

Katarzyna Ratusz*, Bolesław Kowalski, Witold Bekas, Magdalena Wirkowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Technologii Żywności

* Zakład Technologii Tłuszczów i Koncentratów Spożywczych, Zakład Chemii Żywności

Monitorowanie autooksydacji oleju rzepakowego i słonecznikowego

Monitoring of rapeseed and sunflower oils autoxidation

Słowa kluczowe: autooksydacja, oleje roślinne, PDSC, Rancimat, stabilność oksydacyjna

Część metod kontroli autooksydacji charakteryzuje się tym, że jako wyniki pomiarów wyznaczone są tzw. okresy indukcji utleniania danego tłuszczu. Do takich metod należą: test termostatowy, test półkowy i PDSC. Celem tej pracy było przeprowadzenie badań autooksydacji modelowych próbek olejów roślinnych oraz sprawdzenie współzależności wyników uzyskanych w testach: termostatowym, półkowym i PDSC.

W toku wykonywania testów termostatowego i półkowego z każdego naczynia pobierano próbki olejów, dla których równolegle oznaczano liczbę nadlenkową (LN) i czas osiągnięcia maksimum piku τ_{\max} egzotermu utleniania w aparacie PDSC. Przedstawione wyniki pokazały, że oleje o bardzo wysokich wartościach LN są źle różnicowane poprzez pomiary PDSC. Różnicowanie takie może być akceptowane do wartości $LN < 30 \text{ mmol O}_2^{2-}/\text{kg}$ oleju.

Key words: autoxidation, vegetable oils, PDSC, Rancimat, oxidative stability

Autoxidation of fats is a well-known phenomenon and its monitoring is a commonly accepted practice in food control systems. The experimental designs are based on organoleptic, analytical or instrumental methods. Some of the methods are based on the determinations of induction periods. The oven, shelf and pressure differential calorimetry (PDSC) tests belong to such group.

It was the purpose of this paper to compare the results of the above mentioned tests for the samples of model vegetable oils. As model fats the rapeseed and sunflower oils were used and they were obtained directly from the factory.

The oils were stored in open beakers at room temperature (shelf test) and at 63°C (oven test). Periodically, aliquots were taken and the peroxide values (LN) were determined by iodometric titration. Thermoanalytical (PDSC at 120°C and at 1400 kPa of oxygen) measurements of time to reach the maximum on PDSC exotherm (τ_{\max}) were performed at the same time. The 60 couples of (LN and τ_{\max}) from the oven and PDSC tests and 48 couples of (LN and τ_{\max}) from shelf and PDSC tests were obtained. The measured peroxide values from shelf and oven tests increase with time and their functional dependence versus time are characteristic for oil oxidation showing induction and acceleration periods. Measured by PDSC τ_{\max} values decrease with storage time or in another words with increase of LN values of oils. The presented results show that oils with high LN values (beyond acceptable limits) are poorly differentiated by PDSC measurements. The PDSC method can be used only for oils with $LN < 30 \text{ mmole O}_2^{2-}/\text{kg}$ of oil.

Based on the results from oven and shelf tests the dependences $LN = f(\tau)$ were obtained and they suggest that the mechanisms of oxidative degradation of oils are similar in these tests. It could be assumed that thermal oxidative degradation of oils at the initial steps of PDSC tests has similar

chemistry as in shelf and oven tests. For this reason the experimental dependences of PDSC and traditional results obtained for samples with LN, 30 mmole O_2^2 /kg of oil are linear. When the oils have peroxide values high, the autoxidation is very fast and the secondary reactions can change the shape of PDSC exotherm. Such oils cannot be characterized by PDSC tests.

Wstęp

Powszechność reakcji autooksydacji tłuszczów powoduje, że monitorowanie ich stopnia utlenienia lub podatności na utlenianie jest ogólnie przyjętą praktyką w systemach kontroli jakości produktów tłuszczowych. Stosowane do tego celu rozwiązania dzielą się na organoleptyczne, oznaczenia analityczne i pomiary fizykochemiczne.

