapewniającej w produkcji odpowiednie cechy reologiczne, takie jak smarowność i rozpląwalność. Całkowita eliminacja masła krowiego, zwłaszcza w żywieniu małych dzieci nie jest zalecana przez lekarzy i żywieniowców (Szponar 2000, Krygier 2001). Na rynku pojawiły się również tzw. „mixy”, w których do osnowy tłuszczowej obok tłuszczów roślinnych stosuje się dodatek tłuszczu mlecznego, najczęściej w ilości około 20% wagowych. Stwarza to pewne ryzyko powstania w tych produktach dodatkowej puli izomerów *trans* (TKT) i kwasów nasyconych (NKT). Można się tego spodziewać na podstawie charakterystyki tego najbardziej złożonego spośród tłuszczów naturalnych. Występowanie izomerów *trans* KT nie jest bowiem spowodowane jedynie przyczynami technicznymi, jak ma to miejsce w przetwarzanych chemicznie tłuszczach roślinnych, lecz ich źródłem w żywności jest również naturalny mechanizm powstawania. Izomery *trans* KT tworzą się, w warunkach *in vivo*, w żołądku zwierząt przeżuwiających w czasie fermentacji bakteryjnej (reakcja biouwodornienia nienasyconych kwasów tłuszczowych przez wodór produkowany mikrobiologicznie). Wynikiem powyższego procesu jest występowanie izomerów *trans* KT w mięsie wołowym, baraninie, ale również w mleku krowim, serze i maśle, w ilości 2–8%, jak podają źródła niemieckie (Fritsche i Steinhart 1997). Żegarska i Paszczyk (1995) podkreślają zależność pomiędzy sezonowością a zawartością sumy izomerów *trans* w mleku. U krów żywionych w oborze stwierdzono 1,8% tych związków, natomiast u wypasanych latem poziom TKT podnosił się do 5,7%.

Osobnym zagadnieniem jest tworzenie się niezwykle wartościowych żywieniowo związków w postaci sprzężonych izomerów kwasu linolowego (CLA), tak w warunkach naturalnego metabolizmu w żwaczu zwierząt, jak i w wyniku procesów technologicznych, którym poddawane są tłuszcze roślinne (Bartnikowska i in. 1998, Fritsche i Steinhart 1998).

Generalnie izomery *trans* KT są wchłaniane (podobnie jak w geometrycznej formie izomery *cis*) i mogą być przez organizm przyswajane, bądź niewykorzystywane przechodzą do krwioobrotu, stamtąd do komórek organizmu, a w dalszej kolejności wbudowują się w lipidy i lipoproteidy tkanek narządów, decydując tym samym o składzie odłożonego tłuszczu zapasowego. Różny przebieg metabolizmu izomerów *cis* i *trans* polega między innymi na tym, iż te ostatnie mają wpływ na aktywność niektórych enzymów i przemiany nasyconych kwasów tłuszczowych (Rafalski 1995). Stąd nie jest obojętna ogólna zawartość tych form w produkcie, tym bardziej, że pod względem żywieniowym zarówno TKT, jak i NKT klasyfikowane są jednakowo. Dotychczasowe opinie mówiły o szkodliwości izomerów *trans* KT w aspekcie podwyższania poziomu triacylogliceroli i LDL-cholesterolu w organizmie, co może między innymi prowadzić do takich chorób jak nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa, miażdżyca naczyń krwionośnych. Ostatnio poglądy te są bardziej wyważone (Mannion 1996) — jednak skłaniają do obniżania zawartości TKT i NKT w gotowych wyrobach tłuszczowych.

W margarynach miękkich (kubkowych) na ogół przewiduje się niższy udział olejów i tłuszczów uwodornionych — obecność izomerów *trans* oraz kwasów tłuszczowych nasyconych, odpowiedzialnych za konsystencję, może być obniżona przez samą technologię. Częściowe uwodornienie olejów roślinnych powoduje powstawanie produktów z różną zawartością *trans* izomerów kwasów tłuszczowych pozycyjnych (zjawisko przesuwania wiązań podwójnych wzdłuż łańcucha węglowego) i geometrycznych *trans* i *cis* izomerów, głównie kwasu C_{18:1}, ale także kwasów polinienasyconych. Ratnayake i Pelletier (1992) badali szczególnie zawartość izomerów *trans* kwasu linolowego w margarynach kanadyjskich na bazie oleju canola. W opinii tych autorów mieszane izolowane izomery C_{18:2} (*c9,t12* i *t9,c12*) są pozbawione aktywności biologicznej i nie uchodzą za szczególnie ważne w przemianach biochemicznych czy skutkach antyżywniowych — o ile ogólna ilość niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) w diecie jest na odpowiednim poziomie. Podobnie izomer C_{18:2} *c9,t13*, którego obecność wykrywali w swych badaniach, nie ma istotnego znaczenia w metabolizmie lipidów. Natomiast izomer C_{18:2} *t9,t12* jest bardziej niebezpieczny i bierze udział w przemianach głównych kwasów tłuszczowych. Jak stwierdzono, izomer ten zakłóca metabolizm kwasu linolowego (Anderson i in. 1975), między innymi poprzez obniżanie poziomu kwasu arachidonowego, będącego prekursorem w syntezie prostaglandyn (Drozdowski 1994). Szkodliwość nasyconych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza mirystynowego, jest natomiast mocno akcentowana w licznych publikacjach (Ziemlański 1994, Jakubowski i in. 1994), gdyż zawarte w pożywieniu wraz z cholesterolem podwyższają poziom cholesterolu we krwi i wpływają patogenicznie na hipercholesterolemię, doprowadzając do występowania niedokrwiennej choroby serca (CHD).

W świetle powyższego omówienia istotną sprawą, zarówno dla producenta jak i dla konsumenta, jest otrzymanie produktów wysokiej jakości, z jak najmniejszą zawartością związków budzących wątpliwości pod względem zdrowotno-żywnościowym, czyli NKT, TKT mono- i wielonienasyconych, a także cholesterolu. Należy tu też uwzględnić stały monitoring zawartości kwasu erukowego z uwagi na częste wykorzystywanie w produkcji oleju rzepakowego pochodzącego z różnych źródeł i przestrzeganie dopuszczalnego normą limitu.

