

JAN PIKUL, MAŁGORZATA NOGALA-KAŁUCKA, ALEKSANDER SIGER

CHARAKTERYSTYKA TOKOCHROMANOLI W WYBRANYCH PRODUKTACH PRZEMYSŁU MLECZARSKIEGO Z DODATKIEM OLEJÓW ROŚLINNYCH

Streszczenie

W pracy scharakteryzowano zawartość tokochochromanoli (tokoferoli –T i tokotrienoli -T3) w serach dojrzewających (30 prób) oraz w produktach seropodobnych (6 prób) z dodatkiem olejów roślinnych. Analizie poddano sery, które zakupiono w supermarketach na terenie Poznania oraz uzyskano bezpośrednio od producentów. W pracy zastosowano efektywną ekstrakcję tłuszczu metodą Rose-Gottlieba. Następnie oznaczano jakościowo i ilościowo tokochochromanole za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Analiza tokochochromanoli w przebadanych serach wykazała zafałszowania tylko w 4 próbach, w których oznaczono wszystkie formy tokoferoli α -, β -, γ - i δ -T oraz α -, β -, γ - i δ -T3. Sery oryginalne charakteryzowała tylko obecność homologu α -T.

Słowa kluczowe: tokochochromanole, ser, zafałszowania, chromatografia

Wprowadzenie

Rynek serów w Polsce jest bardzo zróżnicowany i cechuje go stale rosnąca liczba producentów i konsumentów. Jeszcze do niedawna ser był traktowany w Polsce, jako alternatywa, np. dla wędlin, a nie, jako produkt spożywczy sam w sobie. Obecnie ta tendencja ulega zmianie, a sery coraz częściej goszczą na polskich stołach. Jedynym tłuszczem występującym w serach jest tłuszcz mlekowy [1, 2]. Obecnie na rynku znajdują się zarówno sery zawierające wyłącznie tłuszcz mlekowy, jak i wyroby z dodatkiem oleju roślinnego z odpowiednią deklaracją na opakowaniu. Oprócz wyżej wymienionych produktów, na półkach sklepowych pojawiają się również „sery” bez odpowiedniej informacji na opakowaniu o dodatku tłuszczu obcego, innego niż tłuszcz

Prof. dr hab. M. Nogala-Kałucka, dr inż. A. Siger, Katedra Biochemii i Analizy Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, 60-623, ul. Mazowiecka 48.

**Prof. dr hab. J. Pikul, Katedra Technologii Mleczarstwa, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, 60-624, ul. Wojska Polskiego 31.*

mlekowy. Taki produkt nie może być oznakowany, jako ser. Tego typu fałszowanie z jednej strony jest działaniem na szkodę klienta, a z drugiej jest to przejaw nieuczciwej konkurencji. Stosowanie tańszego surowca do produkcji serów wpływa na to, że cena sera „zafałszowanego” jest niższa niż cena innych serów. Produkt zafałszowany to taki, którego skład lub inne właściwości zostały zmienione, a nabywca nie został o tym poinformowany lub wprowadzone zostały zmiany mające na celu ukrycie jego rzeczywistego składu [3]. Czterokrotnie niższa cena olejów roślinnych głównie palmowego (jego frakcji „oleinowej” lub „stearynowej”), a także rzepakowego, słonecznikowego lub sojowego jest podstawowym powodem dodawania tłuszczów roślinnych do produktów mlecznych [4].