Organoleptyczne oceny smaku, zapachu, barwy itp. mają tę podstawową zaletę, że są bezpośrednio związane z zamierzonym przeznaczeniem tłuszczu jako żywności. Ich wadą natomiast jest to, że są one niespecyficzne. Negatywne wrażenia mogą być powodowane nie tylko autooksydacją, ale także hydrolizą. Mogą one być tłumione przez dodawanie różnych substancji maskujących.

W praktyce laboratoryjnej i przemysłowej ugruntowaną pozycję uzyskały oznaczenia analityczne i pomiary fizykochemiczne, te ostatnie rozpowszechniają się wraz z rozwojem różnych technik instrumentalnych. Stosowane do oceny stopnia utlenienia tłuszczu proste oznaczenia analityczne polegają na rejestracji zmian zawartości (lub parametrów pochodnych) pierwotnych lub częściej wtórnych produktów autooksydacji. Ze stosowanych rozwiązań należy wymienić oznaczenia liczby nadtlenkowej (LN), liczby anizydynowej (LA), tzw. wskaźnika totox, zawartości związków karbonylowych oznaczanych w reakcji np. z 2,4-dinitrofenylohydrazyną. Opracowano również pewne specyficzne procedury, np. test Kreisa czyli reakcję floroglucyny (1,3,5-trihydroksybenzenu) z aldehydami powstającymi jako wtórne produkty autooksydacji, czy test TBA (reakcja kwasu tiobarbiturowego z dialdehydem malonowym) (Lundberg 1961). Z innych testów kontrolowanych prostymi oznaczeniami (pomiary LN) należy wymienić test AOM, test termostatowy oraz tzw. testy półkowe.

W fizykochemicznych metodach badania stopnia utleniania tłuszczów wykorzystywane są metody volumetryczne, elektrochemiczne, spektroskopowe, chromatograficzne, termoanalityczne i inne.

Wykonywane w przeszłości badania monitorowania autooksydacji tłuszczów charakteryzują się bogactwem układów doświadczalnych oraz różnorodnością metod i zmiennością parametrów badań (Gray 1978). Współczesna literatura przedmiotu przynosi informacje o nowych sposobach realizacji badań postępu autooksydacji tłuszczów (Kowalski 1989, 1992, 1993; Kowalski i in. 2000, 2004). Z drugiej strony należy zwrócić uwagę na fakt, że jak do tej pory niewielu badaczy próbowało przeprowadzić rzetelną analizę porównawczą różnych metod monito-

rowania procesu autooksydacji tłuszczów. Do takich nielicznych wyjątków należą prace Hassela (1976) wiążące oznaczenia AOM i PDSC oraz Laubliego i Bruttela (1986) dotyczące oznaczeń AOM i Rancimat. Niedawno w naszym laboratorium wykonano badania porównawcze wyznaczania kinetyki utleniania olejów roślinnych metodami Rancimat i PDSC (Kowalski i in. 2000, 2004). Nadal istnieje potrzeba wykonania obszerniejszych badań porównawczych w zakresie różnych metod monitorowania autooksydacji tłuszczów jadalnych.

Część sygnalizowanych wyżej metod monitorowania autooksydacji charakteryzuje się tym, że jako wyniki pomiarów wyznaczane są tzw. okresy indukcji utleniania danego tłuszczu. Do takich metod należą między innymi test termostatowy, test półkowy i oznaczenia prowadzone metodą wysokociśnieniowej kalorymetrii skaningowej (PDSC).

Celem tej pracy było przeprowadzenie badań autooksydacji modelowych próbek olejów roślinnych oraz sprawdzenie współzależności wyników uzyskanych w testach: termostatowym, półkowym i PDSC.

