

MAŁGORZATA WRONIAK, MAŁGORZATA ŁUBIAN

**OCENA STABILNOŚCI OKSYDATYWNEJ OLEJÓW
RZEPAKOWEGO I SŁONECZNIKOWEGO TŁOCZONYCH
NA ZIMNO Z DODATKIEM EKSTRAKTU Z OREGANO W TEŚCIE
RANCIMAT I TERMOSTATOWYM**

Streszczenie

Celem pracy była ocena stabilności oksydacyjnej olejów rzepakowego i słonecznikowego tłoczonych na zimno z dodatkiem ekstraktu z oregano, w teście Rancimat i termostatowym. Materiałem badawczym były świeże oleje: rzepakowy i słonecznikowy tłoczone na zimno. Oleje stabilizowano dodając naturalny przeciwutleniacz w postaci ekstraktu oregano - preparat handlowy Origanox - w dawkach 500, 1000, 1500 mg/kg. Zbadano ogólną jakość olejów (liczba kwasowa, nadtlenkowa, anizydynowa, jodowa). Stabilność oksydacyjną olejów z przeciwutleniaczem oznaczono w teście Rancimat w temp. 120 °C i jednocześnie prowadzono test termostatowy w temp. 63 °C.

Aktywność przeciwutleniająca ekstraktu oregano zależała od zastosowanej dawki preparatu. Im wyższa dawka, tym dłuższy był czas indukcji w przypadku oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. W oleju tłoczonym na zimno najefektywniejsza była dawka 1500 mg/kg. W oleju słonecznikowym tłoczonym na zimno zaobserwowano działanie prooksydacyjne zastosowanego ekstraktu, zarówno w teście Rancimat, jak i termostatowym.

Słowa kluczowe: oleje tłoczone na zimno, stabilność oksydacyjna, test Rancimat, test termostatowy, olej rzepakowy, olej słonecznikowy

Wprowadzenie

Wzrost świadomości żywieniowej konsumentów sprawia, że oleje roślinne tłoczone stają się coraz bardziej popularne. Przyczyną tej tendencji jest pogląd, że oleje tłoczone na zimno mają większą wartość odżywczą niż oleje rafinowane i otrzymywane są w sposób ekologiczny, naturalny [3, 6, 7, 8]. Jak wszystkie tłuszcze, oleje tłoczone na zimno również ulegają niekorzystnym przemianom prowadzącym do powstawania szkodliwych dla zdrowia związków m.in. pierwotnych i wtórnych produktów utle-

nienia [20]. Procesy te zachodzą zarówno podczas produkcji oleju, jak i w trakcie jego przechowywania pod wpływem tlenu, światła i temperatury [4, 5, 17, 18].

W Polsce najpopularniejszymi olejami jadalnymi są oleje: rzepakowy i słonecznikowy, również wśród olejów tłoczonych na zimno. Biorąc pod uwagę problemy z uzyskaniem stałej, wysokiej jakości olejów tłoczonych na zimno, a także z krótkim okresem ich przydatności do spożycia, celowym wydaje się badanie jakości i podejmowanie prób podwyższenia stabilności oksydacyjnej olejów tłoczonych na zimno np. przez dodatek naturalnych przeciwutleniaczy [15]. Ze względu na duży potencjał przeciwutleniający i dostępność, szerokie zastosowanie znalazły ekstrakty z ziół [1, 9, 16, 19]. Oregano to grupa aromatycznych ziół rodziny *Labiatae*, różnych gatunków bogatych w związki fenolowe (kwasy fenolowe np. rozmarynowy, kawowy, flawonoidy, tokoferole oraz olejki eteryczne: karwakrol i tymol) [16, 19]. Dobre właściwości przeciwutleniające oregano – ziół, jak i ich ekstraktów, stwierdzono stosując je do podwyższenia stabilności olejów m. in. słonecznikowego, emulsji typu o/w oraz smalcu [1, 9, 16, 19].

Stosowanie przyspieszonych testów badania stabilności oksydacyjnej (m.in. testu Rancimat), jest obecnie najbardziej powszechnym sposobem badania aktywności przeciwutleniającej naturalnych ekstraktów ziół i przypraw w olejach rafinowanych [17].