Ważnym problemem badawczym jest opracowanie takiej metody analitycznej, która pozwoliłaby na precyzyjne oznaczenie substancji obcych, nie występujących w tłuszczu mlekowym. Jedną z nich może być analiza tokochochromanoli wykonywana przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Na podstawie uzyskanych rozdziełań można określić obecność tokochochromanoli nie tylko we frakcji tłuszczowej serów, ale także w pozostałych produktach mlecznych, do których coraz częściej stosowany jest dodatek innych tłuszczów niż tłuszcz mlekowy [5 - 7]. Tłuszcz mlekowy jest również źródłem witamin lipofilnych tj. A, D i E, a ich zawartość jest różna w zależności pory roku, co związane jest ze sposobem karmienia krów [8, 9]. Zawartość witaminy E waha się w granicach od 5 do 100 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu mlekowego - więcej w okresie żywienia pastwiskowego niż oborowego [10]. Wśród tokoferoli dominuje forma α -T, a jego aktywność antyoksydacyjna jest o około 50 razy większa niż innych homologów obecnych w olejach roślinnych [11]. Spośród karotenoidów w znaczących ilościach występuje β -karoten, którego zawartość w tłuszczu mlekowym mieści się w granicach od 2 do 8 $\mu\text{g/g}$, a witaminy A w granicach od 14 do 36 $\mu\text{g/g}$ tłuszczu. Zawartość β -karotenu w mleku pochodzącego z okresu żywienia pastwiskowego jest ponad 2-krotnie, a witaminy A 1,5-krotnie wyższa niż w mleku pochodzącym z okresu żywienia oborowego [11].

Celem przeprowadzonych badań była charakterystyka tokochochromanoli w wybranych produktach mlecznych tj. serach dojrzewających oraz w produktach seropodobnych z dodatkiem olejów roślinnych.

Material i metody badań

Materialami do badań były sery dojrzewające pobrane losowo z półek w supermarketach na terenie Poznania oraz uzyskane bezpośrednio od producentów. Badano także produkty seropodobne z deklarowanym na opakowaniu dodatkiem oleju roślinnego. Analizie poddano łącznie 30 serów oraz 6 produktów seropodobnych. W bada-

niach do identyfikacji użyto standardów homologicznych tokoferoli i tokotrienoli o analitycznej czystości $\geq 95\%$ (Calbiochem).

Oznaczenia tokochromanoli w serach przy zastosowaniu HPLC

Zakodowane wcześniej próby poddano ekstrakcji tłuszczu metodą Rose-Gottlieba [12]. Po wydzieleniu tłuszczu rozpuszczano próbę w *n*-heksanie, filtrowano, a następnie analizowano na HPLC. Do rozdzielania, identyfikacji jakościowej i ilościowej homologicznych tokoferoli (-T) i tokotrienoli (-T3) stosowano kolumnę LiChrosorb Si 60 (250 x 4,6mm, 5 μ m). Fazę ruchomą stanowił *n*-heksan z 1,4-dioksanem (v/v) o szybkości przepływu 1,5 ml/min. W układzie pracował detektor fluorymetryczny (WatersTM 474) przy wzbudzeniu $\lambda=295$ nm i emisji $\lambda=330$ nm oraz komputerowy system sterowania Waters Millennium 33. Zawartość tokoferoli i tokotrienoli obliczano na podstawie krzywych kalibracyjnych wykonanych dla poszczególnych standardów -T i -T3 [13].

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej wykorzystując jednoczynnikową analizę wariancji oraz testy post-hoc Tukey'a dla $p<0,05$. Obliczeń dokonano w programie Statistica 7 (StatSoft).

Wyniki i dyskusja

W niniejszej pracy przeprowadzono badania dotyczące charakterystyki tokochromanoli w serach dojrzewających oraz w produktach seropodobnych. Dodatkowym aspektem badań było sprawdzenie czy producenci podejmują próby fałszowania „oryginalnych” serów żółtych poprzez dodatek innego tłuszczu, np. oleju roślinnego.

