

MAŁGORZATA WRONIAK, JOANNA RAMOTOWSKA, MONIKA
MATUSZEWSKA, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI

MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA OZNACZANIA IZOMERÓW TRANS KWASÓW TŁUSZCZOWYCH I 3,5-STIGMASTADIENU DO BADANIA AUTENTYCZNOŚCI OLEJÓW TŁOCZONYCH NA ZIMNO

Streszczenie

Celem pracy była ocena autentyczności olejów nierafinowanych tłoczonych na zimno na podstawie oznaczenia izomerów trans kwasów tłuszczowych i zawartości 3,5-stigmastadienu metodą chromatografii gazowej. Materiałem badawczym było 30 olejów handlowych, dostępnych na rynku warszawskim: tłoczone na zimno z nasion, oliwy z oliwek: extra virgin, sansa, pomace, light, extra light i oleje rafinowane.

Wykazano, że obiektywną ocenę autentyczności olejów tłoczonych na zimno można wykonać na podstawie zawartości izomerów trans kwasów tłuszczowych i 3,5-stigmastadienu. Wyniki tych analiz mogą być kryterium do stwierdzenia zafałszowania olejów tłoczonych na zimno olejami rafinowanymi tego samego gatunku. Skład kwasów tłuszczowych analizowanych olejów był charakterystyczny dla poszczególnych gatunków olejów. W przypadku trzech olejów z nasion i sześciu oliw z oliwek wykryto izomery trans kwasów tłuszczowych na poziomie 0,1-0,6%. Tylko w oleju arachidowym nie oznaczono 3,5-stigmastadienu. Oliwy extra virgin charakteryzowały się niską zawartością 3,5-stigmastadienu (0,13 do 1,12 mg/kg). Szczególnie dużą zawartość tego związku (6,54 do 52,94 mg/kg) oznaczono w olejach z pestek winogron i słonecznikowym, tłoczonych na zimno oraz oliwach z oliwek typu sansa, pomace, light i extra light. Trzy spośród jedenastu przebadanych olejów z nasion deklarowanych jako tłoczone na zimno mogły być poddane rafinacji bądź zostały zafałszowane przez zmieszanie z olejami rafinowanymi (wykryto w nich zarówno obecność izomerów trans kwasów tłuszczowych, jak i 3,5-stigmastadienu).

Słowa kluczowe: oleje roślinne, oleje tłoczone na zimno, oliwy z oliwek, autentyczność, zafałszowania, skład kwasów tłuszczowych, izomery trans, 3,5-stigmastadien

Wprowadzenie

W ostatnich latach obserwuje się wzrost spożycia olejów jadalnych tłoczonych na zimno. Przyczynia się do tego pogląd, że oleje te znacznie przewyższają pod względem wartości odżywczej oleje rafinowane [5]. Bez wątplenia na pogląd ten ma

również wpływ dobra opinia o tłoczonej na zimno oliwie z oliwek extra virgin, powszechnie uważanej za szlachetną i zdrową. Bardzo ważne jest, aby oleje charakteryzowały się wysoką jakością i były autentyczne. Szczególnie ta ostatnia cecha jest istotna ze względu na znane od wielu lat próby handlu zafałszowanymi olejami, a szczególnie oliwą z oliwek [1, 5, 10].

W Unii Europejskiej obowiązuje rozporządzenie 2568/91, zmienione rozporządzeniem 1989/2003 [13], w którym określone zostały metody oceny jakości oliwy z oliwek. Ma ono na celu zabezpieczenie wysokiej jakości i m.in. autentyczności oliw na rynku europejskim. W Polsce prowadzone są prace nad wdrażaniem tych metod w praktyce, do kontroli jakości importowanych oliw z oliwek, zgodnie z regulacjami UE [13]. Brakuje jednak krajowych i zagranicznych przepisów, które regulowałyby sprawy jakości innych olejów tłoczonych na zimno i gwarantowałyby ich bezpieczeństwo spożywania i autentyczność.

