



**OCENA SKUTECZNOŚCI DODATKU SUBSTANCJI
O WŁAŚCIWOŚCIACH PRZECIWUTLENIAJĄCYCH W PRZEDŁUŻENIU
TRWAŁOŚCI OLEJU LNIANEGO TŁOCZONEGO NA ZIMNO**

Rozprawa doktorska

MARIA MAGDALENA SIELICKA

Promotor: prof. dr hab. Maria Małecka, prof. zw. UEP

Promotor pomocniczy: dr inż. Urszula Samotyja

Katedra Towaroznawstwa Żywności

Praca przedstawiona
Radzie Wydziału Towaroznawstwa
Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu
celem uzyskania stopnia naukowego
doktora nauk ekonomicznych
w zakresie towaroznawstwa

Poznań 2014

*Praca doktorska współfinansowana ze środków Unii Europejskiej
w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego w latach 2011-2013
- projekt systemowy pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach
uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”,
Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki*

*Składam serdeczne podziękowania Pani Profesor dr hab. Marii Małeckiej
za opiekę naukową, wsparcie podczas studiów doktoranckich,
ukierunkowanie mojego rozwoju naukowego
oraz niezwykle cenne wskazówki,
bez których ta praca nie nabrałaby obecnego kształtu*

Serdecznie dziękuję

*dr inż. Urszuli Samoty za cenne rady, poświęcony czas,
gotowość pomocy podczas realizacji badań
oraz przygotowywania rozprawy doktorskiej*

*wszystkim pracownikom Katedry Towaroznawstwa Żywności
Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu za wsparcie
i tworzenie życzliwej atmosfery ułatwiającej realizację pracy*

*członkom sensorycznego zespołu oceniającego za ich sumienność,
zaangażowanie, poświęcony czas i ogromną cierpliwość*

*Pracę dedykuję Rodzicom,
w podziękowaniu za ich miłość i wszelką pomoc*

Spis treści

| | |
|--|-----------|
| Wykaz używanych skrótów..... | 8 |
| Wstęp..... | 9 |
| 1. Prozdrowotność jako trend w zachowaniach konsumentów na rynku żywności..... | 11 |
| 1.1. Znaczenie żywieniowe i zdrowotne wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i zalecenia odnośnie do ich spożycia..... | 14 |
| 1.2. Oświadczenia zdrowotne związane z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi..... | 17 |
| 2. Nasiona lnu (<i>Linum usitatissimum</i> L.) | 20 |
| 2.1. Areał uprawy lnu..... | 20 |
| 2.2. Skład chemiczny nasion lnu i rola w żywieniu | 23 |
| 2.3. Charakterystyka oleju lnianego tłoczonego na zimno | 30 |
| 2.3.1. Otrzymywanie oleju lnianego | 30 |
| 2.3.2. Właściwości fizykochemiczne i znaczenie żywieniowe oleju lnianego | 34 |
| 2.3.3. Wymagania jakościowe, znakowanie i zalecane warunki przechowywania oleju lnianego | 39 |
| 2.3.4. Charakterystyka i kierunki wykorzystania pozostałości poprodukcyjnych nasion lnu | 40 |
| 2.3.5. Elementy rynku oleju lnianego w Polsce | 43 |
| 3. Trwałość oleju lnianego | 48 |
| 3.1. Zarys zmian zachodzących podczas przechowywania oleju | 48 |
| 3.1.1. Hydroliza triacylogliceroli | 48 |
| 3.1.2. Utlenianie kwasów tłuszczowych | 50 |
| 3.1.3. Polimeryzacja tłuszczów | 53 |
| 3.2. Wybrane metody analizy sensorycznej i instrumentalnej w ocenie jakości olejów jadalnych | 53 |
| 3.3. Niepożądane zmiany cech organoleptycznych oleju lnianego..... | 57 |
| 3.4. Próby podwyższenia stabilności oksydacyjnej oleju przez stosowanie przeciwutleniaczy..... | 60 |
| 3.4.1. Rodzaje przeciwutleniaczy i mechanizm ich działania..... | 60 |
| 3.4.2. Dodatek substancji o właściwościach przeciwutleniających do oleju lnianego | 63 |