Głównym kryterium takiej oceny w naszym przypadku był skład kwasów tłuszczowych określany za pomocą analizy GLC i w oparciu o nią obliczone ilościowe udziały grup KT w poszczególnych produktach.

W końcowym etapie prac podjęto próbę określenia standardowości produkcji na podstawie zmienności badanej populacji margaryn w ocenie statystycznej. Ciekawe również wydało się odniesienie naszych wyników do niektórych danych z literatury zagranicznej.

Material i metody

W badanych produktach podstawowym składnikiem osnowy tłuszczowej jest olej rzepakowy niskoerukowy, choć badaniom poddano także gatunki z większą domieszką oleju słonecznikowego oraz posiadające w swym składzie dodatek tłuszczu mlecznego.

Łącznie oceniono 11 wybranych margaryn „roślinnych” i 2 „mixy”, które pozyskano w okresie od maja do lipca 2000 roku od różnych producentów. Wszystkie produkty, których opakowanie stanowiły kubki z polipropylenu przechowywano w chłodni w temperaturze -10°C . Reprezentowały one trzy grupy, w zależności od zawartości fazy tłuszczowej, a zarazem wartości energetycznej produktu:

- I grupa o zawartości fazy tłuszczowej (osnowy) od 50 do 55% — produkty niskokaloryczne,
- II grupa w której udział osnowy wynosił 60% — o obniżonej kaloryczności,
- III grupa z fazą tłuszczową na poziomie 75 do 80% — produkty wysokokaloryczne (inaczej standardowe bądź konwencjonalne).

Rodzaj badanych prób posegregowanych według przyjętych kryteriów wraz z ich nazwami handlowymi i wykazem producentów zestawiono w tabeli 1.

Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych wykonywano metodą chromatografii gazowej, na estrach metylowych (przygotowanych wg normy PN-ISO 5509), w aparacie firmy Hewlett-Packard HP 6890 wyposażonym w detektor płomieniowo-jonizacyjny, kolumnę wysokopolarną z fazą BPX 70 o długości 60 m, grubości filmu $0,25\ \mu\text{m}$ i średnicy wewnętrznej $0,25\ \text{mm}$. W oparciu o projekt normy ISO/CD 15304 (1996) i pracę Duchateau i in. (1996) dobrano warunki analizy

w programowanej temperaturze i czasie. Wyniki analizy były automatycznie wyliczane według zasady wewnętrznej normalizacji za pomocą oprogramowania *ChemStation* wersja A 03.34[®] 1989–1994, w odniesieniu do wszystkich zidentyfikowanych estrów metylowych.

Badano pięć do dziewięciu kubków danego asortymentu w pojedynczych oznaczeniach, z wyjątkiem „mixów”, których pozyskano jedynie dwa opakowania.

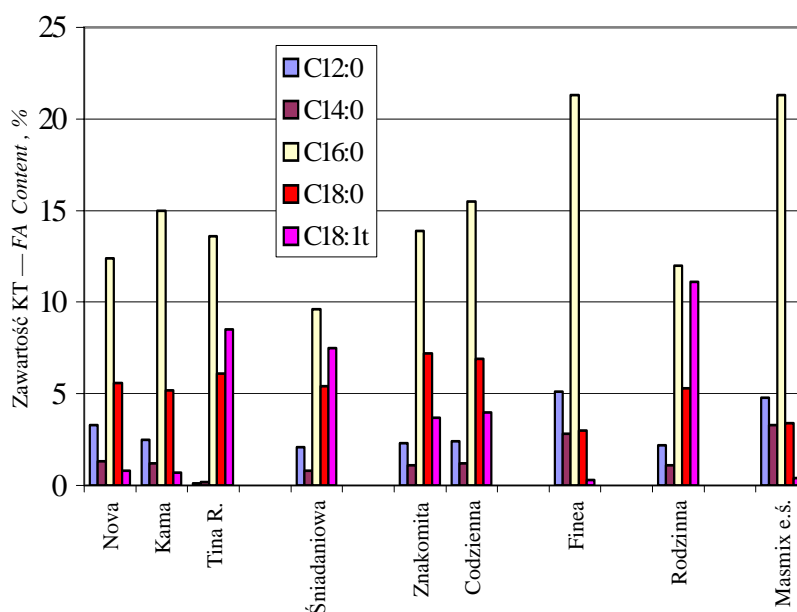
Tabela 1

Wykaz badanych margaryn (nazwy handlowe, producenci) oraz zawartość fazy tłuszczowej jako kryterium podziału na grupy — *List of estimated margarines (commercial names, producers) and fat's content as criterion groups' partition*

Nazwa <i>Name</i>	Główny składnik osnowy <i>Main component</i>	Udział fazy tłuszczowej <i>Fat's content</i> [%]	Umowna grupa <i>Agreed</i> <i>groups</i>	Producent <i>Producers</i>
Nova	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	50	I	ZPT Warszawa S.A.
Nika	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	50	I	ZT Bielmar Sp. z o.o.
Kama	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	48	I	Kama Foods S.A.
Tina	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	50	I	Kruszwica S.A.
Finea	olej rzepakowy + tł. mleczny <i>rapeseed oil + milk fat</i>	55	I	Raisio Polska Foods Sp. z o.o.
Śniadaniowa	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	60	II	ZT Bielmar Sp. z o.o.
Rodzinna	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	60	II	ZPT Warszawa S.A.
Znakomita	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	60	II	Kama Foods S.A.
Codzienna	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	60	II	
Tina rodzinna	olej rzepakowy — <i>rapeseed oil</i>	60	II	Kruszwica S.A.
Słoneczna	olej słonecznikowy <i>sunflower oil</i>	80	III	ZT Bielmar Sp. z o.o.
Królewska (Słoneczna)	olej słonecznikowy <i>sunflower oil</i>	80	III	Kama Foods S.A.
Masmix extra śmietankowy	olej rzepakowy + tł. mleczny <i>rapeseed oil + milk fat</i>	75	III	Raisio Polska Foods Sp. z o.o.