Materiały i metody

Oleje roślinne

Jako tłuszcze modelowe stosowano pobrane bezpośrednio z zakładu produkcyjnego rafinowane oleje rzepakowy i słonecznikowy. Parametry fizykochemiczne badanych olejów oraz wymagania stawiane tego typu produktom wg PN-A-86908:2000 i PN-ISO 3960:1996 zestawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Charakterystyka badanych olejów — *Characteristics of tested oils*

Parametr* <i>Parameter</i>	Olej rzepakowy <i>Rapeseed oil</i>	Olej słonecznikowy <i>Sunflower oil</i>	Polska Norma
Liczba kwasowa — <i>Acid value</i> [mg KOH/1 g oleju]	0,44 ± 0,07	0,51 ± 0,07	nie więcej niż 0,4 – 0,6
Liczba jodowa — <i>Iodine value</i> [g jodu/100 g oleju]	136,5 ± 0,7	143,4 ± 0,4	rzepakowy 100 – 140 słonecznikowy 110 – 143
Liczba nadtlenkowa <i>Peroxide value</i> [mmoleO ₂ ⁻² /kg oleju]	0,40 ± 0,03	0,35 ± 0,05	nie więcej niż** 8 – 10
Barwa w skali jodowej <i>Colour, iodine scale</i> [mg jodu/100 cm ³]	5	4	nie więcej niż 12

* Wartości średnie i odchylenia standardowe obliczono z sześciu kolejnych pomiarów

** Obliczane wg PN-ISO 3960: 1996

W przeprowadzonych oznaczeniach liczby kwasowej zastosowano procedurę opisaną w PN-ISO 660:1998, a liczby jodowej procedurę wg PN-ISO 3961:1998. Liczbę nadtlenkową oznaczano według podanej dalej metodyki. Barwę olejów oznaczono wg PN-84/C-04534.

Testy: termostatowy i półkowy

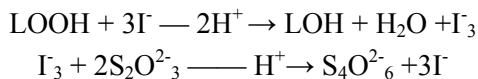
Olej rzepakowy (RSO) i słonecznikowy (SFO) o właściwościach zestawionych w tabeli 1 podzielono na 6 części po około 500 cm³, uzyskując próbki RSO-1, RSO-2, RSO-3, RSO-4, RSO-5, RSO-6 oraz SFO-1, SFO-2, SFO-3, SFO-4, SFO-5, SFO-6. Następnie, każdą traktowaną jako niezależną, próbkę podzielono na równe objętościowo części przelewając połowę ilości oleju do butelki, a drugą połowę do zlewki. Zlewki (6 z olejem rzepakowym i 6 z olejem słonecznikowym) ustawiono w suszarce laboratoryjnej. Próbki przetrzymywano w suszarce w temperaturze 63°C przy naturalnym dopływie powietrza przez 166 godzin. W czasie ekspozycji pobierano z każdej zlewki po upływie 24, 48, 54, 60, 80, 100, 124, 148 i 166 godzin próbkę, w której oznaczano zawartość nadtlenczków. Próbki w butelkach (6 z olejem rzepakowym i 6 z olejem słonecznikowym) ustawiono w laboratorium w normalnie oświetlonym miejscu i przetrzymywano przez 114 dni. Co 14 dni oznaczano zawartość nadtlenczków w próbkach olejów pobieranych z butelek. W czasie trwania testu półkowego wahania temperatury w laboratorium nie przekraczały ±2°C od temperatury 20°C.

Oznaczanie zawartości nadtlenczków

Zawartość nadtlenczków w próbkach badanych olejów obliczano na podstawie ilościowego oznaczania jodu wydzielonego z jodku potasowego w wyniku działania nadtlenczków znajdujących się w próbce oleju rozpuszczonej w mieszaninie kwasu octowego i chloroformu. Zastosowano procedurę doświadczalną opisaną w PN-ISO 3960:1996, jednakże ostateczny wynik obliczano z równania:

$$LN [\text{mmole O}_2^{2-}/\text{kg oleju}] = \{(V_1 - V_2) c\} / 2 m$$

w którym V_1 i V_2 oznaczają objętość [cm³] roztworów tiosiarczanu sodowego zużytych odpowiednio w odmiareczkowaniu jodu w próbce właściwej i w tzw. próbce „ślepej”, c oznacza stężenie stosowanego roztworu tiosiarczanu [mmol/dcm³], a m jest masą naważki oleju [g]. Inna niż podana w PN-ISO 3960:1996 postać równania wynika ze ścisłego stosowania stechiometrii reakcji zachodzących podczas oznaczania nadtlenczków:



Obecność jonów I_3^- wynika z przesuniętej na prawo równowagi reakcji $\text{I}_2 + \text{I}^- \leftrightarrow \text{I}_3^-$ zachodzącej w roztworze zawierającym I_2 i KI .