Do określania autentyczności olejów jadalnych może posłużyć analiza wielu związków chemicznych występujących w olejach, m. in. analiza składu kwasów tłuszczowych, w tym izomerów trans, składu steroli, triacylogliceroli, ECN 42, zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych w pozycji n-2 triacylogliceroli, zawartość substancji niezmydlających się, zawartość wosków, węglowodorów, alkoholi alifatycznych, triterpenowych i innych [1, 3, 13]. Do tego celu wykorzystuje się nowoczesne techniki chromatograficzne, głównie chromatografię gazową i cieczową, spektrometryczne: spektrometria masy, spektrometria magnetycznego rezonansu jądrowego, spektroskopia w podczerwieni, w ultrafiolecie, chemiluminescencja i inne. Tymi metodami można badać zafałszowania olejów dziewiczych olejami rafinowanymi tego samego gatunku, jak również innymi, tańszymi gatunkami olejów roślinnych [1, 11, 14].

Celem pracy była ocena autentyczności olejów nierafinowanych tłoczonych na zimno, dostępnych na rynku warszawskim na podstawie oznaczenia izomerów trans kwasów tłuszczowych i zawartości 3,5-stigmastadienu metodą chromatografii gazowej.

Materiał i metody badań

Materiałem badawczym było 30 olejów handlowych różnych gatunków i różnych producentów (tab. 1). Określenia olejów i oliw zostały spisane z etykiet na opakowaniach. Oleje i oliwy zakupiono w sklepach warszawskich. Szczegółowa ocena jakości sensorycznej i chemicznej większości analizowanych olejów tłoczonych na zimno z nasion i dziewiczych oliw z oliwek została przedstawiona w pracy Wroniak i wsp. [16]

Tabela 1

Charakterystyka badanych olejów.

Characteristics of examined oils.

Lp.	Oleje (kraj pochodzenia) / Oils (country of origin)
1	Sojowy tłoczony na zimno (Polska) / Soybean cold pressed (Poland)
2	Sojowy rafinowany (Polska) / Soybean refined (Poland)
3	Sezamowy tłoczony na zimno (Polska) / Sesame cold pressed (Poland)
4	Słonecznikowy tłoczony na zimno nr 1 (Polska) / Sunflower cold pressed no 1 (Poland)
5	Słonecznikowy tłoczony na zimno nr 2 (Niemcy) / Sunflower cold pressed no 2 (Germany)
6	Słonecznikowy rafinowany (Polska) / Sunflower refined (Poland)
7	Rzepakowy tłoczony na zimno (Polska) / Rapeseed cold pressed (Poland)
8	Rzepakowy rafinowany (Polska) / Rapeseed refined (Poland)
9	Kukurydziany tłoczony na zimno (Polska) / Maize cold pressed (Poland)
10	Arachidowy tłoczony na zimno nr 1 (Polska) / Peanut cold pressed no 1 (Poland)
11	Arachidowy tłoczony na zimno nr 2 (Polska) / Peanut cold pressed no 2 (Poland)
12	Z pestek dyni tłoczony na zimno (Austria) / Pumpkin cold pressed (Austria)
13	Z pestek winogron nr 1 (Hiszpania) / Grapeseed no 1 (Spain)
14	Z pestek winogron nr 2 (Włochy) / Grapeseed no 2 (Italy)
15	Oliwa extra virgin nr 1 (Włochy) / Olive extra virgin no 1 (Italy)
16	Oliwa extra virgin nr 2 (Włochy) / Olive extra virgin no 2 (Italy)
17	Oliwa extra virgin nr 3 (Włochy) / Olive extra virgin no 3 (Italy)
18	Oliwa extra virgin nr 4 (Włochy) / Olive extra virgin no 4 (Italy)
19	Oliwa extra virgin nr 5 (Włochy) / Olive extra virgin no 5 (Italy)
20	Oliwa extra virgin nr 6 (Grecja) / Olive extra virgin no 6 (Greece)
21	Oliwa extra virgin nr 7 (Francja) / Olive extra virgin no 7 (France)
22	Oliwa extra virgin nr 8 (Hiszpania) / Olive extra virgin no 8 (Spain)
23	Oliwa extra virgin nr 9 (Hiszpania) / Olive extra virgin no 9 (Spain)
24	Oliwa extra virgin nr 10 (Hiszpania) / Olive extra virgin no 10 (Spain)
25	Oliwa extra virgin nr 11 (Włochy) / Olive extra virgin no 11 (Italy)
26	Oliwa sansa nr 12 (Włochy) / Olive sansa no 12 (Italy)
27	Oliwa sansa nr 13 (Włochy) / Olive sansa no 13 (Italy)
28	Oliwa pomace nr 14 (Grecja) / Olive pomace no 14 (Greece)
29	Oliwa light nr 15 (Hiszpania) / Olive light no 15 (Spain)
30	Oliwa extra light nr 16 (Hiszpania) / Olive extra light no 16 (Spain)