Wyniki i ich omówienie

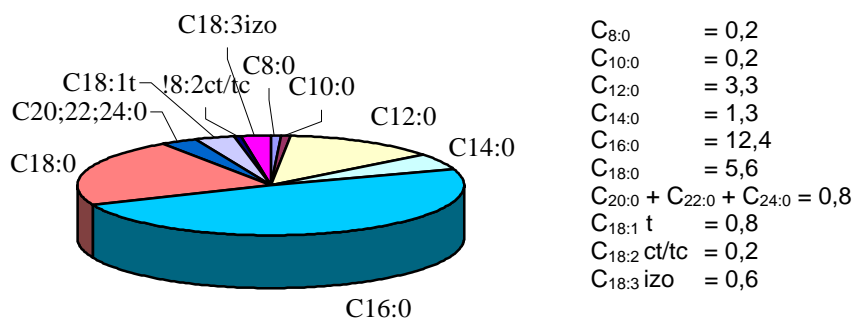
Na rysunku 1 zaprezentowano, w sposób poglądowy, wyniki tych składników, których obecność powinna być zminimalizowana w produkcie z uwagi na aspekt żywieniowy. Chodzi tu głównie o zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych oraz izomerów *trans* C_{18:1}.



Rys. 1. Charakterystyka wybranych margaryn miękkich i „mixów” pod względem przeciętnej zawartości kwasów nasyconych i sumy izomerów *trans* kwasu $C_{18:1}$ w fazie tłuszczowej — *Profile of selected margarines of soft and „mix” type as regards the saturated and isomers *trans* $C_{18:1}$ acid mean content in fatty blend.*

Zgodnie z oczekiwaniami w „mixach” (Masmix i Finea), w porównaniu z margarynami „roślinnymi”, obserwujemy najwyższy udział kwasów nasyconych średniołańcuchowych $C_{12:0}$, $C_{14:0}$ (najmniej pożądanymi) i $C_{16:0}$ (ponad 20%), jak również kwasów o najkrótszych łańcuchach węglowych ($C_{8:0}$ i C_{10}), co wynika z obecności w ich składzie tłuszczu mlecznego (rys. 2 i 3). Również w oparciu o wcześniejsze prace (Jakubowski i in. 1994, Grześkiewicz i in. 1996) stwierdzono, iż izomeryzacja obejmowała wiązania podwójne $C_{18:1}$ pomiędzy $\Delta 8$ – $\Delta 10$. Najwyższą zawartością tych związków charakteryzowała się margaryna Rodzenna, zaś najniższą obie próby „mixów”, co nie potwierdza obaw o ich obciążającym wpływie na ogólną ilość izomerów TKT w ogólnym składzie KT fazy tłuszczowej (osnowy) wzbogaconej masłem.

Rysunek 2 przedstawia charakterystykę przykładowo wybranej margaryny Nova (grupa I, tab. 1) pod względem zawartości poszczególnych nasyconych kwasów tłuszczowych, poczynając od $C_{8:0}$ oraz zsumowanych pozycyjnych izomerów *trans* kwasu oleinowego, jako form dominujących ilościowo w osnowie. W przypadku omawianej margaryny niskokalorycznej suma izomerów *trans* $C_{18:1}$ wynosiła 0,8%, a ogólna zawartość tych związków łącznie z mieszanymi 18:2 *ct/tc* i 18:3 *izo* osiągnęła wartość 1,6%.

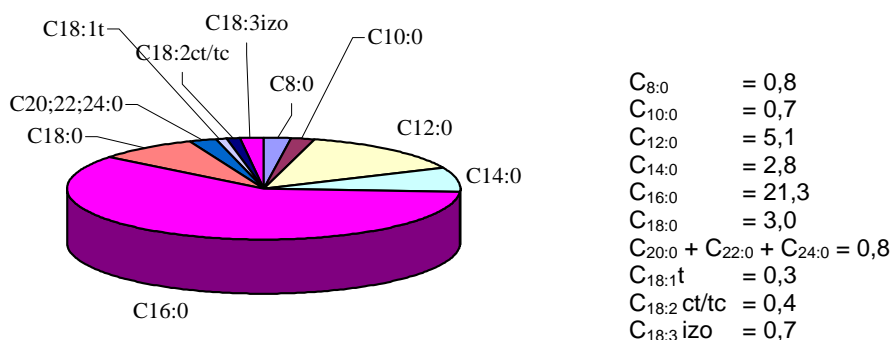


Rys. 2. Charakterystyka margaryny Nova pod względem udziału indywidualnych kwasów nasyconych i sumy izomerów *trans* C_{18:1}, C_{18:2 ct/tc} oraz C_{18:3 izo} w fazie tłuszczowej — Profile of Nova margarine as regards the individual SFA's partition and total *trans* isomers content of C_{18:1}, C_{18:2 ct/tc}, C_{18:3 izo} in fatty blend

Dane z literatury niemieckiej (Fritsche i Steinhart 1997) potwierdzają, iż głównymi formami izomerów *trans* w margarynach są tworzone podczas izomeryzacji kwasu C_{18:1} formy z wiązaniami podwójnymi w pozycji Δ4–Δ16. Autorzy ci stwierdzili, iż w margarynach określanych jako „roślinne”, „słonecznikowe” lub o obniżonej zawartości tłuszczu — około 85% ogólnej zawartości TKT stanowią właśnie *trans* izomery mononienasyconego kwasu oleinowego.

W naszych własnych badaniach (nie zilustrowanych tu tabelarycznie) ilości te wahały się średnio od 89 do 97% w margarynach „rzepakowych”, zaś pozostałe izomery C_{18:2 ct/tc} oraz C_{18:3 izo} były mniej więcej na jednym poziomie, z lekką przewagą tych ostatnich. W przykładowo podanej niskokalorycznej margarynie Nova stosunek C_{18:1t} do C_{18:3 izo} wynosi jak 1 : 0,75 (rys. 2) i jak widać izomery C_{18:1} stanowią tu 50% ogólnej puli TKT. Całkowicie potwierdza to wyniki badaczy niemieckich. Stwierdzili oni bowiem, że w margarynach dietetycznych, a więc o najniższej zawartości tłuszczu, izomery *trans* C_{18:1} są na niższym poziomie w porównaniu z innymi typami margaryn, dla których wynosi on najczęściej około 50%.