Celem pracy była ocena stabilności oksydacyjnej olejów: rzepakowego i słonecznikowego tłoczonych na zimno z dodatkiem ekstraktu z oregano w teście Rancimat i termostatowym.

Materiał i metody badań

Materiałem badawczym były świeże, dostarczone przez producenta (firma „Primus”) oleje: rzepakowy i słonecznikowy tłoczone na zimno, w opakowaniach 1l PET, w początkowym okresie przydatności do spożycia. Określono ogólną jakość olejów poprzez oznaczenie: liczby kwasowej (LK) [13], liczby nadtlenkowej (LOO) [11], liczby anizydynowej (LA), wyliczenie wskaźnika TOTOX [9] i liczby jodowej (LJ) [12]. Oznaczono wyjściową stabilność oksydacyjną olejów w testach: Rancimat i termostatowym. Test Rancimat prowadzono w temp. 120 °C [14] w aparacie typ 679 (Metrohm), przepływ oczyszczonego powietrza wynosił 20 l/h, masa badanego oleju 2,5 g, a ilość wody w naczyniach 60 ml. Test termostatowy prowadzono w temp. 63 °C bez dostępu światła. Kontrolne i stabilizowane próbki olejów (40 g) przechowywano w termostacie w zlewkach szklanych o pojemności 50 ml. Okresowo oznaczano w nich liczbę nadtlenkową i anizydynową. Wykreślono krzywe utleniania. Stosowano preparat przeciwutleniający o nazwie handlowej Origanox OS (naturalny olejowy ekstrakt z ziół rodziny *Labiatae* m. in. *Origanum vulgare*, o standaryzowanej aktywności przeciwutleniającej, o żółtawej barwie i delikatnym ziołowym smaku i zapachu, stabilny w temp. 180 – 200 °C), który dodawano do olejów w dawkach 500, 1000, 1500 mg/kg

oleju. Wyliczono współczynniki ochronne olejów, odnosząc różnicę w czasie indukcji oleju z dodatkiem i bez przeciwutleniacza do czasu indukcji próby kontrolnej, czyli bez przeciwutleniacza. Doświadczenia przeprowadzono w dwóch seriach, a wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach. Do statystycznego opracowania wyników użyto programu Statgraphics Plus wersja 4.1. Do porównania danych wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji przy $\alpha=0,05$ (test Duncana).

Wyniki i dyskusja

Oleje tłoczone na zimno spełniały wymagania norm pod względem wartości liczby kwasowej (LK < 4 mg KOH/g) i nadtlenkowej (LOO < 15 meq/kg) (tab. 1) [2]. Olej słonecznikowy charakteryzował się zdecydowanie wyższym stopniem utlenienia lipidów w stosunku do oleju rzepakowego. Ilość wtórnych produktów utlenienia obydwu olejów, mierzona liczbą anizydynową (LA), była niska. Liczba jodowa była wyższa w oleju słonecznikowym, zawierał on więcej polienowych kwasów tłuszczowych w stosunku do oleju rzepakowego, co z założenia powoduje wyższą jego podatność na zmiany oksydacyjne w trakcie otrzymywania i przechowywania.

Tabela 1

Charakterystyka olejów.
Profile of the oils examined.

Oleje Oils	LK Acid value [mg KOH/g]	LOO Peroxide value [meq O ₂ /kg]	LA Anisidine value	Totox index [2 LOO+LA]	LJ Iodine value [g jodu/100 g]
Rzepakowy Rapeseed oil	1,60a	2,82a	0,76a	6,4a	108,57a
Słonecznikowy Sunflower oil	2,89b	6,44b	1,07b	14,0b	123,27b

Wartości w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$.

The values denoted by the same letter and placed in the lines do not differ statistically significantly at $\alpha = 0,05$.

W teście Rancimat wykazano, że stabilność oksydacyjna oleju rzepakowego była prawie dwukrotnie wyższa niż oleju słonecznikowego (tab. 2). Zastosowany preparat oregano charakteryzował się niską aktywnością przeciwutleniającą w stosunku do obu badanych olejów. Każda z zastosowanych dawek preparatu Origanox OS spowodowała zwiększenie stabilności oksydacyjnej oleju rzepakowego tłoczonego na zimno poprzez wydłużenie okresu indukcyjnego (o 1,1 – 16,5 % odpowiednio do zastosowanej dawki, w stosunku do próby kontrolnej bez przeciwutleniacza). Natomiast w oleju słonecznikowym tłoczonym na zimno przeciwutleniacz nie wydłużył czasu indukcji w teście

Rancimat, z wyjątkiem najwyższej użytej dawki (tab. 2). Zaobserwowane działanie prooksydacyjne preparatu prawdopodobnie spowodowane było tym, że badany olej słonecznikowy miał zbyt wysoki początkowy stopień utlenienia. Prawdopodobnie lepsze efekty można by uzyskać, dodając przeciwutleniacz do świeżego oleju, tuż po procesie wydobycia (tłoczenia) [17].