Rezultatem przeprowadzonych badań dotyczących jakościowej i ilościowej analizy tokochromanoli w losowo pobranych próbach sera z półek sklepowych, były duże różnice w zawartości poszczególnych homologów tokochromanoli (tab. 1). W większości serów głównym i jedynym homologiem tokoferolu, jaki występował był α -T. Homolog ten posiada najwyższą aktywność biologiczną i jako najważniejszy związek witaminy-E aktywny występuje w tkankach zwierzęcych, w tym także w mleku [14, 15]. Różnice w jego zawartości świadczą o różnym okresie produkcji tego wyrobu oraz czasie przechowywania. Istotny wpływ mogła mieć również pora roku, z której pochodziło mleko użyte do produkcji. Jeśli uzyskano je od zwierząt z okresu żywienia pastwiskowego, to zawartość tokoferoli była znacznie wyższa niż z okresu żywienia oborowego [16, 17].

Tabela 1

Zawartość tokochromanoli w badanych serach
Tocochromanol content in tested cheese samples

Kod* producenta Producer code	Zawartość tokochromanoli - Tocochromanol content [mg/100g tłuszczu - fat]**								
	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T3	β -T3	γ -T3	δ -T3	Suma Total
1	3,61 ^f ± 0,057	-	-	-	-	-	-	-	3,61 ^f ± 0,057
2	3,10 ^e ± 0,021	-	-	-	-	-	-	-	3,10 ^e ± 0,021
3	2,38 ^c ± 0,042	-	-	-	-	-	-	-	2,38 ^c ± 0,042
4	0,89 ^a ± 0,042	-	-	-	-	-	-	-	0,89 ^a ± 0,042
5	10,94 ^c ± 0,071	0,07 ^a ± 0,007	3,79 ^b ± 0,071	0,19 ^b ± 0,007	8,22 ^c ± 0,035	2,67 ^c ± 0,092	17,24 ^c ± 0,042	5,22 ^c ± 0,049	48,36 ± 12,986
6	1,42 ^b ± 0,042	-	-	-	-	-	-	-	1,42 ^b ± 0,042
7	1,67 ^{c,d} ± 0,092	-	-	-	-	-	-	-	1,67 ^{c,d} ± 0,092
8	0,90 ^a ± 0,021	-	-	-	-	-	-	-	0,90 ^a ± 0,021
9	4,80 ^b ± 0,064	0,07 ^a ± 0,014	0,05 ^a ± 0,007	0,08 ^a ± 0,007	4,55 ^b ± 0,071	1,68 ^b ± 0,028	12,32 ^b ± 0,134	3,48 ^b ± 0,106	27,05 ± 12,038
10	1,74 ^d ± 0,014	-	-	-	-	-	-	-	1,74 ^d ± 0,014
11	0,96 ^a ± 0,035	-	-	-	-	-	-	-	0,96 ^a ± 0,035
12	1,00 ^a ± 0,028	-	-	-	-	-	-	-	1,00 ^a ± 0,028
13	1,47 ^{b,c} ± 0,035	-	-	-	-	-	-	-	1,47 ^{b,c} ± 0,035
14	1,71 ^d ± 0,092	-	-	-	-	-	-	-	1,71 ^d ± 0,092
15	0,78 ^a ± 0,078	-	-	-	-	-	-	-	0,78 ^a ± 0,078
16	12,41 ^d ± 0,057	0,17 ^b ± 0,035	0,14 ^a ± 0,007	0,18 ^b ± 0,021	12,07 ^d ± 0,035	0,38 ^a ± 0,028	26,44 ^d ± 0,071	9,37 ^d ± 0,106	61,18 ± 25,000
17	4,38 ^g ± 0,042	-	-	-	-	-	-	-	4,38 ^g ± 0,042
18	2,20 ^c ± 0,035	-	-	-	-	-	-	-	2,20 ^c ± 0,035
19	2,25 ^c ± 0,078	-	-	-	-	-	-	-	2,25 ^c ± 0,078
20	1,00 ^a ± 0,042	-	-	-	-	-	-	-	1,00 ^a ± 0,042
21	2,78 ^d ± 0,099	-	-	-	-	-	-	-	2,78 ^d ± 0,099
22	1,54 ^{b,c,d} ± 0,064	-	-	-	-	-	-	-	1,54 ^{b,c,d} ± 0,064