Natomiast w „mixach” Masmix i Finea zaobserwowano najniższą tendencję występowania izomerów *trans* kwasu oleinowego — blisko 78,6% udziału wszystkich TKT stanowiły izomery C_{18:2 ct/tc} i C_{18:3 izo}, podczas gdy C_{18:1 t} niespełna 21,4%. Sytuację taką widzimy na przykładzie asortymentu o nazwie handlowej Finea, sklasyfikowanego również w grupie I (rys. 3). Kwasem dodatkowo charakteryzującym ten produkt jest krótkołańcuchowy C_{8:0} (kaprylowy), który występuje tu w większej ilości niż w margarynie Nova (0,8%), co może być wynikiem dodatku masła krowiego.



Rys. 3. Charakterystyka „mixu” Finea pod względem udziału indywidualnych kwasów nasyconych i sumy izomerów *trans* C_{18:1}, C_{18:2 ct/tc} oraz C_{18:3 izo} — Profile of Finea „mix” as regards to individual SFA’s partition and total *trans* isomers content of C_{18:1}, C_{18:2 ct/tc}, C_{18:3 izo}

W naszym przypadku również potwierdza się teza zależności ilości ogólnej TKT od zakwalifikowania produktu do danej grupy tłuszczowej. W grupie I, o najniższej zawartości tłuszczu (ok. 50%), margaryny Kama, Nova, Nika wykazały rzeczywiście niską zawartość tych związków (od 1,1 do 1,8% — tab. 2). W grupie II (60%) zawartość TKT wynosiła już od 3,8 do 6,2%. Natomiast grupa III — konwencjonalna pod względem zawartości fazy tłuszczowej na poziomie 80%, ale niejednorodna jeśli chodzi o jej rodzaj (Tina Rodzinna — produkt na bazie oleju rzepakowego, zaś Królewska i Słoneczna — z udziałem oleju słonecznikowego) — wykazała wyniki zróżnicowane. Zanotowano tu wysoką w przekroju badań zawartość sumy *trans* izomerów kwasów nienasyconych (6,9%) dla margaryny „rzepakowej” i odpowiadające grupie I zawartości tych związków dla Królewskiej i Słonecznej (odpowiednio 1,3% oraz 1,9%). Wynika to oczywiście z proporcji kwasu oleinowego w tych dwóch różnych typach olejów (średnio 56% C_{18:1} w oleju rzepakowym i 20% w oleju słonecznikowym). Mogłoby to nasuwać przypuszczenie, iż większy udział kwasu linolowego w dwóch margarynach „słonecznikowych” zwiększy automatycznie pulę izomerów *trans* C_{18:2} (Anderson i in. 1975, Slover i in. 1985, Smith i in. 1978, Ottenstein i in. 1997).

Tymczasem w żadnej z margaryn, w żadnej grupie nie stwierdzono obecności izomeru *t9,t12* kwasu linolowego (*di-trans* izomeru), który jest szczególnie niepożądany (Ratnayake i Pelletier 1990, 1992), a który w porównywalnych warunkach analizy GLC identyfikowano w rzepakowych olejach rafinowanych w śladowych ilościach (Jerzewska i Ptasznik 1999, 2000). W innej pracy Ratnayake i Beare-Rogers (1990) podają, iż izomer C_{18:2 t9,t12} jest między innymi odpowiedzialny za metabolizm głównych kwasów tłuszczowych i zbadali, że większość kanadyjskich margaryn zawiera mniej niż 0,5% izomeru C_{18:2 t9,t12}, poza tylko jedną margaryną, która miała poziom przekraczający 1%. Jest to

maksymalny poziom zalecany w margarynach sprzedawanych w Kanadzie. Oleje wyżej uwodornione mogą posiadać formy *di-transów* w przeważającej proporcji do wszystkich izomerów $C_{18:2}$.

Co ciekawe, jak wcześniej wspomniano, w naszej pracy nie stwierdzono znaczącego udziału izomerów $C_{18:2}$ *ct/tc* w ogólnej zawartości TKT, nawet w badanych przez nas margarynach „słonecznikowych” — Królewskiej i Słonecznej. Autorzy zagraniczni oddzielną uwagę poświęcają margarynom „słonecznikowym”. Cytując — charakteryzują się one z reguły wyższą zawartością sumy TKT, bo zawierają dużo kwasu linolowego. Odnotowuje się znaczną obniżkę w ilości tych związków od 1994 roku w ogólnej puli TKT (średnia = 20,7%, SD = 3,4%) do średniej 16,1% przy SD = 5,3% w 1995 (Fritsche i Steinhart 1997).

Obserwuje się również wyższą zawartość izomerów $C_{18:2}$ *c9t12* (przy średniej zawartości kwasu linolowego = 49%) w tzw. margarynach dietetycznych, otrzymywanych na bazie olejów z rafinacji fizycznej, na poziomie 30,4–81,6% wobec wszystkich TKT (Smith i in. 1978, Slover i in. 1985). Temu procesowi przypisuje się podwyższoną konwersję kwasu linolowego ($C_{18:2}$ *c9c12*) do geometrycznych izomerów (np. $C_{18:2}$ *c9t12*). Nasza technologia, z nielicznymi wyjątkami, opiera się na klasycznej rafinacji (Płatek i in. 1998) i stąd może też wpływać przyczyna niewysokiego udziału mieszanych izomerów $C_{18:2}$ w przedstawianych tu wynikach.

Według niektórych badaczy (Anderson i in. 1975, Fritsche i Steinhart 1997) izomery *c9,t12* i *t9,c12* są pozbawione aktywności NNKT. Natomiast żywieniowe i biochemiczne właściwości izomerów $C_{18:2}$ *c9,t13*, które wykrywali stosując łączone techniki analizy, nie są znane. Jednak według nich należy się spodziewać, że forma $C_{18:2}$ *c9,t13* jest przekształcana do $C_{20:4}$ z *trans* podwójnymi wiązaniami, podobnie do metabolizmu $C_{18:2}$ *c9,t12*.