Tabela 2

Czas indukcji w teście Rancimat olejów tłoczonych na zimno.

Induction time of cold pressed oils obtained using a Rancimat test.

Oleje/dawka przeciwutleniacza Oils/antioxidant dose [mg/kg]	Czas indukcji Test Rancimat [h] Induction time acc. to Rancimat test	Współczynnik ochronny Protection factor [%]
Rzepakowy / Rapeseed oil		
-	3,76a ± 0,26	-
500	3,80ab ± 0,30	1,1
1000	4,10b ± 0,21	9,0
1500	4,38c ± 0,20	16,5
Słonecznikowy / Sunflower oil		
-	1,71a ± 0,20	-
500	1,59a ± 0,15	-7,0
1000	1,69ab ± 0,31	-1,2
1500	1,79b ± 0,19	4,7

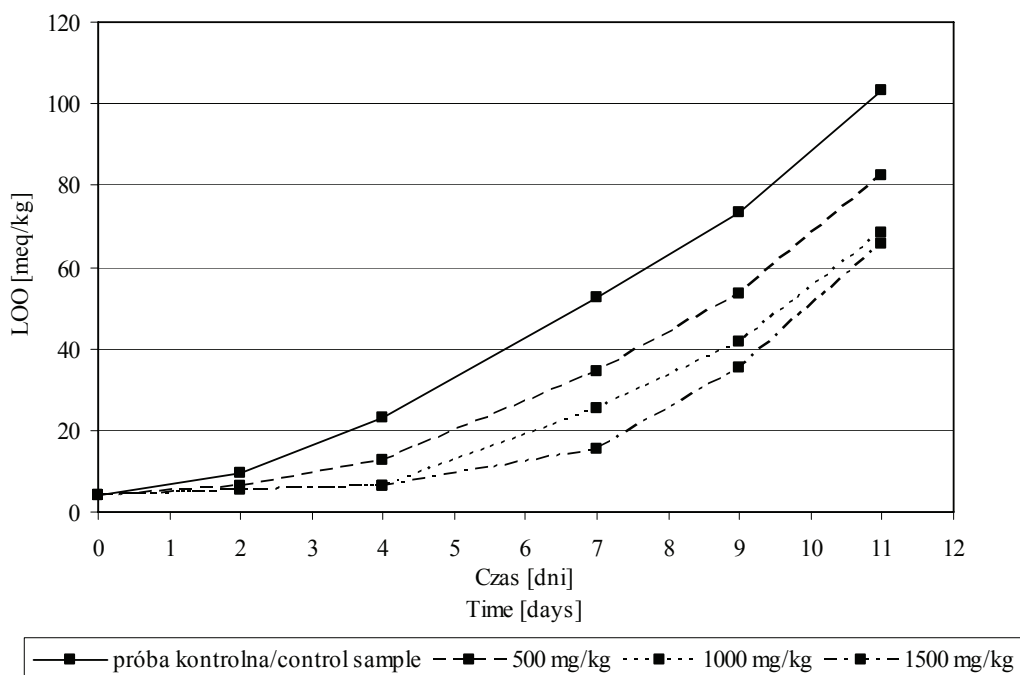
Wartości w wierszach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$.

The values denoted by the same letter and placed in the lines do not differ statistically significantly at $\alpha = 0,05$.

Test Rancimat okazał się niezbyt odpowiednim testem do badania stabilności oksydacyjnej olejów tłoczonych na zimno z dodatkiem naturalnego przeciwutleniacza. Z powodu wysokiej zawartości naturalnych, lotnych związków (produktów utlenienia, produktów rozpadu barwników, czy związków siarkowych z rzepaku) w analizowanych olejach zakłócony był przebieg krzywych utleniania w wysokiej temperaturze tego testu, a to utrudniało precyzyjne wyznaczenie czasu indukcji przez aparat Rancimat (tab. 2).