| | |
|---|----|
| 4. Założenia badawcze | 68 |
| 4.1. Cel pracy i hipotezy badawcze..... | 68 |
| 4.2. Zakres badań | 69 |
| 5. Materiał badawczy, warianty próbek i warunki przechowywania | 74 |
| 5.1. Materiał badawczy | 74 |
| 5.2. Warianty próbek..... | 75 |
| 5.3. Warunki przechowywania..... | 77 |
| 6. Metodyka badawcza | 78 |
| 6.1. Przygotowanie materiału badawczego | 78 |
| 6.1.1. Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych..... | 78 |
| 6.1.2. Przygotowanie ekstraktów z olejów do oceny właściwości przeciwutleniających..... | 78 |
| 6.1.3. Przygotowanie ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych..... | 80 |
| 6.1.4. Przygotowanie próbek olejów z przeciwutleniaczami | 80 |
| 6.2. Ocena właściwości przeciwutleniających ekstraktów | 81 |
| 6.2.1. Oznaczanie zawartości związków fenolowych | 81 |
| 6.2.2. Oznaczanie właściwości przeciwrodnikowych w teście z rodnikiem DPPH..... | 82 |
| 6.2.3. Oznaczanie siły redukującej testem FRAP | 84 |
| 6.2.4. Pomiar fotochemiluminescencji (PCL)..... | 85 |
| 6.3. Ocena zasięgu zmian jakościowych w próbkach oleju | 86 |
| 6.3.1. Oznaczanie liczby kwasowej..... | 86 |
| 6.3.2. Oznaczanie liczby nadtlenkowej | 86 |
| 6.3.3. Oznaczanie liczby anizydynowej | 87 |
| 6.3.4. Wyznaczanie wskaźnika oksydacji tłuszczu TOTOX..... | 88 |
| 6.3.5. Ocena barwy za pomocą metody spektrofotometrycznej | 88 |
| 6.3.6. Analiza związków lotnych za pomocą techniki GC-SPME/MS | 89 |
| 6.4. Ocena sensoryczna próbek oleju..... | 90 |
| 6.4.1. Dobór i szkolenie zespołu oceniających | 90 |
| 6.4.2. Badania z wykorzystaniem przeszkolonego zespołu oceniającego | 91 |
| 6.4.3. Sensoryczne badania konsumenckie | 92 |
| 6.5. Analiza statystyczna wyników | 94 |
| 6.6. Wykaz odczynników, aparatury i sprzętu laboratoryjnego stosowanych w pracy | 98 |

| | |
|--|------------|
| 7. Wyniki badań i ich dyskusja | 100 |
| 7.1. Ocena stabilności próbek oleju lnianego i innych olejów roślinnych tłoczonych na zimno w warunkach praktycznego składowania (warunki półki sklepowej i konsumenckiego użytkowania)..... | 100 |
| 7.1.1. Ocena parametrów jakościowych świeżych olejów tłoczonych na zimno..... | 100 |
| 7.1.2. Zmiany cech fizykochemicznych i organoleptycznych próbek olejów przechowywanych w warunkach półki sklepowej | 105 |
| 7.1.3. Zmiany cech fizykochemicznych i organoleptycznych próbek olejów przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania | 119 |
| 7.2. Wpływ substancji o właściwościach przeciwutleniających na zasięg zmian oksydacyjnych oleju lnianego tłoczonego na zimno przechowywanego w warunkach przyspieszonego starzenia | 134 |
| 7.2.1. Aktywność przeciwutleniająca olejów, ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych oraz ekstraktu z rozmarynu..... | 135 |
| 7.2.2. Ocena stabilności oksydatywnej mieszanek olejowych..... | 146 |
| 7.2.3. Ocena wpływu dodatku ekstraktu z wyłoków nasion roślin oleistych na stabilność oksydacyjną oleju lnianego | 152 |
| 7.2.4. Ocena wpływu dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na stabilność oksydacyjną oleju lnianego | 157 |
| 7.2.5. Porównanie efektywności dodatku substancji o właściwościach przeciwutleniających w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia..... | 161 |
| 7.3. Wpływ dodatku przeciwutleniaczy na przedłużenie trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno w warunkach praktycznego składowania (warunki półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania) | 163 |
| 7.3.1. Konsumencka ocena pożądalności mieszanek olejowych | 163 |
| 7.3.2. Ocena różnicy sensorycznej między próbkami z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu oraz BHT a próbką kontrolną..... | 166 |
| 7.3.3. Ocena wpływu dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na cechy fizykochemiczne oleju lnianego przechowywanego w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania | 167 |
| 7.3.4. Ocena wpływu dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na cechy organoleptyczne oleju lnianego przechowywanego w warunkach półki sklepowej i konsumenckiego użytkowania | 175 |
| 8. Podsumowanie wyników i wnioski..... | 188 |
| Literatura..... | 195 |
| Wykaz tabel, wykresów i rysunków..... | 217 |