Badania struktury izomerów $C_{18:2}$ charakteryzowanych w tych pracach wykazały, że podwójne wiązania typu $\Delta 9$ przeważają w prawie wszystkich izomerach $C_{18:2}$. Co więcej, to wiązanie jest w konfiguracji geometrycznej *cis* w większości izomerów. Może to wskazywać, iż podwójne wiązanie $\Delta 9$ jest najmniej reaktywnym centrum nienasycenia w czasie procesu uwodornienia. W przypadku, gdy właśnie wiązanie podwójne $\Delta 9$ jest atakowane, dochodzi tylko do geometrycznej izomeryzacji wiązania *cis* w konfigurację *trans*. Nie ma tam migracji podwójnego wiązania (przesunięcia) w inną pozycję. Jest też bardziej prawdopodobne, że izomer $C_{18:2}$ *c9,t13* formuje się z kwasu linolowego w wyniku migracji i izomeryzacji podwójnego wiązania *cis12*. To może świadczyć, że wiązanie podwójne $\Delta 12$ w kwasie $C_{18:2}$ jest bardziej reaktywne niż wiązanie podwójne $\Delta 9$ w kwasie linolenowym $C_{18:3}$ *c9c12c15*. W tymże kwasie α -linolenowym wiązanie podwójne $\Delta 12$ jest najmniej reaktywne, ponieważ jest bardziej przestrzennie ściśnięte niż $\Delta 9$ i $\Delta 15$. Uwodornienie każdej pozycji w kwasie tłuszczowym bez wątpienia będzie modyfikowane przez uwarunkowania przestrzenne i stąd może to oddziaływać na różną reaktywność wiązania $\Delta 12$ w kwasie

Tabela 2
 Wyniki oceny statystycznej wybranych indywidualnych margaryn kubkowych w zależności od typu KT (wg ISO 5725:1994)
Effects of statistical analysis of individual selected samples of soft margarines dependent on fatty acids type

	Grupa* Group	Nazwa Sample name	n	Typ kwasów tłuszczowych w osnowie, % Type of fatty acids in blend, %			kwas erukowy C _{22:1}
				Σ nasyconych SFA ¹⁾	Σ trans ²⁾	Σ nienasyconych UFA ³⁾	
Średnia ± SD Mean ± SD [% (m/m)]	I	Kama	6	25,3 ± 2,00 a	1,7 ± 0,21 a	68,9 ± 1,36 a	0,6 ± 0,25 a
		Nova	6	26,0 ± 2,33 a	1,1 ± 0,45 a	70,3 ± 2,40 a	1,5 ± 1,23 b
		Nika	7	28,4 ± 1,78 b	1,8 ± 1,49 a	66,8 ± 1,28 b	0,5 ± 0,65 ac
	II	Codzienna	5	21,6 ± 4,80 c	3,8 ± 1,35 b	70,9 ± 5,66 a	0,7 ± 0,41 a
		Znakomita	5	24,4 ± 1,00 a	4,2 ± 0,46 b	68,4 ± 0,28 a	0,6 ± 0,25 a
		Śniadaniowa	9	21,3 ± 2,23 c	6,2 ± 1,40 c	69,6 ± 1,35 a	0,6 ± 0,17 a
	III	Tina Rodzinna	6	24,3 ± 4,54 a	6,9 ± 3,82 c	66,4 ± 6,69 b	0,3 ± 0,17 ac
		Królewska	6	26,0 ± 2,25 a	1,3 ± 0,80 a	67,0 ± 2,87 a	0,2 ± 0,10 ac
		Słoneczna	8	29,2 ± 4,92 b	1,9 ± 1,63 a	70,6 ± 3,23 a	0,2 ± 0,17 ac
Współczynnik zmienności (CV) Coefficient of variation [%]	I	Kama	8	7,78	12,47	1,97	42,48
		Nova	8	8,96	40,09	3,41	81,86
		Nika	8	6,28	82,55	1,92	85,4
	II	Codzienna	8	22,20	35,39	7,98	58,02
		Znakomita	8	4,11	10,90	0,41	42,48
		Śniadaniowa	8	10,45	22,58	1,94	0,25
	III	Tina Rodzinna	8	18,68	55,30	10,07	57,73
		Królewska	8	8,66	61,76	4,28	50,00
		Słoneczna	8	16,85	85,58	4,57	87,2

Odmienne indeks literowy przy wartościach wyróżników w kolumnach oznacza występowanie statystycznie istotnych różnic ($\alpha = 0,05$)

Means in the same column bearing different letter are significantly different at $\alpha = 0,05$

* — podział grup wg zawartości tłuszczu — groups' partition by fat content

1) — Σ nasyt. SFA — C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}, C_{20:0} 2) — Σ trans — C_{18:1}, C_{18:2}, *ct/c*, C_{18:3}, *izo* 3) — Σ nienasyt. UFA — C_{18:1} c, C_{18:2} cc, C_{18:3} ccc

linolowym i linolenowym. W kwasie linolowym nieobecność wiązania $\Delta 15$ prawdopodobnie powoduje, że wiązanie podwójne $\Delta 12$ jest bardziej wyeksponowane niż $\Delta 9$. Im większa jest bliskość wiązania podwójnego $\Delta 9$ do grupy karboksylowej i „szkieletu” glicerolu, tym bardziej może być ono chronione taką budową przestrzenną przed atakiem wodoru (Ratnayake i in. 1992).

W tabeli 2 zestawiono dane do przeprowadzenia analizy statystycznej badanych prób. Przedstawiono tu, między innymi, średnie udziały interesujących nas grup KT dla poszczególnych margaryn, obliczone na podstawie pełnego składu kwasów tłuszczowych z wcześniej wyizolowanych osnów. Nie zebrano w niej danych odnośnie „mixów”, gdyż w okresie badań nie dysponowano odpowiednią liczbą ich opakowań, a ponadto uznano, iż ich skład w zależności od terminu może podlegać większym zmianom na skutek sezonowości używanego w nich tłuszczu mlecznego jako dodatku do osnowy.