W oleju rzepakowym tłoczonym na zimno zaobserwowano najskuteczniejsze działanie preparatu przy największej zastosowanej dawce (tj. 1500 mg/kg), zarówno w teście Rancimat (tab. 2), jak i termostatowym (rys. 1 i 2). Dawka ta opóźniła przekroczenie dozwolonego poziomu LOO = 15 o 4,5 dnia w teście termostatowym (rys. 1). Ogólny stopień utlenienia (wskaźnik Totox) w ostatnim dniu testu termostatowego był niższy o 36 % w stosunku do próby kontrolnej (rys. 3). Gwałtowny przyrost produktów utlenia-

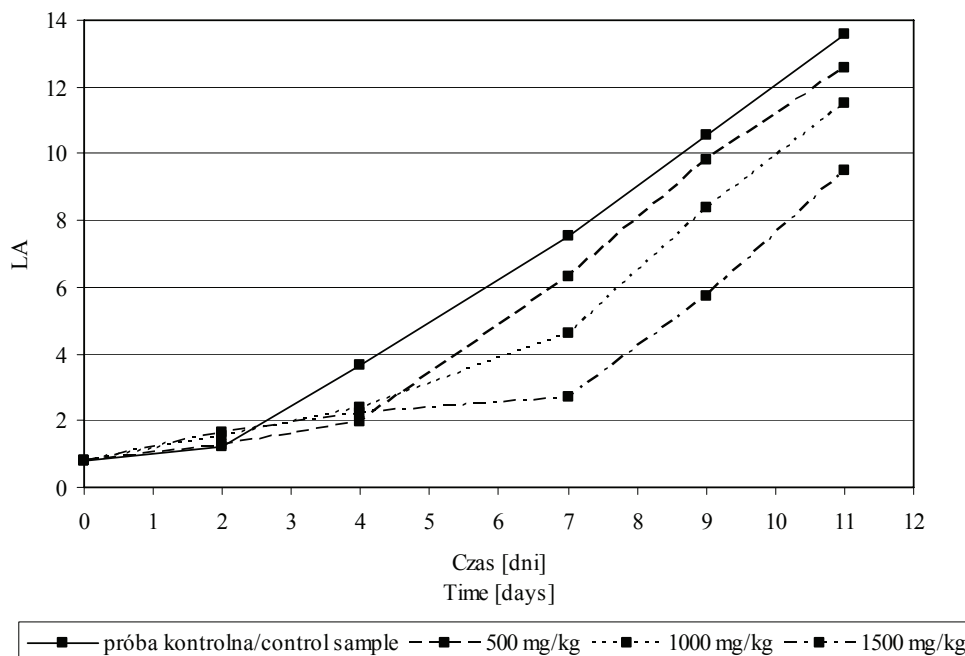
nia nastąpił w próbie kontrolnej w drugim dniu testu, a w próbach z preparatem oregano około piątego dnia testu. Krzywe utleniania miały w teście termostatowym wyraźnie zaznaczony okres indukcji, który nie występował w krzywej próby kontrolnej. Dodanie 500 mg/kg preparatu spowodowało zwolnienie tempa utleniania na koniec testu o 20 %, 1000 mg/kg – 34 % a 1500 mg/kg – 37 %. Ratusz i Krygier [1997] stwierdzili, że dodatek preparatu rozmarynu i szałwii do oleju rzepakowego tłoczonego na zimno powodował zwolnienie tempa oksydacji o 20 - 40 % [15].



Rys. 1. Zmiany liczby nadtlenkowej (LOO) w oleju rzepakowym tłoczonym na zimno w teście termostatowym.

Fig. 1. Changes in the peroxide value (PV) of the cold pressed rapeseed oil acc. to the Schaal Oven test.