Wykaz używanych skrótów

| | |
|------------------------|--|
| BHT | butylohydroksytoluen |
| CLE | cyklolinopeptyd E |
| CLP | cyklolinopeptydy |
| CZ | olej z czarnuszki siewnej |
| DN | olej z pestek dyni |
| DPPH | 2,2-difenylo-1-pikrylhydrazyl |
| ECZ | ekstrakt z wyłoków nasion czarnuszki siewnej |
| EL | ekstrakt z wyłoków nasion lnu |
| ER | ekstrakt z rozmarynu |
| EW | ekstrakt z wyłoków nasion wiesiołka |
| FRAP | metoda oceny siły redukującej (ang. Ferric Reducing Antioxidant Power) |
| GAE | kwasy galusowe |
| k _{LOO} | stała szybkości reakcji utleniania |
| L (L1-L6) | olej lniany (próbki oleju lnianego od różnych producentów) |
| LA | liczba anizydynowa |
| LK | liczba kwasowa |
| LOO | liczba nadtlenkowa |
| meq O ₂ /kg | milirównoważniki aktywnego tlenu na kilogram |
| NNKT | niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe |
| OW | olej z orzecha włoskiego |
| PCL | pomiar fotochemiluminescencji |
| QDA | metoda profilowania smakowości |
| RZ | olej rzepakowy |
| s.m. | sucha masa |
| SDG | diglikozyd sekoizolaricirezinolu |
| SŁ | olej słonecznikowy |
| SPME | technika mikroekstrakcji do fazy stałej (ang. solid phase microextraction) |
| TAG | triacylglicerole |
| TBARS | substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym (ang. thiobarbituric acid reactive substances) |
| W | olej z wiesiołka |
| WKT | wolne kwasy tłuszczowe |

Wstęp

Badania postaw i zachowań nabywców na rynku żywności wskazują, że współcześni konsumenci zwracają coraz większą uwagę na spożywane produkty jako czynnik determinujący ich zdrowie. Obserwuje się wzrost świadomości konsumentów w obszarze roli i wpływu na zdrowie poszczególnych składników żywności oraz umiejętności identyfikowania, rozumienia informacji na opakowaniu, w tym oświadczeń zdrowotnych i żywieniowych. Przekłada się to na zainteresowanie produktami o właściwościach prozdrowotnych, które poza normalną funkcją żywieniową, wykazują dodatkowy pozytywny efekt objawiający się m.in. obniżaniem ryzyka wystąpienia chorób dietozależnych.

Obok trendu prozdrowotności, wśród zachowań polskich konsumentów na rynku żywności widoczna jest dbałość o jakość, w tym atrakcyjność sensoryczną i pochodzenie wybieranych produktów żywnościowych, co przekłada się na wzrost zainteresowania produktami tradycyjnymi i regionalnymi. Najprawdopodobniej jest to także wynik dążenia do utrzymania i podkreślenia tożsamości kulturowej.

Produktem o właściwościach prozdrowotnych i jednocześnie będącym produktem tradycyjnym, mającym silne powiązanie z województwem wielkopolskim, jest olej lniany tłoczony na zimno. Spośród olejów jadalnych, olej lniany charakteryzuje się najwyższą (na poziomie 50-60%) zawartością kwasu α -linolenowego, szczególnie podatnego na procesy oksydacyjne, co istotnie ogranicza trwałość i możliwości komercjalizacji tego oleju na szeroką skalę. Wprawdzie w roślinach oleistych występują rodzime związki o działaniu przeciwutleniającym, jednak nie wszystkie przechodzą do gotowego produktu podczas otrzymywania oleju. W związku z tym wiele prac badawczych poświęcono poszukiwaniu i analizie naturalnych surowców o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej, których dodatek do oleju opóźniłby przemiany oksydacyjne lipidów i w efekcie przedłużył trwałość produktu.