Ocenę różnic statystycznie istotnych dla poszczególnych partii tego samego produktu, jak i różnych asortymentów, dokonano stosując analizę wariancji. Między partiami (różniącymi się datami produkcji w odstępach kilkudniowym) nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic, z wyjątkiem margaryny niskokalorycznej Nika i tylko pod względem zawartości sumy izomerów *trans*. Natomiast zmiany statystycznie istotne przy poziomie istotności $1 - \alpha = 0,95$ stwierdzono pomiędzy niektórymi produktami w badanych wyróżnikach (poszczególne kolumny tabeli 2), niezależnie od grupy tłuszczowej.

Z kolei analiza statystyczna przeprowadzona zgodnie z normą ISO 5725:1994 na prezentowanych w omawianej tabeli 2 margarynach miękkich z poszczególnych grup sklasyfikowanych według zawartości tłuszczu daje pogląd na aspekt technologiczny ich wytwarzania.

Odchylenie standardowe (SD) charakteryzuje normatywność warunków produkcji, a także jakość używanych surowców. Spośród zbadanych margaryn kubkowych — najlepszym współczynnikiem zmienności (CV) w obrębie kwasów nasyconych wyróżniły się Znakomita, Nika, Kama, natomiast najmniej wyrównana była pod tym względem Codzienna (CV = 22%). Generalnie mała zmienność wystąpiła w grupie kwasów nienasyconych, przy czym najlepiej omawiany parametr przedstawiał się w margarynach z grupy I i II, nieco gorzej w grupie III (o zawartości tłuszczu około 80%). Ma to pozytywne znaczenie ze względów żywieniowych i dobrze świadczy o jakości procesów technologicznych w danych zakładach.

Największą zmiennością charakteryzował się udział procentowy izomerów *trans* (jako suma $C_{18:1 t}$, $C_{18:2 ct/tc}$ i $C_{18:3 izo}$) oraz zawartość kwasu erukowego (od współczynnika zmienności równego 0,25% w margarynie Śniadaniowej do 85% i 87% w Nice i Słonecznej). Potwierdza to wyniki uzyskane wcześniej dla krajowych olejów rzepakowych, które poddano podobnej analizie (Jerzewska Ptasznik 1999, 2000). Należy jednak wyraźnie podkreślić, iż poziom *trans*-

zizomeryzowanych kwasów tłuszczowych oraz kwasu $C_{22:1}$ był stosunkowo niski (odpowiednio od 1,1 do 6,9% oraz od 0,2 do 0,7% i 1,5% kwasu erukowego tylko w jednej margarynie Nova). W porównaniu do badań z lat wcześniejszych (Jakubowski 1995), gdzie odnotowano ogólny poziom TKT od 7,2% do 9,3% dla margaryn niskokalorycznych i nawet 22,6% dla pełnotłustych — jest to bardzo wyraźny postęp. Podniósł się również udział kwasów wielonienasyconych z 20–50% do około 70% we wszystkich grupach tłuszczowych. Poprawił się też stosunek spożycia tłuszczów nasyconych i wielonienasyconych. W roku 1995 wynosił on jak 1 : 1,02 : 0,28 odpowiednio do sumy kwasów nasyconych, $C_{18:1}$ i sumy wielonienasyconych, podczas gdy zalecany jest 1 : 1,2 : 0,8. Z naszych obecnych badań wynika, iż w margarynach niskokalorycznych proporcja ta jest średnio rzędu 1 : 1,5 : 1,3. Korzystny jest zatem wzrost spożycia $C_{18:1}$ i $C_{18:2}$ oraz odejście od wyraźnego deficytu z lat ubiegłych.

O ile na wysoki współczynnik zmienności w izomerach *trans* mogą rzutować głównie warunki produkcyjne, o tyle za ich wielkość w przypadku zawartości kwasu erukowego dodatkowo odpowiada sam surowiec jako określony materiał genetyczny (Diepenbrock i Wilson 1987). Stąd wahania w udziale kwasu erukowego mają przede wszystkim przyczynę w oleju używanym do produkcji, a pochodzącym z wielu źródeł, w tym z importu; częstokroć są to mieszaniny olejów różnych odmian rzepaku — nisko- i średnioerukowego. W mniejszym stopniu zbyt drastyczne warunki produkcji sprzyjają powstawaniu izomeru $C_{22:1}$ *cis15* na minimalnym poziomie około 0,05%.

Ulepszanie procesów technologicznych i poprawa jakości surowców przynoszą pozytywne efekty ważne przede wszystkim dla zdrowia konsumentów w większości krajów. Również obniżenie ogólnej zawartości TKT wykazano w niemieckich margarynach w stosunku do ich wcześniejszych badań z lat 1994–1996. I tak na przykład stwierdzono tam w margarynach o obniżonej zawartości tłuszczu zawartość TKT na poziomie od 0,6 do 3,6% ($n = 4$, średnia = 1,58%, $SD = 1,4\%$). Natomiast w margarynach konwencjonalnych maksymalna zawartość TKT wynosiła nawet 23,5% ($n = 12$, średnia = 10,8%, $SD = 7,1\%$) (Fritsche i Steinhart 1997), podczas gdy w naszych badaniach suma izomerów *trans* w tej grupie, a praktycznie w Tinie Rodzinnej — wyniosła 6,9%.

W danych belgijskich (De Greyt i in. 1996) stwierdzono duży rozrzut zawartości sumy TKT w margarynach „roślinnych” od 0,5 do 24,5% (średnio = 9,7%, $SD = 7,0\%$) i dietetycznych ($n = 9$, średnia TKT = 6,4% i $SD = 6,2\%$); równocześnie na Węgrzech odnotowano nieco inne wartości ($n = 7$, średnia TKT = 14,1%, $SD = 7,6\%$), jak i w Wielkiej Brytanii ($n = 3$, średnia TKT = 9,8%, $SD = 1,9\%$). Liczby te wskazują jak szeroka może być zmienność w zawartościach TKT w zależności od typu margaryn i kraju pochodzenia.