W celu oceny autentyczności olejów oznaczano skład kwasów tłuszczowych, w tym izomerów trans, metodą chromatografii gazowej [12]. Rozdział chromatograficzny estrów metylowych kwasów tłuszczowych wykonywano w kolumnie polarnej BPX 70 (50 m x 0,2 mm x 0,25 µm). Zastosowano programowany wzrost temperatury kolumny w zakresie od 140 do 210°C ze wzrostem w tempie 1,5°C/min. Temp. dozownika wynosiła 210°C, a detektora FID 220°C. Jako gaz nośny zastosowano hel. Analizę

wykonywano przy użyciu chromatografu firmy Hewlett Packard 5890 Series II. Jako wynik oznaczenia podano procentową zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych.

Oznaczenie zawartości 3,5-stigmastadienu polegało na izolacji niezmydlających się składników zawartych w olejach, wydzieleniu frakcji sterolowej metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym dezaktywowanym 2% wody dejonizowanej i zebraniu odpowiednich frakcji, które po zagęszczeniu poddawano analizie metodą chromatografii gazowej [6, 8]. Dokładne postępowanie opisano w pracy Matuszewskiej i Obiedzińskiego [10]. Analizę chromatograficzną wykonano przy użyciu chromatografu firmy Hewlett Packard 5890 Series II wyposażonym w kolumnę z fazą niepolarną HP-1 (25 m x 0,2 mm x 0,2 μ m) w następujących warunkach: temp. dozownika 300°C, detektora FID 320°C. Temperatura kolumny była programowana w zakresie od 235 do 285°C ze wzrostem w tempie 2°C/min. Na podstawie powierzchni pików i znanej ilości dodanego wzorca (3,5-cholestadienu) obliczano zawartość 3,5-stigmastadienu w mg/kg.

Wyniki i dyskusja

Skład kwasów tłuszczowych w badanych olejach był typowy dla danych gatunków olejów [4] (tab. 2). W większości olejów tłoczonych na zimno nie wykryto izomerów trans kwasów tłuszczowych, z wyjątkiem trzech olejów: słonecznikowego nr 1 i dwóch olejów z pestek winogron. Nie wykryto ich również w żadnej z dziewiczych oliw z oliwek. Natomiast izomery trans kwasów tłuszczowych, w łącznych ilościach od 0,1 do 0,6%, stwierdzono w olejach rafinowanych i oliwach, które były z definicji i deklaracji na opakowaniu oliwami rafinowanymi zmieszany z oliwą dziewiczą lub oliwą z wyłoków oliwnych. Potwierdziło to zastosowanie zabiegów termicznych w wysokiej temperaturze w procesie otrzymywania tych olejów. Izomery trans kwasów tłuszczowych (oleinowego C18:1, linolowego C18:2, linolenowego C18:3) powstają, kiedy stosuje się drastyczne warunki procesu rafinacyjnego, szczególnie temp. 240°C w etapie odwaniania olejów [7, 9, 15]. Oznaczona ilość izomerów trans nie przekroczyła wartości, określonych w rozporządzeniu UE. Suma izomerów trans wszystkich kwasów tłuszczowych w oliwach rafinowanych nie powinna być wyższa niż 0,5%, w oliwach z wyłoków 0,75%, a w dziewiczych 0,1% [13].