W przypadku oleju słonecznikowego w teście termostatowym, podobnie, jak w teście Rancimat, zaobserwowano działanie prooksydatywne zastosowanego preparatu oregano. Przyrost, szczególnie pierwotnych, produktów utlenienia (nadtlenków) w próbach z dodanym preparatem od drugiego dnia testu, był szybszy niż w próbie kontrolnej, w przypadku wszystkich zastosowanych dawek (rys. 4). Jednocześnie stwierdzono spowolnienie wzrostu wtórnych produktów utlenienia (liczba anizydynowa) do 7 dnia testu, potem nastąpił również ich dynamiczny przyrost, przekraczający wzrost wartości LA w próbie kontrolnej (rys. 5). W sumie, w ostatnim dniu testu termostatowego uzyskano wyższy ogólny stopień utlenienia w próbach z dodatkiem preparatu oregano niż czystego oleju słonecznikowego (rys. 6).

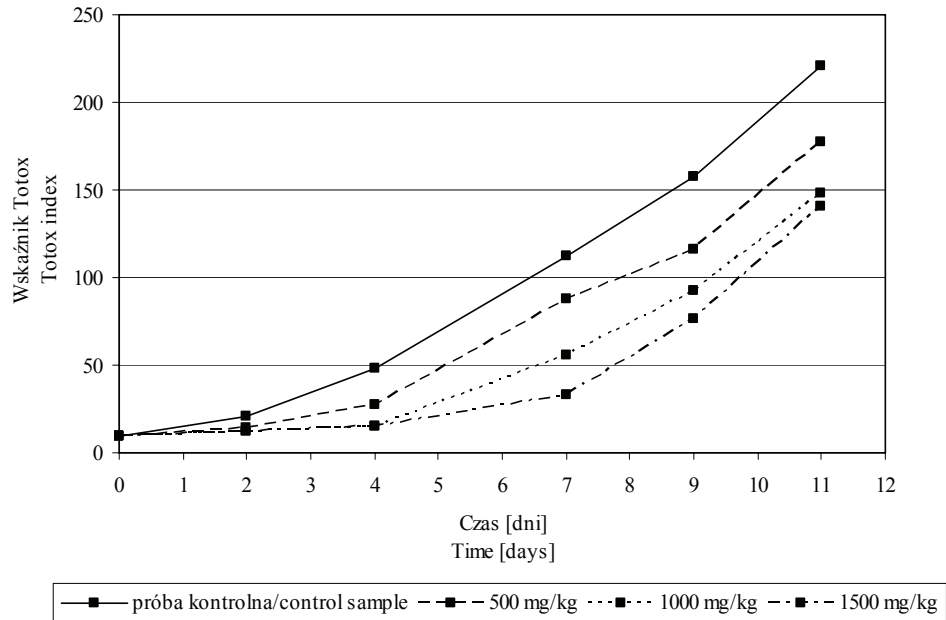


Rys. 2. Zmiany liczby anizydynowej (LA) w oleju rzepakowym tłoczonym na zimno w teście termostatowym.

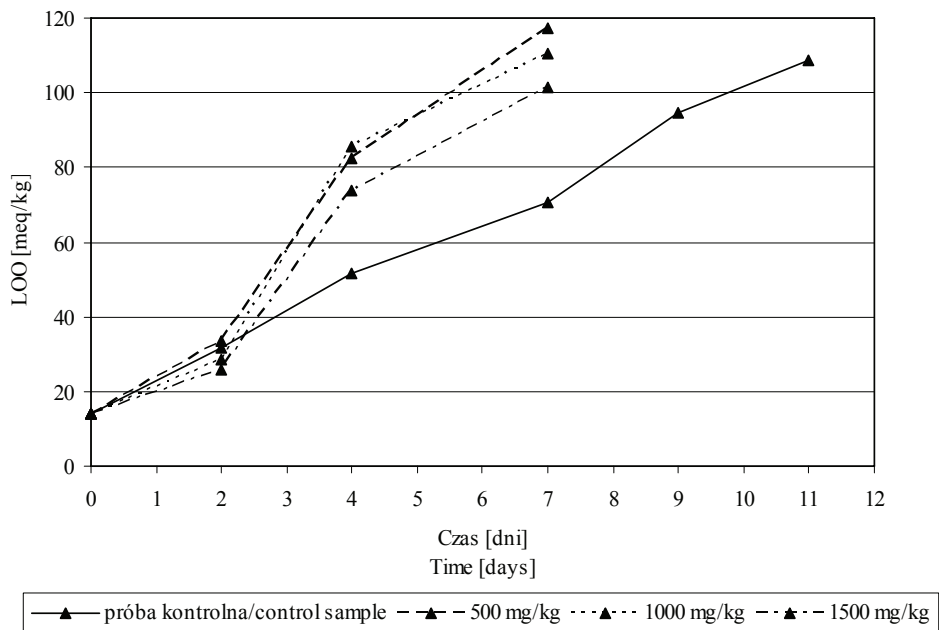
Fig. 2. Changes in the anisidine value (AV) of the cold pressed rapessed oil acc. to the Schaal Oven test.