Utlenianie kwasów tłuszczowych może skutkować niepożądanymi zmianami zapachu i smaku, obniżeniem wartości odżywczej produktu, a także powstawaniem związków szkodliwych dla zdrowia. W przypadku oleju lnianego kluczową kwestią wydają się być zmiany cech organoleptycznych dyskwalifikujące produkt z punktu widzenia konsumenta, które jednocześnie wzbudzają obawy w zakresie bezpieczeństwa produktu. Mechanizm wzrostu intensywności gorzkości podczas przechowywania oleju lnianego nie został jednak ostatecznie wyjaśniony. Co więcej, w niewielu pracach konfrontowana jest ocena trwałości olejów na podstawie prowadzonych równolegle badań fizykochemicznych i sensorycznych.

Treść prezentowanej pracy została podzielona na dwie zasadnicze części. W części literaturowej pracy omówiono wybrane trendy w zachowaniach konsumentów na rynku żywności, w tym dotyczące żywności funkcjonalnej oraz produktów tradycyjnych, w które wpisuje się zainteresowanie konsumentów olejem lnianym. Następnie scharakteryzowano nasiona lnu jako źródło składników o właściwościach prozdrowotnych. Szczególną uwagę poświęcono olejowi lnianemu, stanowiącemu główny przedmiot pracy, ukazując jego właściwości oraz omawiając kwestie związane z wymaganiami jakościowymi, znakowaniem i zalecanymi warunkami przechowywania. W ostatnim rozdziale części literaturowej pracy skupiono się na trwałości olejów, charakteryzując procesy, jakim mogą ulegać lipidy podczas przechowywania, w tym prezentując aspekt zmian cech organoleptycznych oleju lnianego podczas składowania. W syntetyczny sposób dokonano przeglądu literatury na temat stosowanych przeciwutleniaczy w celu opóźnienia procesów oksydacyjnych w oleju lnianym.

W części doświadczalnej pracy przedstawiono cel pracy, hipotezy badawcze, zakres podjętych badań, materiał badawczy oraz metodykę badawczą. Następnie omówiono wyniki przeprowadzonych badań i na ich podstawie sformułowano wnioski.

Celem podjętych badań było przedłużenie trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno z wykorzystaniem substancji o właściwościach przeciwutleniających. Zakres pracy obejmował 3 etapy, których wyniki zaprezentowano kolejno w rozdziałach 7.1-7.3. W pierwszym etapie badań przeprowadzono analizę zmian jakościowych olejów lnianych na tle innych olejów roślinnych tłoczonych na zimno podczas przechowywania w warunkach praktycznego składowania. Ocena opierała się na badaniach fizykochemicznych oraz sensorycznych z wykorzystaniem przeszkolonego zespołu oceniającego. Następnie scharakteryzowano różne naturalne substancje pod kątem ich aktywności przeciwutleniającej, by w kolejnej fazie oznaczyć wpływ ich dodatku na zasięg zmian oksydacyjnych oleju lnianego stosując testy przyspieszonego starzenia. W trzecim etapie badań dokonano oceny stabilności próbek oleju lnianego z dodatkiem wybranego przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach praktycznego składowania z wykorzystaniem metod fizykochemicznych i sensorycznych.

CZEŚĆ LITERATUROWA

1. Prozdrowotność jako trend w zachowaniach konsumentów na rynku żywności

W świetle zmieniających się uwarunkowań społeczno-kulturowych, ekonomicznych i politycznych, które skutkują zmianami stylu życia, następuje wzrost zainteresowania jakością i bezpieczeństwem zdrowotnym żywności. Według Grunerta [2013] aspekty zdrowotne, wygoda i specyfika produkcji to najważniejsze trendy kształtujące rynek żywności w dzisiejszych czasach. Wielu konsumentów jest świadomych powiązania diety i zdrowia, a co za tym idzie aspekt zdrowotności, obok atrakcyjności sensorycznej, uznawany jest za istotną determinantę wyboru produktu i postrzegania jego jakości [Grunert 2005; Wądołowska, Babicz-Zielińska i Czarnocińska 2008].