Nasze wyniki wskazują na znaczny postęp w produkcji margaryn o wysokich walorach biologiczno-żywnościowych (obniżenie poziomu izomerów *trans*, wzrost

KT nienasyconych). Obserwuje się ścisłą zależność pomiędzy występowaniem KT nasyconych a izomerami *trans* C_{18:1} w badanych produktach. Wiemy, że izomery *trans* występują w produktach uwodornionych stosowanych do sporządzania osnów tłuszczowych margaryn, ze względu na wysoką zawartość fazy stałej. Stosując więc komponenty uwodornione wprowadzamy, w sposób zamierzony lub nie, pewne ilości izomerów *trans*. Katan i Zock (1995) oraz Molquentin i Precht (1996) upatrują obniżenie średniej zawartości izomerów *trans* C_{18:1} w zastępowaniu częściowo uwodornionych olejów przez olej palmowy, z ziarn palmowych lub olej kokosowy. Takie rozwiązanie dla obniżenia poziomu TKT C_{18:1} widzą też inni autorzy (Wolff 1992). W produkcji polskich margaryn czynione są podobne próby, również z udziałem tłuszczów przeestryfikowanych (Ptasznik i Drozdowski 1996).

Podsumowanie i wnioski

1. Najwyższy udział nasyconych kwasów tłuszczowych i najniższą zawartość izomerów *trans* C_{18:1} (0,3–0,4%) oraz najwyższy udział C_{18:3} *izo* (82% ogółu TKT) stwierdzono w „mixach”.
2. Głównymi izomerami *trans* w margarynach są C_{18:1} z podwójnymi wiązaniami w pozycji Δ8–Δ10. Najwięcej tych związków wykryto w margarynie o nazwie handlowej Rodzinna z grupy III (11%), zaś w margarynach z II i III grupy izomery *trans* C_{18:1} stanowiły 89–97% ogólnej ilości TKT, a w margarynach z I grupy około 50%.
3. Izomery C_{18:2} *ct/tc* oraz C_{18:3} *izo* występują na porównywalnym poziomie, natomiast w żadnej próbie nie stwierdzono obecności izomerów C_{18:2} *tt*.
4. Margaryny „słonecznikowe” nie wykazały podwyższonego udziału C_{18:2} *ct/tc* w ogólnej puli TKT pomimo zwiększonego udziału kwasu linolowego.
5. W analizie statystycznej stwierdzono, iż SD w badanych próbach dla sumy nasyconych waha się od 21,6 do 29,2, dla sumy *trans* od 1,1 do 6,9, dla sumy nienasyconych od 66,6 do 70,9, a dla kwasu erukowego C_{22:1} — od 0,2 do 1,5. Największą zmiennością charakteryzowała się suma *trans* (do 86%), a najszerszy przedział zmienności stwierdzono dla zawartości kwasu erukowego (od 0,25 w Śniadaniowej do 87% w Słonecznej). W grupie kwasów nienasyconych obserwuje się najniższy współczynnik zmienności od 0,41 do 10%.
6. Średni poziom sumy izomerów *trans* w badanych produktach jest porównywalny z produktami zagranicznymi, a nawet nieco od nich korzystniejszy (1,1–6,9%).
7. Należy dążyć do eliminacji tłuszczów częściowo uwodornionych i zastępować je olejami naturalnymi oraz tłuszczami przeestryfikowanymi, wolnymi od izomerów *trans*.

8. W świetle uzyskanych wyników można stwierdzić, iż nastąpiła poprawa jakości krajowych produktów w postaci margaryn miękkich, co idzie w parze z postępowaniem w technologii produkcji.

Summaring and conclusions

1. The highest amounts of UFA and the lowest $C_{18:1}$ *trans* isomers (0.3–0.4%) were stated, the share of $C_{18:3}$ *izo* was the highest (82% of total TFA) in margarines „mix” type.
2. The main TFA in margarines are $C_{18:1}$ *trans* isomers, which have a double bond position at $\Delta 8$ – $\Delta 10$. The highest were detected in Rodzinna margarine (11%) and the amount of total *trans* isomers $C_{18:1}$ in II and III group are 89–97% and in I group — low caloric — the level is 50%.
3. The $C_{18:2}$ *ct/tc* and $C_{18:3}$ *izo* isomers are nearly at the same proportion. There aren't the $C_{18:2}$ *tt* isomers in investigated samples.
4. The sunflower margarines didn't reach higher level of $C_{18:2}$ *ct/tc* in the total content of TFA, although the higher linoleic acid content in them.
5. In statistical analysis — the standard deviation (SD) varied for Σ SAFA 21.6–29.2%, for Σ *trans* 1.1–6.9%, for Σ UFA 66.4–70.9% and for $C_{22:1}$ — 0.2–1.5%. The highest coefficient of variation was stated for Σ *trans* (to 86%), for $C_{22:1}$ there was wide range from 0.2% (in Sniadaniowa margarine the lowest coefficient) to 87% in Sloneczna. The lowest variability was stated in UFA group (0.41–10%).
6. Mean level of total TFA of investigated margarines is comparable to the products from another countries in Europe, and even somewhat better (1.1–6.9%).
7. Partially hydrogenated oils seem to have been in parts replaced by natural oils (palm, palm kernel or coconut), and by transesterified fats, which are *trans* isomers free.
8. On the base of these results we can see better and better quality of domestic „soft” margarines as the result of progress in processing.

Literatura

- Anderson R.L., Fullmer C.S., Hollenbach. 1975. Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids. J. Nutr., 105: 393.
- Bartnikowska E., Obiedziński M.W., Grześkiewicz S. 1998. Sprężone dieny kwasu linolowego: Działanie w organizmie, występowanie w żywności i problemy analityczne związane z ich oznaczaniem. XXIX Sesja Naukowa KTiCHŻ PAN, Olsztyn, 21–23 września: 330–331.