Skuteczne działanie przeciwutleniające ekstraktów z ziół oregano, stwierdzano w badaniach, zarówno w układach modelowych, jak i w konkretnych produktach spożywczych [16, 19]. Abdalla i Roozen [1] obserwowali znaczne spowolnienie reakcji utleniania oleju słonecznikowego, a w mniejszym stopniu jego emulsji, po dodaniu ekstraktu oregano w ilości 600 i 1200 mg/kg. Oceniano przyrost sprzężonych dienów i związków lotnych podczas przechowywania oleju i emulsji bez dostępu światła w temp. 60 °C [1]. Natomiast brak wpływu na stabilność oksydacyjną naturalnego oleju słonecznikowego, różnych ekstraktów oregano, stwierdziły w swoich badaniach Marinowa i Yanishlieva [9], stosując dawki 0,1 i 0,5 % [9].

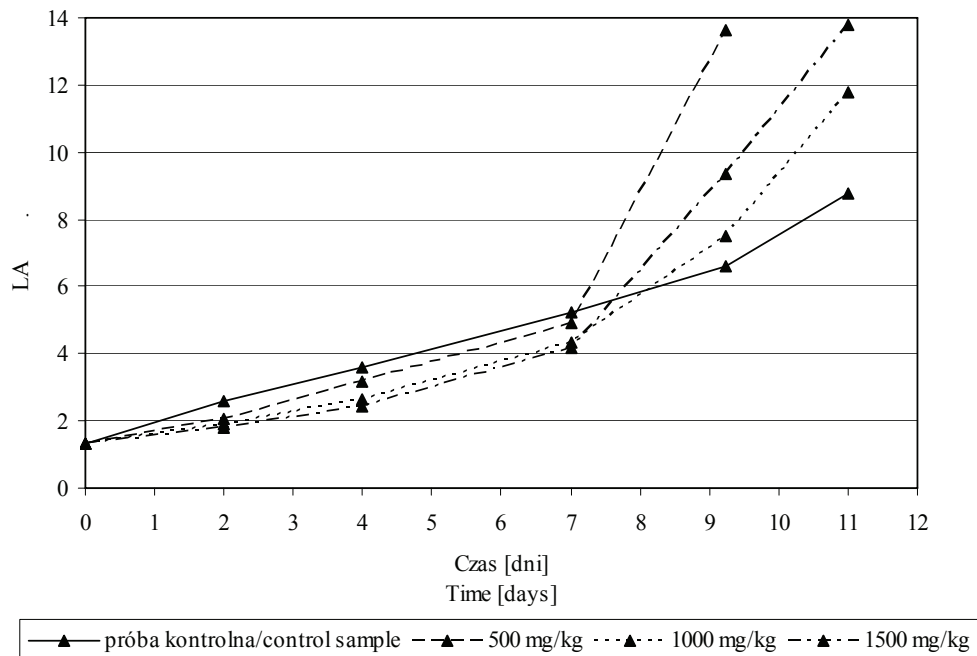
Zaobserwowana niska aktywność przeciwutleniająca zastosowanego w pracy preparatu wynikała prawdopodobnie z faktu, że były to oleje naturalne, nierafinowane, zawierające związki towarzyszące (nieobecne lub występujące w mniejszej ilości w olejach rafinowanych) tj.: pierwotne i wtórne produkty utlenienia, wolne kwasy tłuszczowe, barwniki, metale, niepełne triacyloglicerole, ale również tokoferole i sterole. Związki te wpływają na stabilność oksydacyjną olejów i mogą zakłócać przeciwutleniające działanie dodanego preparatu [9].



Rys. 3. Zmiany wskaźnika Totox w oleju rzepakowym tłoczonym na zimno w teście termostatowym.
Fig. 3. Changes in the Totox index of the cold pressed rapeseed oil acc. to the Schaal Oven test.