Oznaczenia termoanalityczne (PDSC)

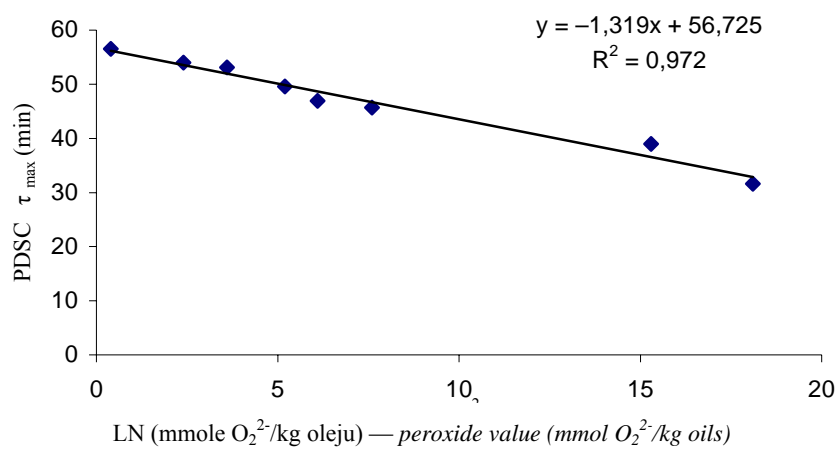
Badania prowadzono metodą wysokociśnieniowej różnicowej kalorymetrii skaningowej. Pomiar polegał na zarejestrowaniu strumienia ciepła przepływającego od próbki (reakcje utleniania tłuszczu są egzotermiczne), mierzonego względem układu odniesienia, kiedy ten układ i próbka były poddawane identycznemu programowanemu wzrostowi temperatury bądź były utrzymywane w warunkach izotermicznych. Zastosowano system termoanalityczny firmy DuPont (910 DSC + 1090 B TA + 1091 DM). W eksperymentach prowadzonych pod zwiększonym ciśnieniem stosowano kalorymetryczną komorę ciśnieniową (PDSC model 900830-902). Odważane (2–3 mg) do aluminiowych naczynek termoanalitycznych próbki olejów utleniano izotermicznie tlenem (1400 kPa O₂, 120°C) rejestrując wydzielaną na sposób ciepła energię.

Z otrzymywanych wykresów zależności przepływu ciepła (HF) w funkcji czasu wyznaczano czas reakcji (τ_{\max}), dla którego HF osiąga maksimum. Szczegóły procedury opisano w innych pracach (Kowalski 1989, 1992, 1993, Kowalski i in. 2000, 2004).