23	2,89 ^{d,e} ± 0,035	-	-	-	-	-	-	-	2,89 ^{d,e} ± 0,035
24	2,00 ^a ± 0,028	ślad.	ślad.	0,22 ^b ± 0,021	1,950 ^a ± 0,099	0,20 ^a ± 0,007	3,81 ^a ± 0,042	1,03 ^a ± 0,035	9,22 ± 3,376
25	1,19 ^a ± 0,028	-	-	-	-	-	-	-	1,19 ^a ± 0,028
26	1,39 ^a ± 0,042	-	-	-	-	-	-	-	1,39 ^a ± 0,042
27	2,28 ^b ± 0,042	-	-	-	-	-	-	-	2,28 ^b ± 0,042
28	2,37 ^b ± 0,057	-	-	-	-	-	-	-	2,37 ^b ± 0,057
29	3,06 ^c ± 0,049	-	-	-	-	-	-	-	3,06 ^c ± 0,049
30	3,36 ^d ± 0,078	-	-	-	-	-	-	-	3,36 ^d ± 0,078

*kolejny numer próby odpowiada innemu producentowi;

** wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie $p \leq 0,05$

Z przeprowadzonych analiz chromatograficznych wynika, że we frakcji tłuszczowej oprócz α -T, dominującego homologu (95% sumy pozostałych tokoferoli) charakterystycznego dla tłuszczu mlekowego występują pozostałe formy tokoferoli, a także alfa-, beta-, gamma- i delta-tokotrienole (tab. 1). Identyfikowane w czterech próbach tokotrienole są związkami występującymi w większych ilościach jedynie w oleju palmowym i kokosowym [18]. Wśród 24 przebadanych prób sera pełnotłustego stwierdzono dodatek tłuszczu roślinnych w czterech przypadkach. W próbach tych oprócz homologu α -T stwierdzono obecność znacznych ilości pozostałych homologicznych tokoferoli oraz tokotrienoli.

Ilość oznaczonych homologicznych tokochromanoli w serach „zafałszowanych” jest różna i waha się od 9,2 mg/100g do 61,2 mg/100g tłuszczu, co dowodzi że dodatek tłuszczu roślinnych nie jest na jednakowym poziomie. Wyniki te jednoznacznie świadczą o nieuczciwych praktykach producentów, ponieważ na opakowaniu nie umieszczono odpowiedniej adnotacji o dodatku olejów roślinnych.

Wśród serów tłustych i niskotłuszczowych (6 prób) nie stwierdzono obecności innych homologów tokochromanoli oprócz α -T, co dowodzi, że sery te wyprodukowano tylko z tłuszczu mlekowego (tab. 1).

W pracy poddano analizie również produkty seropodobne z deklarowanym dodatkiem tłuszczu roślinnego. Charakteryzowały się one także znaczną różnicą w zawartości homologicznych tokochromanoli (tab. 2), a ich zawartość mieściła się w granicach od 23,1 mg/100 g tłuszczu do 64,3 mg/100 g tłuszczu. Tak duża rozpiętość w oznaczonej ilości poszczególnych form -T i -T3 mogła wynikać, z jakości i ilości dodawanego oleju roślinnego oraz okresu przechowywania.