- De Greyt W., Radanyi O., Kellens M., Hyghehaert A. 1996. Contribution of Trans Fatty Acids from Vegetable Oils and Margarines of the Belgian Diet. *Fett/Lipid*, 98: 30–33.
- Diepenbrock W., Wilson R.F. 1987. Genetic regulation of linolenic acid concentration in rapeseed. *Crop. Sci.*, 27: 75–77.
- Dokument ISO/TC 34/SC 11 N 575. 1995. Projekt Unilever Research Laboratory, Trans fatty Acid Isomers in Oils/Fats.
- Drozdowski B. 1994. Lipidy. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. Praca zbiorowa pod redakcją Z.E. Sikorskiego, WN-T, Warszawa: 176–179.
- Duchateau G.S.M.J.E., van Oosten H.J., Vasconcellos M.A. 1996. Analysis of cis- and trans-isomers with capillary CLC in hydrogenated and refined vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73, 3: 275–282.
- Fritsche J., Steinhart H. 1997. Trans fatty acid content in German margaines. *Fet/Lipid*, 99: 214–217.
- Fritsche J., Steinhart H. 1998. Analysis, occurrence and physiological properties of fatty acids (TFA) with particular emphasis on conjugated linoleic acid isomers (CLA) – a review. *Fet/Lipid* 100, 6: 190–210.
- Grzeškiewicz S., Jakubowski A., Piłat K., Jerzewska M. 1996. Sposób oznaczania zawartości izomerów geometrycznych i pozycyjnych C_{18:1} w olejach uwodornionych. *Tł. Jad.*, 31, 3–4: 63–76.
- Jakubowski A. 1995. Wpływ procesów przetwarzania tłuszczów na ich skład i cechy. *Tł. Jad.*, 30, 2: 70–80.
- Jakubowski A., Piłat K., Grzeškiewicz S. 1994. Zagrożenia wartości biologiczno-żywnieniowej tłuszczów przez procesy technologiczne ich wytwarzania. *Tł. Jad.*, 24, 2: 10–22.
- Jerzewska M., Ptasznik S. 1999. Spektrum składu kwasów tłuszczowych rafinowanych olejów rzepakowych z krajowych zakładów przemysłu tłuszczowego. *Rośliny Oleiste*, XX (2): 177–184.
- Jerzewska M., Ptasznik S. 2000. Ocena występujących na rynku krajowym olejów rzepakowych pod względem zmienności składu kwasów tłuszczowych. *Rośliny Oleiste*, XXI (2): 557–568.
- Katan M.B, Zock P.L. 1995. Dietary trans fatty acids and the risk for coronary heart disease. *Proceeding of the 21 World Congress of the International Society for fat Research (ISF)*, PJ Barnes & Associates: 7–9.
- Krygier K. 2001. Polski Konsensus Tłuszczowy, Ustalenia podjęte w wyniku spotkań grona ekspertów towarzystw i instytutów naukowych w dn. 3–4 grudnia 1999. *Przem. Spoż.*, 55, 2: 40.
- Mannion P. 1996. Trans Isomers. An End to Fear? *The World of Ingredients*: 8–9.
- Molkentin J., Precht D. 1996. Isomeric distribution and rapid determination of trans-octadecenoic acids in German brands of partially hydrogenated edible fats. *Nahrung*, 40: 297–304.
- Norma ISO 5725:1994. Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests.
- Ottenstein D.M., Wittings L.A., Walker G., Mahadevan V., Pelick N. 1997. Trans fatty acid content of commercial margarine samples determined by GLC on OV-275. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 54: 207–209.
- Płatek T., Węgrowski J., Krygier K., Jerzewska M. 1998. Wpływ procesów rafinacyjnych na stabilność oksydacyjną oleju rzepakowego. Część IV. Proces odwaniania. *Tł. Jad.*, 33, 3–4: 100–113.
- Polska Norma PN-ISO 5509. 1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
- Projekt normy ISO/CD 15304. 1996. Animal and vegetable fats and oils – determination of trans fatty acids – Capillary gas liquid chromatography method.

- Ptasznik S., Drozdowski B. 1996. Modyfikacja niskoerukowego oleju rzepakowego w aspekcie komponowania osnów margarynowych. Część I. Otrzymywanie tłuszczów przeestryfikowanych w skali laboratoryjnej i określenie ich właściwości fizykochemicznych. *Tł. Jad.*, 31, 1–2: 41–56.
- Rafalski H. 1995. Konferencja naukowa nt. „Tłuszcz mlekowy w żywieniu człowieka”. 22–23 września, Olsztyn Kortowo, 6.
- Ratnayake W.M.N., Hollywood R., O’Grady E., Beare-Rogers J.L. 1990. Determination of cis and trans-octadecenoic acids in margarines by GLC-Infrared Spectrophotometry. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67: 804–810.
- Ratnayake W.M.N., Pelletier G. 1992. Positional and geometrical isomers of linoleic acid in partially hydrogenated oils-octadecadienoic isomers in margarines. *J. Am. Oil Chem. Soc.*: 69, 95–105.
- Ratnayake W.M.N., Beare-Rogers J.L. 1990. Problems of analyzing C18cis- and trans-fatty acids of margarine on the SP-2340 capillary column. *Journal of Chrom. Sc.*, 28: 633–639.
- Slover H.T., Thompson Jr R.H., Davis C.S., Merola G.V. 1985. Lipids in margarines and margarine-like foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62: 775–786.
- Smith L.M., Dunkey W.L., Franke A., Dairiki T. 1978. Measurement of trans and other isomeric unsaturated fatty acids in butter and margarine. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55: 257–261.
- Szponar L. 2000. Referat wygłoszony na Posiedzeniu Sekcji Chemii i Technologii Tłuszczów Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, przewidziany do druku, *Przem. Spoż.*, luty 2001.
- Wolff R.L. 1992. Trans-Polyunsaturated Fatty Acids in French Edible Rapeseed and Soybean Oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69 (2): 106–110.
- Ziemiański Ś. 1994. Rola tłuszczu w żywieniu zdrowego i chorego człowieka. *Tł. Jad.*, 24, 1: 23–31.
- Żegarska Z., Paszczyk B. 1995. Konferencja naukowa nt. „Tłuszcz mlekowy w żywieniu człowieka”, 22–23 września, Olsztyn Kortowo, 21.