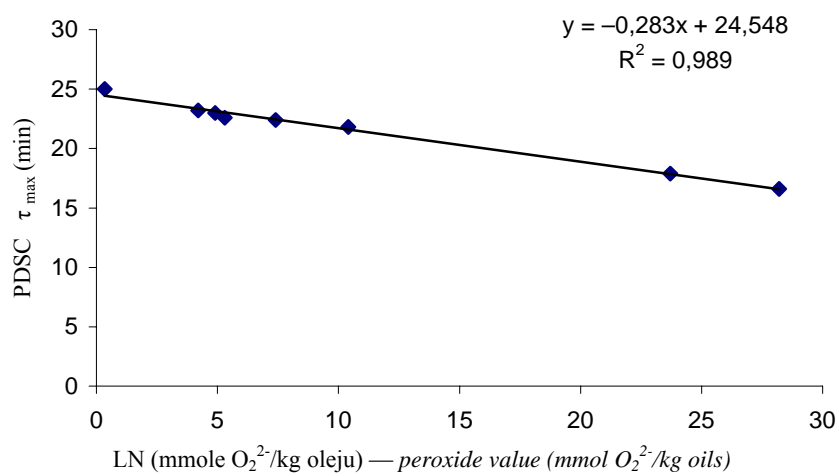
Wyniki i dyskusja

W toku wykonywania testów termostatowego i półkowego z każdego naczynia pobierano próbki olejów, dla których równolegle oznaczano liczbę nadtlenu (LN) i czas osiągnięcia maksimum piku (τ_{\max}) egzotermii utleniania w aparacie PDSC. Dla oleju rzepakowego i dla oleju słonecznikowego uzyskano po 60 par wartości (LN i τ_{\max}) z testu termostatowego i po 48 par takich danych z testu półkowego. Oznaczone wielkości liczb nadtlenu i czasów osiągnięcia maksimum egzotermii PDSC wykazują typowy dla takich badań wzrost wartości LN i spadek wartości τ_{\max} w funkcji czasu. Otrzymane wyniki poddano analizie porównawczej oraz opracowaniu statystycznemu z użyciem arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel wersja 5.0. Zilustrowane na rysunkach zależności τ_{\max} od LN otrzymane z badań PDSC i oznaczeń testu półkowego dla oleju rzepakowego (rys. 1) i oleju słonecznikowego (rys. 2) wskazują na podobny charakter zmian.

Uzyskane wyniki pokazują, że oleje o bardzo wysokich, wykraczających poza dopuszczalne granice, wartościach LN są źle różnicowane przez pomiary PDSC. Różnicowanie takie może być akceptowane do wartości LN < 30 mmoli O₂⁻²/kg oleju. Oleje uznawane za zdatne do spożycia charakteryzują się wartością do 5 mmoli O₂⁻²/kg oleju (w znaczeniu wymogów PN-A-86908:2000 wartością do 10 milirównoważników tzw. tlenu aktywnego/kg oleju).



Rys. 1. Zależności między wynikami uzyskanymi w badaniach PDSC i teście półkowym dla oleju rzepakowego — *Correlation between shelf test and PDSC for rapeseed oil*



Rys. 2. Zależności między wynikami uzyskanymi w badaniach PDSC i teście półkowym dla oleju słonecznikowego — *Correlation between shelf test and PDSC for sunflower oil*

Wyznaczona zależność $\tau_{\max} = f(LN)$ dla oznaczeń testu termostatowego w zakresie $LN < 30$ mmoli O_2 /kg oleju ma charakter liniowy i może być opisana równaniem:

- dla oleju rzepakowego: $\tau_{\max} = -1,200 LN + 56,879$
o współczynniku determinacji $R^2 = 0,999$;
- dla oleju słonecznikowego: $\tau_{\max} = -0,310 LN + 25,170$
o współczynniku determinacji $R^2 = 0,999$.

Podobnie, wyznaczone z danych testów półkowych i PDSC, zależności $\tau_{\max} = f(LN)$ w zakresie $LN < 30$ mmoli O_2 /kg oleju dla badanych olejów również mają charakter liniowy i mogą być opisane równaniami:

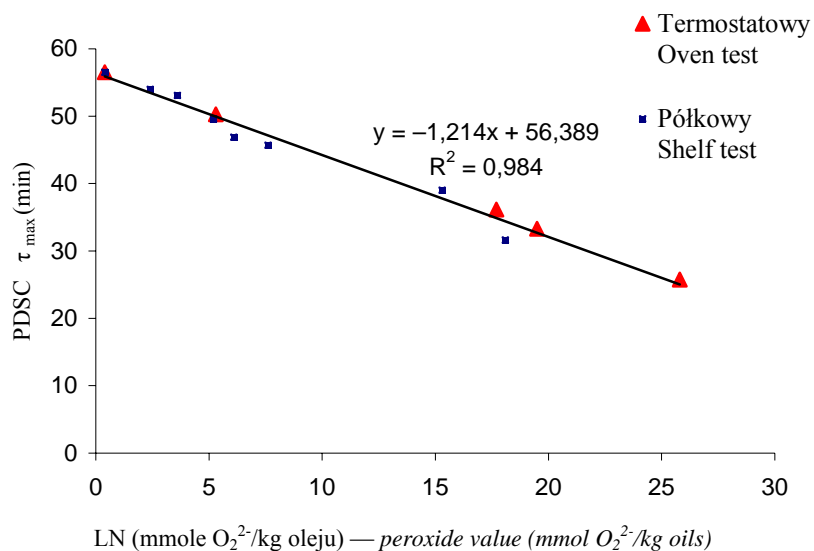
- dla oleju rzepakowego: $\tau_{\max} = -1,319 LN + 56,725$, $R^2 = 0,972$ (rys. 1);
- dla oleju słonecznikowego: $\tau_{\max} = -0,283LN + 24,548$, $R^2 = 0,989$ (rys. 2).

Analizując zbiorcze wyniki w układzie: pomiary PDSC – testy klasyczne, również uzyskano dla każdego oleju liniowy charakter zależności $\tau_{\max} = f(LN)$ w zakresie $LN < 30$ mmoli O_2 /kg oleju (wykres 3 i 4). Zależności te opisano równaniami i przedstawiono na rysunkach 3 i 4:

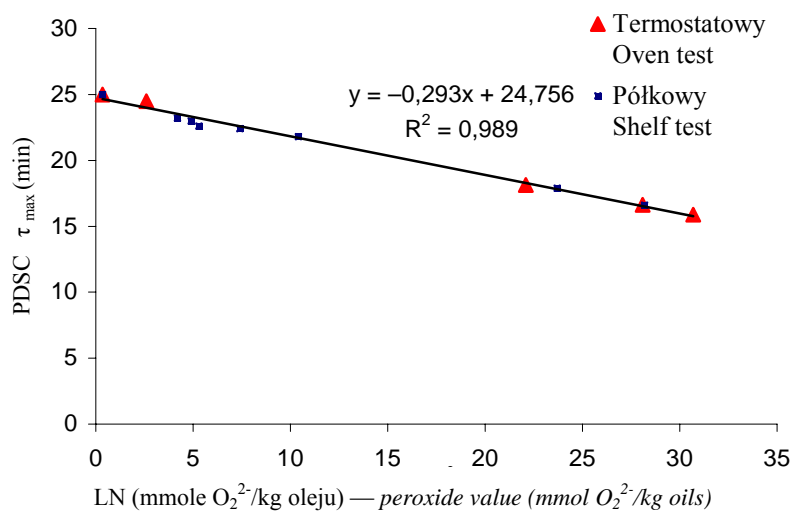
- dla oleju rzepakowego: $\tau_{\max} = -1,214 LN + 56,389$, $R^2 = 0,984$ (rys. 3);
- dla oleju słonecznikowego: $\tau_{\max} = -0,293LN + 24,756$, $R^2 = 0,989$ (rys. 4).

Dokładność odwzorowania danych przez te równania jest wystarczająca, aby mogły być stosowane do obliczania τ_{\max} na podstawie oznaczeń LN z dowolnie wybranego testu.