Tabela 2

Zawartość tokochochromanoli w badanych produktach seropochodnych
Tocochromanol content in cheese with addition of plant oils

Kod* producenta Producer code	Zawartość tokochochromanoli - Tocochromanols contents [mg/100g tłuszczu - fat]**								
	α -T	β -T	γ -T	δ -T	α -T3	β -T3	γ -T3	δ -T3	Suma Total
1	4,99 ^a ± 0,021	0,05 ^a ± 0,007	0,76 ^d ± 0,007	0,06 ^{a,b} ± 0,014	4,17 ^a ± 0,035	0,58 ^a ± 0,021	9,36 ^a ± 0,014	3,08 ^a ± 0,042	23,08 ± 8,01
2	8,39 ^b ± 0,042	0,105 ^b ± 0,007	0,16 ^b ± 0,007	0,03 ^a ± 0,014	8,47 ^b ± 0,057	1,330 ^b ± 0,014	21,81 ^b ± 0,057	7,81 ^d ± 0,028	48,11 ± 21,73
3	9,81 ^c ± 0,283	0,03 ^a ± 0,007	0,06 ^a ± 0,007	0,11 ^b ± 0,007	12,00 ^c ± 0,042	2,44 ^d ± 0,042	28,26 ^d ± 0,184	6,28 ^c ± 0,071	59,01 ± 27,55
4	15,98 ^f ± 0,035	0,03 ^a ± 0,000	0,04 ^a ± 0,007	0,07 ^{a,b} ± 0,007	17,56 ^e ± 0,495	3,01 ^f ± 0,014	38,44 ^f ± 0,057	5,49 ^b ± 0,035	80,64 ± 34,20
5	13,47 ^d ± 0,057	0,11 ^b ± 0,007	0,25 ^c ± 0,014	0,23 ^c ± 0,021	11,55 ^c ± 0,071	1,66 ^c ± 0,014	25,28 ^c ± 0,205	8,94 ^e ± 0,042	78,14 ± 35,35
6	16,23 ^e ± 0,049	0,20 ^c ± 0,014	2,08 ^e ± 0,035	0,35 ^d ± 0,021	11,55 ^c ± 0,071	1,66 ^c ± 0,014	25,28 ^c ± 0,205	8,94 ^e ± 0,042	64,31 ± 21,61

*kolejny numer próby odpowiada innemu producentowi;

** wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie $p \leq 0,05$

Wnioski

1. Z uzyskanych rezultatów badań wynika, że w przeważającej ilości serów głównym i jedynym homologiem tokoferoli był α -T. Jednak w 4 losowo pobranych serach zidentyfikowano pozostałe tokoferole i tokotrienole. Potwierdza to przypuszczenia, że niektórzy producenci serów dojrzewających, celowo nie deklarują na opakowaniu o dodatku obcego tłuszczu. Tego typu fałszowanie wyrobów pozwala na uzyskanie przez nieuczciwych producentów nienależnych zysków kosztem konsumenta, co jest przejawem stosowania nieuczciwej konkurencji. Działania takie powodują wypieranie z rynku produktów dobrej jakości i wprowadzają w błąd nieświadomego konsumenta.
2. Stale należy kontrolować nasz rynek i likwidować wszelkie próby fałszowania, którym podlegają nie tylko produkty mleczne, ale także inne produkty spożywcze.