W analizowanych olejach tłoczonych na zimno oznaczono również zawartość 3,5-stigmastadienu (tab. 2). Zawartość 3,5-stigmastadienu to parametr jakości, powszechnie stosowany w Europie do oceny autentyczności oliw z oliwek [13]. We wcześniejszych badaniach Matuszewskiej i Obiedzińskiego [10] oznaczenie 3,5-stigmastadienu pozwoliło na określenie stosowanej technologii, na przykładzie badania olejów rzepakowych na poszczególnych etapach produkcji oraz określenie zafałszowania oliwy dziewiczej przez dodatek oliwy rafinowanej.

c.d. Tab. 2

18	Z oliwek nr 4 / Olive no 4	10,5	0,9	2,7	80,0	4,3	0,6	0,3	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,34
19	Z oliwek nr 5 / Olive no 5	11,2	0,8	2,9	76,0	7,2	0,7	0,4	0,3	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,03
20	Z oliwek nr 6 / Olive no 6	10,8	0,9	3,1	77,9	5,6	0,6	0,4	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,04
21	Z oliwek nr 7 / Olive no 7	11,4	0,8	2,8	74,3	8,8	0,7	0,5	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,01
22	Z oliwek nr 8 / Olive no 8	11,3	0,9	2,9	78,4	4,7	0,7	0,4	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,01
23	Z oliwek nr 9 / Olive no 9	11,3	0,8	3,2	77,0	5,9	0,7	0,4	0,3	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,01
24	Z oliwek nr 10 / Olive no 10	10,8	0,8	2,8	77,7	7,7	0,7	0,4	0,3	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,02
25	Z oliwek nr 11 / Olive no 11	11,4	0,8	2,8	77,1	8,1	0,7	0,4	0,3	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	1,18
26	Z oliwek nr 12 / Olive no 12*	11,5	0,8	2,7	70,3	12,3	0,7	0,5	0,3	0,2	0,0	0,1	0,2	0,1	0,0	30,86
27	Z oliwek nr 13 / Olive no 13*	12,4	1,0	2,5	71,8	10,0	0,6	0,4	0,3	0,2	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	31,49
28	Z oliwek nr 14 / Olive no 14*	11,3	0,8	2,9	72,2	11,6	0,6	0,5	0,3	0,2	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	52,94
29	Z oliwek nr 15 / Olive no 15*	10,2	0,7	3,1	76,0	7,9	0,6	0,5	0,3	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	6,54
30	Z oliwek nr 16 / Olive no 16*	11,4	0,9	3,0	75,0	7,6	0,5	0,4	0,3	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	47,36

*Oleje deklarowane jako rafinowane lub zmieszane z rafinowanymi / Oils declared as refined oils or mixed with refined oils

Obecność stigmastadienów (suma wszystkich izomerów) w olejach tłoczonych na zimno świadczy o zafałszowaniu ich olejami rafinowanymi lub oddziaływaniu temperatury w procesie technologicznym np. o suszeniu surowca. Związki te powstają przez dehydratację β -sitosterolu w procesach rafinacyjnych. Największe ilości 3,5-stigmastadienu występują w olejach rafinowanych, czyli poddanych zarówno obróbce chemicznej, jak i termicznej. Do powstawania dużych ilości stigmastadienów przyczyniają się szczególnie procesy bielienia i odwaniania [2, 3, 5]. W oliwach dziewiczych stwierdza się śladowe ilości tych związków, mniej niż 0,01 mg/kg. W oliwach uzyskanych z surowca suszonego zawartość ta może wzrosnąć do 3 mg/kg. W oliwach rafinowanych w zależności od zastosowanych warunków rafinacji zawartość stigmastadienów może wahać się od 1 do 120 mg/kg [2, 6, 10]. Codex Alimentarius [4] i przepisy UE [13] określają maksymalną ilość stigmastadienów w oliwach dziewiczych na poziomie 0,15 mg/kg.