Otrzymany na podstawie wyników testów termostatowego i półkowego charakter zmian zależności $LN = f(\tau)$ pozwala sądzić, że utleniająca degradacja olejów roślinnych w wymienionych testach przebiega według podobnego mechanizmu. Mechanizm ten prawdopodobnie niewiele różni się od mechanizmu początkowej fazy termooksydacji oleju przebiegającej w 120°C w aparacie PDSC. Przebieg zmian wartości liczby nadtlenkowej zachodzących w czasie autooksydacji oleju roślinnego w testach półkowym i termostatowym wskazuje na autokatalityczny charakter procesu o kinetyce charakterystycznej dla reakcji pierwszego rzędu. Wcześniejsze badania PDSC (Kowalski 1992) wykazały, że stopień konwersji w procesie termoutleniania oleju roślinnego odpowiadający maksimum piku egzotermu PDSC wynosi około 18, a autokatalityczna reakcja utleniania oleju jest pierwszego rzędu względem substratu lipidowego. Pozwala to na uzasadnienie liniowego charakteru zależności $t = f(LN)$ wyprowadzonej z uzyskanych wyników badań w zakresie LN do 30 mmoli O_2 /kg oleju. Oleje o bardzo wysokich wartościach LN osiąganych w czasie naturalnego przechowywania w atmosferze utleniającej lub w czasie obróbki termicznej w obecności powietrza nie dają wyraźnych egzoterm utleniania w aparacie PDSC. Proces termoutleniania takich olejów szybko wchodzi w fazę reakcji wtórnych z trudnym do interpretacji wypadkowym zapisem energetyki reakcji. Oleje silnie utlenione (zjełczałe) nie mogą być charakteryzowane metodą PDSC.



Rys 3. Zależności między wynikami PDSC i testów półkowych oraz termostatowych dla oleju rzepakowego — Correlation between shelf test, oven test and PDSC for rapeseed oil



Rys. 4. Zależności między wynikami PDSC i testów półkowych oraz termostatowych dla oleju słonecznikowego — Correlation between oven test, shelf test and PDSC for sunflower oil

Wnioski

1. Badane oleje roślinne w zakresie niskich wartości liczb nadtlennokowych są źle różnicowane w początkowych fazach testów półkowego i termostatowego, natomiast są dobrze różnicowane przez pomiary PDSC.
2. Metoda PDSC nie nadaje się do charakteryzowania stabilności utleniającej olejów roślinnych o wysokich wartościach liczby nadtlennokowej.
3. W zakresie LN do około 30 mmoli O_2 /kg oleju wyniki oznaczeń τ_{max} metodą PDSC i LN według procedur testu termostatowego i półkowego wykazują korelację liniową obowiązującą w obrębie danego oleju RSO lub SFO.
4. Na podstawie przeprowadzonych badań nie można określić stosowności wyprowadzonych równań korelacyjnych dla innych próbek olejów danego gatunku. Wskazane jest kontynuowanie badań w celu zgromadzenia obszerniejszej dokumentacji doświadczalnej.

Literatura

- Gray J.L. 1978. Measurement of lipid oxidation: a review. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 55: 539-546.
- Hassel R.L. 1976. Thermal analysis: an alternative method of measuring oil stability. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 53: 179-181.
- Kowalski B. 1989. Determination of oxidative stability of edible vegetable oils by pressure differential scanning calorimetry. *Thermochim. Acta*, 156: 347-358.
- Kowalski B. 1992. Thermokinetic analysis of vegetable oils oxidation as an autocatalytic reaction. *Polish J. Food Nutr. Sci.*, 1/42: 51-60.
- Kowalski B. 1993. Evaluation of activities of antioxidants in rapeseed oil matrix by pressure differential scanning calorimetry. *Thermochim. Acta*, 219: 135-136.
- Kowalski B., Gruczyńska E., Maciaszek K. 2000. Kinetics of rapeseed oil oxidation by pressure differential scanning calorimetry measurements. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 102: 337-341.
- Kowalski B., Ratusz K., Kowalska D., Bekas W. 2004. Determination of the oxidative stability of vegetable oils by Differential Scanning Calorimetry and Rancimat measurements. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 106: 165-169.
- Laubli M.W., Bruttel P.A. 1986. Determination of the oxidative stability of fats and oils: comparison between the Active Oxygen Method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat method. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63: 792-795.
- Lundberg W.O. (ed.) 1961. *Autoxidation and Antioxidants*. Vol. I. Interscience Publishers, New York – London, s. 1-450.
- Polska Norma PN-A-86908:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Rafinowane oleje roślinne.

Polska Norma PN-ISO 3960:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej.

Polska Norma PN-84/C-04534. Analiza chemiczna. Oznaczanie barwy produktów za pomocą skali jodowej.

Polska Norma PN-ISO 660:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.

Polska Norma PN-ISO 3961:1998. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby jodowej.