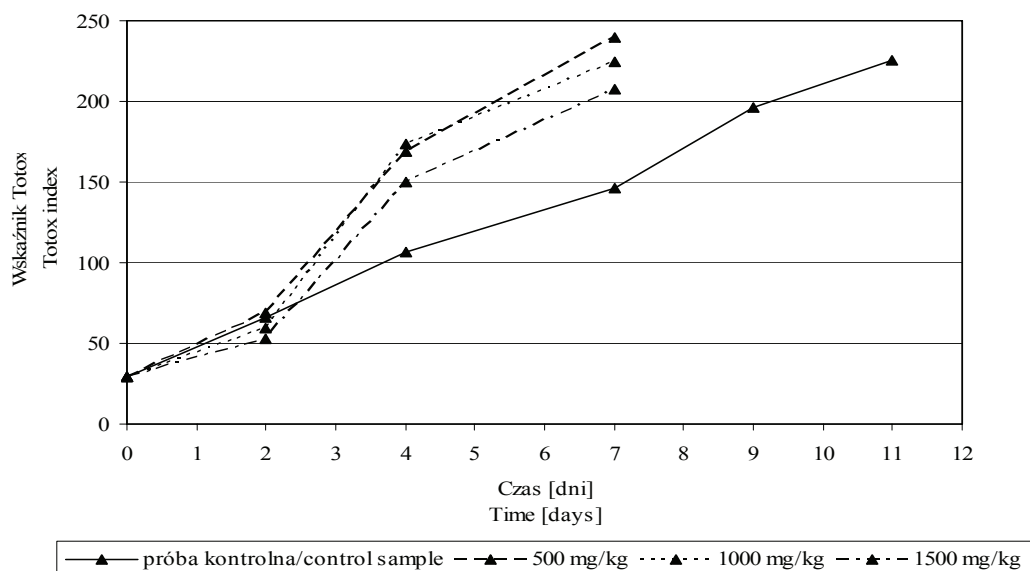


Rys. 4. Zmiany liczby nadtlenkowej (LOO) w oleju słonecznikowym tłoczonym na zimno w teście termostatowym.
Fig. 4. Changes in the peroxide value (PV) of the cold pressed sunflower oil acc. to the Schaal Oven test.



Rys. 5. Zmiany liczby anizydynowej (LA) w oleju słonecznikowym tłoczonym na zimno w teście termostatowym.

Fig. 5. Changes in the anisidine value (AV) of the cold pressed sunflower oil acc. to the Schaal Oven test.



Rys. 6. Zmiany wskaźnika Totox w oleju słonecznikowym tłoczonym na zimno w teście termostatowym.

Fig. 6. Changes in the Totox index of the cold pressed sunflower oil acc. to the Schaal Oven test.

Wnioski

1. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktu z oregano była niska i zależała od gatunku oleju, stopnia utlenienia oleju, zastosowanej dawki oraz użytego do porównania testu stabilności oksydacyjnej. Im wyższa dawka, tym dłuższy był czas indukcji w przypadku oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. W oleju słonecznikowym tłoczonym na zimno zaobserwowano działanie prooksydacyjne zastosowanego ekstraktu, zarówno w teście Rancimat, jak i termostatowym.
2. Napotkano na problemy z powtarzalnością wyników w teście Rancimat w przypadku olejów tłoczonych na zimno z dodatkiem przeciwutleniacza. Przebieg ich krzywych utleniania był nietypowy, bez wyraźnego okresu indukcji, a to utrudniało precyzyjne wyznaczenie czasu indukcji przez aparat Rancimat. Prawdopodobnie typowy obraz autooksydacji, szczególnie w wysokiej temperaturze tego testu, był zakłócany przez lotne związki zawarte w olejach tłoczonych na zimno i dodatkowo w naturalnym ekstrakcie oregano, a które to związki nie występują w olejach rafinowanych.

Praca była prezentowana podczas VI Konferencji Naukowej nt. „Nowoczesne metody analityczne w zapewnieniu jakości i bezpieczeństwa żywności”, Warszawa, 6 - 7 grudnia 2007 r.