Trend prozdrowotności żywności jest odzwierciedlony w wynikach badań europejskich, które ukazują, że coraz więcej konsumentów przy zakupie produktów spożywczych zwraca uwagę na obecność substancji bioaktywnych, które mają korzystny wpływ na organizm człowieka [Verbeke 2005]. Wśród składników żywności o właściwościach prozdrowotnych wyróżnić można: wielonienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy, błonnik pokarmowy, składniki mineralne, probiotyki, prebiotyki, fitosterole, aminokwasy [Świdorski 2006]. Trend prozdrowotny jest widoczny również w zachowaniach polskich konsumentów [Babicz-Zielińska i Zabrocki 2007; Wądołowska, Babicz-Zielińska i Czarnocińska 2008; Wądołowska i in. 2009]. W badaniach Sojkina [2012], przeprowadzonych na reprezentatywnej próbie (1800 i 1905 konsumentów), co piąty ankietowany uważa za innowacyjny produkt żywnościowy taki, który poddany został procedurom zmniejszającym zawartość składników niekorzystnych dla zdrowia lub taki, który został celowo wzbogacony w składniki wykazujące korzystne działanie. Obydwa kierunki modyfikacji produktów zostały pozytywnie ocenione przez ponad 83,0% respondentów. Co więcej, wraz z modyfikacją obejmującą umieszczenie na opakowaniu informacji o właściwościach prozdrowotnych, stanowią jeden z kluczowych wymiarów innowacji produktowych wskazywanych przez polskich konsumentów. Z kolei, w badaniach przeprowadzonych przez Wądołowską i współautorów [2008], w których wzięło udział 9339 polskich respondentów, wyróżniono 13 czynników *a posteriori* wyboru żywności. Największy procent zmienności był opisywany przez czynnik: wartość odżywcza warzyw i ich wpływ na zdrowie. Na podstawie analizy czynnikowej utworzono 4 modele

charakteryzujące konsumentów pod względem przyczyn zakupu żywności i stwierdzono, że 3 z nich związane są ze zdrowiem. 33,2% respondentów zakwalifikowano do grupy konsumentów podatnych na reklamę i poszukujących innowacyjnych produktów o właściwościach prozdrowotnych. Trend prozdrowotny, biorąc pod uwagę zarówno deklarację wyboru żywności, jak i preferencje oraz zachowanie zakupowe, był widoczny głównie wśród ankietowanych kobiet.

Z uwagi na fakt, że jedną z głównych przyczyn konsumpcji produktów z segmentu żywności funkcjonalnej jest pozytywne działanie na zdrowie i samopoczucie [Urala i Lahteenmaki 2004; Urala i Lahteenmaki 2007; Annunziata i Veccio 2011], ważną rolę w rozwoju tych produktów odgrywa wiedza konsumentów w zakresie wpływu na zdrowie poszczególnych składników zawartych w produktach żywnościowych [Verbeke 2005; Wansink, Westgren i Cheney 2005; Ostasz i Kondratowicz-Pietruszka 2011]. Badania postaw i zachowań konsumentów prowadzone przez Sojkina i in. [2009; 2012] na przestrzeni lat 2008-2011 ukazują rosnący poziom wiedzy polskich respondentów w ostatnich kilku latach w zakresie roli przede wszystkim kwasów tłuszczowych n-3 w zapewnieniu prawidłowego rozwoju organizmu i zachowaniu zdrowia (tabela 1).

Tabela 1. Ocena wpływu na zdrowie wybranych składników żywności [%]

| wpływ/rok | składnik | | | | | |
|-------------------|---------------------------|------|------------------------------|------|--------------------------|------|
| | kwasy tłuszczowe nasycone | | kwasy tłuszczowe nienasycone | | kwasy tłuszczowe omega-3 | |
| | 2008 | 2011 | 2008 | 2011 | 2008 | 2011 |
| korzystny | 16,7 | 20,7 | 28,5 | 34,7 | 40,1 | 65,3 |
| niekorzystny | 33,5 | 29,9 | 17,8 | 16,8 | 13,5 | 7,3 |
| trudno powiedzieć | 48,0 | 49,4 | 51,7 | 48,5 | 44,4 | 27,3 |

*liczba respondentów: 1566 (rok 2008) oraz 1905 (rok 2011)

**niektóre kolumny nie sumują się do 100% - oznacza to brak odpowiedzi

Źródło: opracowano na podstawie: [Sojkin i in. 2009; Sojkin 2012]

Dalsza edukacja konsumentów i wzrost ich świadomości w zakresie roli składników pożywienia, a także w obszarze rozumienia informacji zawartych na opakowaniu (w tym oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych) może ułatwić proces poszerzania oferty żywności funkcjonalnej i zwiększenia jej udziału w rynku.