Literatura

- [1] Fox P.F., McSweeney P.L.H.: Chesse: an overview. In: Chesse – chemistry, physics and microbiology. P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan, T.P. Guinee Eds. Academic Press, 2004, pp. 1-18.
- [2] Belitz H-D., Grosch W., Schieberle P.: Food chemistry. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 2004.
- [3] Gawęcki J., Mossor-Pietruszewska T.: Kompendium wiedzy o żywności, żywieniu i zdrowiu. PWN, Warszawa 2004.
- [4] Stołyhwo A., Rutkowska J.: Tłuszcze obce w wyrobach mlecznych na tle Prawa Żywnościowego UE (i krajowego). Niezawodność nowych metod wykrywania. *Przegl. Mlecz.*, 2007, 2, 4-8.
- [5] Nogala-Kałucka M., Pikul J., Siger A.: Zastosowanie chromatografii cieczowej w badaniach autentyczności masła. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008, 3 (58), 47 – 56.
- [6] Flaczyk E., Pikul J., Górecka D., Cais-Sokolińska D.: Sery. W: „Towaroznawstwo produktów spożywczych” - pod red. E. Flaczyk, D. Góreckiej, J. Korczaka, Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego, Poznań, 2006, s. 101 – 125.
- [7] Kolanowski W., Świdorski F.: Masło i sery. W: „Towaroznawstwo żywności przetworzonej: technologia i ocena jakościowa” – pod red. F. Świdorskiego, Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 2003, s. 164 – 190.
- [8] Pikul J.: Charakterystyka i otrzymywanie tłuszczów pochodzenia zwierzęcego. W: „Prawda o tłuszczach” – pod red. J. Gawęckiego, Wydawnictwo Instytut Danone – Fundacja Promocji Zdrowego Żywienia, Warszawa, 1997, s. 27 – 42.
- [9] O'Connor T.P., O'Brien N.M.: Lipid Oxidation. In: “Advanced Dairy Chemistry”, Volume 2, Lipids. P.F. Fox, P.L.H. McSweeney Eds. Springer Science, Business Media, Inc., 2006, pp. 557-600.
- [10] Jaworski J.: Skład tłuszczu mlekowego – uwarunkowania środowiskowe. W: Materiały z Konferencji Naukowej „Tłuszcz mlekowy w żywieniu człowieka”. Olsztyn, 1995, 5 – 20.
- [11] Żegarska Z. Składniki tłuszczu mlekowego o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. *Przegl. Mlecz.*, 2005, 6, 4.
- [12] IDF-ISO-AOAC, Codex-Adopted-AOAC 933.05.
- [13] Nogala-Kałucka M., Gogolewski M., Lampart-Szczapa E., Jaworek M., Siger A., Szulczewska A.: Determination of vitamin E active compounds as biological antioxidants occurring in oilseeds of the selected rape varieties. *Rośliny Oleiste*, 2003, 24, 587-596.
- [14] Gertig H., Przysławski J.: Bromatologia. Zarys nauki o żywności i żywieniu. PZWL, Warszawa 2006.
- [15] Delgado Zamarreno M.M., Sanchez Perez A., Bustamante Rangel M., Hernandez Mendez J.: Automated analysis for vitamin E in butter by coupling sample treatment – continuous membrane extration – liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal. Chimica Acta*, 1999, 386, 99-106.
- [16] Gunstone F.D., Harwood J.L.: Occurrence and characterization of oils and fats. In: “The lipid handbook”. F.D. Gunstone, J.L. Harwood, A.J. Dijkstra Eds. CRC Press, Boca Raton 2007, pp. 37-142.
- [17] Ball G.F.M. Vitamins in food. Analysis, bioavailability and stability. CRC Press, Boca Raton 2006, pp. 119-132.
- [18] Nogala-Kałucka M., Szulczewska A., Kupczyk B.: Zmiany zawartości tokotrienoli i tokoferoli w czerwonym oleju palmowym i tłuszczach roślinnych produkowanych z jego udziałem. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2003, 36 Supl., 375-380.

**THE PROFILE OF TOKOCHROMANOLS IN SELECTED DAIRY PRODUCTS
WITH ADDITION OF PLANT OILS**

S u m m a r y

The aim of this study was to characterize tocochromanols (tocopherols -T and tocotrienols -T3) in selected dairy products - rennet ripening cheese and cheese products with addition of plant oils. The analysis was based on 36 products bought in supermarkets in Poznan and those obtained directly from the manufacturers. The first step in this research was elaboration of the effective extraction of fats. The Rose-Gottlieb method was used. Next, the HPLC method was applied for qualitative and quantitative analyses of tocopherol homologus. Original cheese was characterized by the presence of alpha-T only. Analysis of tocochromanols in 30 cheese samples showed 4 being adulterated: all forms of tocopherols and tocotrienols (α -, β -, γ - and δ -) were present.

Key words: tocochromanols, cheese, adulteration, chromatography 