Literatura

- [1] Abdala A. E., Roozen J. P.: Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chemistry*, 1999, **64**, 323-329.
- [2] Codex Alimentarius: Codex Standard for Named Vegetable Oils. Codex – Stan 210, 2005.
- [3] De Panfilis F., Toschi G.T., Lercker G.: Quality control for cold - pressed oils. *INFORM*, 1998, **9**, 212-221.
- [4] Drozdowski B.: Lipidy. W: Chemiczne i funkcjonalne składniki żywności, pod red. Z. Sikorskiego, WNT, Warszawa 1994, s. 167-233.
- [5] Gogolewski M., Nogala-Kałużka M., Kupczyk B.: Wpływ warunków przechowywania olejów na trwałość i przydatność konsumpcyjną. *Roczniki AR w Poznaniu*, 1993, CCXLVIII, 1- 15.
- [6] Koski A., Psomiadou E., Tsimidou M., Hopia A., Kefalas P., Wähälä K., Heinonen M.: Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil. *Eur. Food Res. Technol.*, 2002, **214**, 294-298.
- [7] Krygier K., Domian K., Drąka D.: Porównanie jakości i trwałości olejów rzepakowych: tłoczonego na zimno i na gorąco oraz rafinowanego. *Rośliny Oleiste*, 1995, **16**, 301-306.
- [8] Krygier K., Wroniak M., Dobczyński K., Kiełt I., Grzeškiewicz S., Obiedziński M.: Charakterystyka wybranych rynkowych olejów roślinnych tłoczonych na zimno. *Rośliny Oleiste*, 1998, **19**, 573-582.
- [9] Marinova E. M., Yanishlieva N.V. :Antioxidative activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil, *Food Chemistry*, 1996, **58**, 245-248.
- [10] PN-EN ISO 6885:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.
- [11] PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby nadtlenczkowej.
- [12] PN-ISO 3961:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby jodowej.

- [13] PN-ISO 660:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie liczby kwasowej i kwasowości.
- [14] PN-ISO 6886:1997. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczenie stabilności oksydatywnej. Test przyspieszonego utleniania.
- [15] Ratusz K., Krygier K.: Wpływ temperatury i dodatku przeciwutleniacza naturalnego na zmiany oksydacyjne oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. *Rośliny Oleiste*, 1997, **18**, 467-475.
- [16] Suhaj M.: Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Comp. and Analysis*, 2006, **19**, 531-537.
- [17] Szukalska E.: Wybrane zagadnienia utleniania tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, **38**, 42-61.
- [18] Tańska M., Rotkiewicz D.: Stopień przemiany lipidów wybranych olejów roślinnych i konsumpcyjnych nasion oleistych. *Tłuszcze Jadalne*, 2003, **38**, 147-155.
- [19] Yanishlieva N.V., Marinova E., Pokorny J.: Natural antioxidants from herbs and spices. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2006, **108**, 776-793.
- [20] Ziemiański S., Budzyńska-Topolowska J.: *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. PWN, Warszawa 1991, s. 171-173.

**ASSESSING THE OXIDATIVE STABILITY OF COLD PRESSED RAPESEED AND
SUNFLOWER OILS WITH OREGANO EXTRACT ADDED USING THE RANCIMAT
& SCHAAL OVEN TESTS**

S u m m a r y

The objective of this paper was to assess the oxidative stability of cold pressed rapeseed and sunflower oils with the addition of natural antioxidant, oregano extract, using the Rancimat and Schaal Oven tests. Fresh, cold pressed rapeseed and sunflower oils were the investigation material. The oils were stabilized by adding the oregano extract, a natural antioxidant in the form of an 'Origanox' commercial preparation, in the doses of 500, 1000, and 1500 mg/kg. The general quality of oils was estimated (acid value, peroxide value, anisidine value, Totox index, and iodine value). The oxidative stability of oils containing the antioxidant applied was determined using a Rancimat test at a temperature of 120°C, and, at the same time, a Schaal Oven test was performed at a temperature of 63 °C.

The antioxidant activity of the oregano extract depended on the quantity of its dose applied. As for the cold pressed rapeseed oil, the bigger this dose was, the longer was its induction time. The 1500 mg/kg dose of oregano extract proved to have the highest efficiency in the cold pressed rapeseed oil. As for the cold pressed sunflower oil, a pro-oxidative effect of the extract added was found using both the Rancimat and the Schaal Oven tests.

Key words: : cold pressed oils, oxidative stability, Rancimat test, Schaal oven test, rapeseed oil, sunflower oil ☒