Obok widocznego na rynku żywności trendu prozdrowotności, od kilkunastu lat w Europie można zauważyć zainteresowanie konsumentów żywnością tradycyjną i regionalną, jako wynik promowania przez Unię Europejską w krajach członkowskich kultywacji lokalnych tradycji i obyczajów. Polska ma znaczne możliwości wytwarzania

produktów regionalnych ze względu na tradycyjne rolnictwo, rodzinne gospodarstwa rolne, siłę roboczą na obszarach wiejskich, naturalne i bogate środowisko oraz zróżnicowane dziedzictwo kulturowe [Czarniecka-Skubina i Janicki 2009]. Jednocześnie polscy nabywcy coraz częściej poszukują żywności o wysokiej jakości, charakteryzującej się wyjątkowymi walorami sensorycznymi, z czym utożsamiana jest żywność tradycyjna [Żakowska-Biemans i Kuc 2009]. Przeprowadzone badania ukazują, że polscy konsumenci są nabywcami etnocentrycznymi, preferującymi produkcję rodzimą i podkreślającymi cechy pozytywne wyrobów pochodzenia krajowego [Szromnik i Wolanin-Jarosz 2013]. Jednakże postawa ta nie zawsze dotyczy wszystkich produktów. W badaniu przeprowadzonym przez Kędzior [2003] konsumenci przejawiali postawę etnocentryczną wobec produktów takich jak nabiał, słodycze i napoje alkoholowe (ok. 90% wskazań). Wykazano wpływ cech demograficznych na poziom etnocentryzmu konsumenckiego ankietowanych Polaków [Kędzior 2003; Sajdakowska 2003; Szromnik i Wolanin-Jarosz 2013].

W celu dostarczenia informacji o produkcie i wytwórcy, a także zapobiegania nieuczciwym praktykom producentów, stosuje się różnorodne systemy rejestracji, znakowania i certyfikacji żywności tradycyjnej oraz regionalnej. Chroni to konsumentów przed możliwością pomyłki i ułatwia im dokonanie wyboru podczas zakupów. Zagadnienia związane z rejestracją i ochroną produktów regionalnych, wytwarzanych tradycyjnymi metodami są określone w prawie Unii Europejskiej [Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1151/2012 z dnia 21 listopada 2012 r.]. Na szczeblu wspólnotowym nazwy produktów rolnych i środków spożywczych mogą być rejestrowane jako Chroniona Nazwa Pochodzenia oraz Chronione Oznaczenie Geograficzne, co podkreśla związek między jakością a miejscem pochodzenia produktów oraz jako Gwarantowana Tradycyjna Specjalność, która wyróżnia ich tradycyjną metodę produkcji.

W Polsce jednostką odpowiedzialną za prowadzenie odrębnego systemu rejestracji produktów o specyficznej, tradycyjnej jakości jest Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Na Listę Produktów Tradycyjnych mogą być wpisywane produkty rolne, środki spożywcze oraz napoje spirytusowe, zgodnie z Ustawą o rejestracji i ochronie nazw i oznaczeń produktów rolnych i środków spożywczych oraz o produktach tradycyjnych z dnia 17 grudnia 2004 [Ustawa z dnia 17 grudnia 2004], których jakość lub wyjątkowe cechy i właściwości wynikają ze stosowania tradycyjnych metod produkcji, stanowią element dziedzictwa kulturowego regionu, w którym są wytwarzane oraz są elementem tożsamości społeczności lokalnej. Wpis na Listę Produktów Tradycyjnych nie przyznaje żadnej ochrony produktom i ich nazwom, jak to ma miejsce w przypadku rejestracji zgodnie z rozporządzeniem unijnym

[Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1151/2012 z dnia 21 listopada 2012 r.], a jedynie informuje o spełnieniu przez produkt powyższych wymogów. Lista Produktów Tradycyjnych ma na celu rozpowszechnianie informacji o produktach wytwarzanych tradycyjnymi, historycznie ugruntowanymi metodami.

Obecnie w Polsce na Liście Produktów Tradycyjnych znajduje się 1223 produkty [stan na dzień: 18.02.2014], przy czym liczba artykułów cały czas wzrasta. W województwie wielkopolskim zarejestrowano dotychczas 89 produktów. Szczególne miejsce zajmują produkty z kategorii olejów i tłuszczów, w której w Wielkopolsce znajduje się najwięcej produktów w porównaniu z innymi województwami. Wśród nich m.in. wielkopolskie oleje: lniany tłoczony na zimno, z pestek dyni, rzepakowy oraz olej rydzowy.