Analiza uzyskanych wyników wykazuje, że tylko w przypadku oleju arachidowego tłoczonego na zimno nie stwierdzono obecności 3,5-stigmastadienu, podobnie jak to miało miejsce w badaniach Verleyen i wsp. [14] oraz De Panfilis i wsp. [5]. Natomiast w pozostałych olejach wykryto pewne ilości 3,5-stigmastadienu. Oliwy extra virgin charakteryzowały się niską zawartością 3,5-stigmastadienu od 0,13 do 1,12 mg/kg. Szczególnie dużą zawartość tego związku nawet do 52,94 mg/kg wykryto w olejach z pestek winogron i słonecznikowym, tłoczonych na zimno oraz oliwach z oliwek sansa, pomace, light i extra light.

Stwierdzono, że szeroko stosowane w praktyce laboratoryjnej, rutynowe oznaczenia jakości olejów jadalnych mogą być pomocne przy ocenie autentyczności badanych olejów. Uzyskane w niniejszej pracy wyniki potwierdziły bowiem przypuszczenia wynikające z wcześniejszych badań [16], że znajdujące się na rynku oleje z pestek winogron były olejami rafinowanymi. W olejach tych stwierdzono zarówno obecność izomerów trans kwasów tłuszczowych, jak i 3,5-stigmastadienu (tab. 2). Analizowane oleje z pestek winogron charakteryzowały się, w badaniach Wroniak i wsp. [16], jasną barwą, delikatnym smakiem i zapachem, miały niską liczbę kwasową oraz wysoką liczbę anizydynową.

Wnioski

1. Skład kwasów tłuszczowych analizowanych olejów był charakterystyczny dla poszczególnych gatunków olejów.
2. Ocenę autentyczności olejów tłoczonych na zimno można wykonać na podstawie oznaczania zawartości izomerów trans w składzie kwasów tłuszczowych i zawartości 3,5-stigmastadienu. Wyniki tych analiz mogą być kryterium do stwierdzenia zafałszowania olejów tłoczonych na zimno olejami rafinowanymi tego samego gatunku.

3. Trzy spośród jedenastu przebadanych olejów z nasion deklarowanych jako tłoczone na zimno mogły być poddane rafinacji, bądź zostały zafałszowane przez zmieszanie z olejami rafinowanymi. Oznaczono w nich zarówno izomery trans kwasów tłuszczowych, jak i 3,5-stigmastadien.
4. Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych, w tym izomerów trans, można uznać za proste i łatwe, w porównaniu z oznaczaniem 3,5-stigmastadienu, ze względu na nieskomplikowane przygotowanie próbki i wykonanie analizy. Potwierdzono, że szeroko stosowane w praktyce laboratoryjnej, rutynowe oznaczenia jakości olejów jadalnych mogą być pomocne przy ocenie autentyczności olejów.

Literatura

- [1] Aparicio R., Aparicio –Ruiz R.: Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *J. Chromatogr.*, 2000, **881**, 93-104.
- [2] Cert A., Lanzon A., Carelli A., Albi T.: Formation of stigma 3,5 –diene in vegetable oils., *Food Chem.*, 1994, **49**, 287-296.
- [3] Cert A., Moreda W., Perez-Camino M.C.: Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *J. Chromatogr.*, 2000, **881**, 131-148.
- [4] Codex Alimentarius FAO/WHO: Fat, Oils and Related Products, The Codex Alimentarius, vol. 8, Rome 2001.
- [5] De Panfilis F., Toschi G. T., Lecker G.: Quality control for cold-pressed oils. *INFORM*, 1998, **9**, 212-221.
- [6] Dobarganes M.C., Cert A., Dieffenbacher A.: The determination of stigmastadienes in vegetable oils. *IUPAC, Pure & Appl. Chem.*, 1999, **71**, 349-359.
- [7] Gogolewski M., Nogala-Kałucka M., Szeliuga M.: Changes of tocopherol and fatty acid contents in rapeseed oil during refining. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2000, **120**, 618-623.
- [8] IOOC COI/ T.20/Doc. no. 11/Rev.2. (2001). Method of analysis: Determination of stigmastadienes in vegetable oils.
- [9] Lee D.S., Noh B.S., Bae S.Y., Kim K.: Characterization of fatty acids composition in vegetable oils by gas chromatography and chemometrics. *Analitica Chimica Acta*, 1998, **358**, 163-175.
- [10] Matuszewska M., Obiedziński M.W.: Określenie autentyczności oliw z oliwek za pomocą składu kwasów tłuszczowych oraz zawartości 3,5-stigmastadienu. *Tłuszcze Jadalne*, 2001, **36**, 3-4, 137-146.
- [11] Morenda.W., Perez-Camino M.C., Cert A.: Gas and liquid chromatography of hydrocarbons in edible vegetable oils. *J. Chromatogr.*, 2001, **936**, 159-171
- [12] PN-EN ISO 5508:1996. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.
- [13] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1989/2003 z 6 listopada 2003 r. zmieniające rozporządzenie (EWG) nr 2568/91 w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wytlóczyn oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy, Dz. U. 2003 Nr 295, s. 0057-0077.
- [14] Verleyen T., Szulczewska A., Verhe R., Dewettinck K., Huyghebaert A., Greyt W.: Comparison of steradiene analysis between GC and HPLC. *Food Chem.*, 2002, **78**, 267-272.
- [15] Wagner K. H., Auer E., Elmadfa I.: Content of trans fatty acids in margarines, plant oils, fried products and chocolate spreads in Austria. *Eur Food Res. Technol.*, 2000, **210**, 237-241.

- [16] Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K.: Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2006, **47**, 46-58.

**THE POSSIBILITIES OF USAGE OF TRANS ISOMERS OF FATTY ACIDS AND
3,5-STIGMASTADIENE INDICATION TO THE INVESTIGATION OF AUTHENTICITY
OF COLD PRESSED OILS**

S u m m a r y

The aim of this study was to investigate the authenticity of cold pressed oils on the ground of content of trans isomers of fatty acids and 3,5- stigmastadiene by gas chromatography method. 30 accessible on the Warsaw market trade oils: cold pressed from seeds and for comparisons refined and olive oils: extra virgin, sansa, pomace, light, extra light were the investigative material.

It was shown, that the determination of authenticity of cold pressed oils was possible to execute on the ground of the analyses of trans isomers of fatty acids and the determination of 3,5-stigmastadiene. Results of these analyses can be the criterion of adulterations cold pressed oils by refined oils of the same kind. The fatty acid composition of analysed oils was characteristic for individual species of oils. In the case of three oils from seeds and in six olive oils trans isomers of fatty acids on the level 0,1-0,6% were detected. Only in peanut oil 3,5-stigmastadiene was not detected. Extra virgin olive oils had low content of 3,5-stigmastadiene (0,13 to 1,12 mg/kg). Particularly large content of this compound (6,54 to 52,94 mg/kg) was detected in the grapeseed oils, sunflower cold pressed oil and olive oils of type sansa, pomace, light, and extra light. Three oils from among eleven from the seeds which were declared as cold pressed could be subjected by refinement or become falsified by confusion by refined oils. In both the presence of trans isomers of fatty acids and 3,5- stigmastadiene was detected.

Key words: vegetable oils, cold-pressed oils, olive oil, authenticity, adulteration, fatty acid composition, trans isomer, 3,5-stigmastadiene ☒