Przykładem produktu o właściwościach prozdrowotnych, bogatym w m.in. wielonienasycone kwasy tłuszczowe i jednocześnie będącym produktem tradycyjnym, mającym silne powiązanie z regionem Wielkopolski, jest olej lniany tłoczony na zimno, który stanowi główny przedmiot niniejszej pracy.

1.1. Znaczenie żywieniowe i zdrowotne wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i zalecenia odnośnie do ich spożycia

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe są kluczowymi składnikami o udokumentowanym, korzystnym wpływie na zdrowie. Stanowią one składnik budulcowy błon komórkowych, są zaangażowane w metabolizm i transport cholesterolu, korzystnie wpływają na funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego i naczyń krwionośnych [Lawson 1985]. Wśród nich istotną grupę stanowią niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) należące, w zależności od położenia pierwszego podwójnego wiązania licząc od grupy metylenowej, do szeregu n-3 (ω -3), m.in.: kwas α -linolenowy (ALA; będący kwasem egzogennym), kwas eikozapentaenowy (EPA), kwas dokozaheksaenowy (DHA) lub do rodziny n-6 (ω -6), m.in.: kwas linolowy (LA; będący kwasem egzogennym) oraz kwas arachidonowy [Drozdowski 2007].

Organizm człowieka nie posiada zdolności syntetyzowania wiązań podwójnych w położeniu n-6 i n-3 łańcucha węglowego, ale może przebudować LA oraz ALA i tworzyć niewielkie ilości niektórych NNKT. Jest to możliwe dzięki aktywności enzymów: desaturaz - odpowiedzialnych za wprowadzanie wiązań podwójnych i elongaz - wydłużających łańcuch węglowy. W rezultacie z kwasu linolowego powstaje kwas arachidonowy, który ulega dalszym przemianom do eikozanoidów dienowych: leukotrienów oraz tromboksanów. Z kolei

kwas α -linolenowy jest substratem do produkcji kwasu EPA i DHA. Pod wpływem cyklooksygenazy kwas EPA jest przekształcany do prostaglandyn, prostacyklin i tromboksanów trienowych (np. PGI₃, TXA₃), konkurujących z wielokrotnie aktywniejszymi dienowymi produktami przemian kwasu arachidonowego. Rola eikozanoidów polega m.in. na regulacji czynności układu sercowo-naczyniowego, ciśnienia krwi, stężenia triacylogliceroli w osoczu, zapobieganiu tworzenia skrzepów wewnątrznaczyniowych oraz hamowaniu procesów zapalnych związanych z rozwojem miażdżycy [Watkins i German 2002].

Występują jednak różnice między aktywnością eikozanoidów, powstałych z różnych grup kwasów tłuszczowych. Eikozanoidy utworzone z kwasu arachidonowego charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną nawet w niewielkich ilościach, natomiast w nadmiarze stymulują zmiany zakrzepowe, zapalne i alergiczne, proliferację komórek (także nowotworowych). Dlatego nadmierne spożycie kwasów tłuszczowych n-6 uważane jest za niekorzystne, szczególnie przy małym spożyciu n-3. Eikozanoidy trienowe powstające z kwasów tłuszczowych n-3 wykazują znacznie łagodniejsze działanie i chronią organizm przed niepożądanymi skutkami nadmiernej aktywności eikozanoidów dienowych. EPA przyjmowany z dietą zastępuje część kwasu arachidonowego w fosfolipidach błon komórkowych stając się prekursorem syntezy eikozanoidów o działaniu przeciwzakrzepowym, przeciwzapalnym, hamującym kancerogenezę i nadmierną kurczliwość naczyń krwionośnych [Stołyhwo-Szpajer i in. 2001; Klurfeld 2002].

Kwasy z rodziny n-3 stanowią ważny składnik strukturalny siatkówki oka. DHA pełni istotną rolę funkcjonalną i ochronną w obrębie siatkówki: przyspiesza eliminację resztek lipidowych z fotoreceptorów, odpowiada za prawidłowy rozwój neuronów i fotoreceptorów w życiu płodowym, współuczestniczy w przemianach rodopsyny na wielu poziomach. Ponadto DHA zwiększa przeżycie fotoreceptorów, zmniejsza obszar uszkodzenia siatkówki w przebiegu niedotlenienia i niedokrwienia, zmniejsza wydzielanie prozapalnych cytokin, działa też przeciwzakrzepowo i przeciwmiażdżycowo w obrębie naczyń krwionośnych. Udowodniono pozytywny wpływ kwasu DHA i spożycia ryb na zmniejszenie ryzyka wystąpienia AMD (zwyrodnienie plamki związane z wiekiem) [San Giovanni i Chew 2005; Kowalski, Borucka i Szaflik 2008].

Wzrost ilości LA w diecie nasila metabolizm kwasów szeregu n-6 i działa hamująco na produkcję kwasów z rodziny n-3. Stąd też kluczowe znaczenie mają wzajemne proporcje LA i ALA w diecie, jednakże obserwuje się brak jednoznacznie określonych zaleceń [Marciniak-Lukasiak 2011]. Według FAO/WHO zalecany stosunek ilościowy polienowych

kwasów w zdrowej diecie w codziennym żywieniu to (5-10) : 1 (n-6 : n-3). Najnowsze badania wskazują, że optymalny profil spożywanych tłuszczów obejmuje niskie spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych oraz z szeregu n-6 oraz średnie spożycie kwasów z rodziny n-3 [de Lorgeril i Salen 2012].

Bogatym źródłem kwasów tłuszczowych długołańcuchowych (EPA i DHA) są ryby morskie (m.in. łosoś atlantycki, makrela, śledź, sardynka), ryby słodkowodne (m.in. pstrąg, węgorz), owoce morza (m.in. małże, homary, krewetki, ostrygi, kraby) oraz algi [Kolanowski 2008]. Jednakże badania rynku wykazują, że spożycie produktów rybnych w Polsce jest prawie o połowę niższe niż średnie spożycie w krajach Unii Europejskiej oraz poniżej średniej światowej [DGA 2011]. Kwas linolowy znajduje się w dużych ilościach w oleju słonecznikowym, kukurydzianym, z orzecha włoskiego, nasionach dyni oraz sezamu. Z kolei bogatym źródłem kwasu α -linolenowego są nasiona lnu, lnianki, nasiona i orzeszki roślin pochodzących z innych stref klimatycznych: pachnotki zwyczajnej, pachnotki brazylijskiej, szałwi hiszpańskiej. Mniejsze ilości zawarte są w orzechach włoskich, nasionach rzepaku i soi, ale z racji ich dużego spożycia, stanowią ważne jego źródło [Morris 2007; Mińkowski 2008; Ciftci, Przybylski i Rudzińska 2012].

Tabela 2. Zalecenia dotyczące spożycia tłuszczów i kwasów tłuszczowych

| składnik | | [Eurodiet 2000] | [EFSA 2010] |
|-------------------------------|-----|--|---|
| tłuszcze ogółem | | < 30%* | 20-35% |
| kwasy tłuszczowe nasycone | | < 10% | jak najniższe |
| kwasy tłuszczowe <i>trans</i> | | < 2% | |
| kwasy | n-6 | 4-8% | 4% |
| tłuszcze wielonienasycone | n-3 | 2 g kwasu α -linolenowego 200 mg długołańcuchowych | 0,5% kwasu α -linolenowego 250 mg EPA+DHA |

* wartości procentowe dotyczą udziału energii danego składnika w całodobowej racji pokarmowej
Źródło: opracowano na podstawie: [Eurodiet 2000; EFSA 2010]

Zgodnie z zaleceniami tłuszcze w diecie człowieka powinny dostarczać poniżej 30% energii w całodobowej racji pokarmowej. Wskazane jest ograniczanie spożywania kwasów tłuszczowych nasyconych na rzecz nienasyconych oraz unikania kwasów tłuszczowych *trans*. European Food Safety Authority [EFSA 2010] podaje, że zalecane dzienne spożycie ALA w krajach europejskich powinno wynosić 0,5% ogólnej kaloryczności diety, a długołańcuchowych kwasów n-3 (DHA i EPA) 250 mg (tabela 2). Z kolei w raporcie Eurodiet [2000] odnaleźć można zalecenie wynoszące 2 g kwasu α -linolenowego oraz 200 mg

kwasów długołańcuchowych. Nie określono górnego limitu spożycia kwasu α -linolenowego, uznając, że nie ma odpowiednich dowodów na jego niekorzystny wpływ na zdrowie.

1.2. Oświadczenia zdrowotne związane z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi

Oświadczenie zdrowotne oznacza każde oświadczenie, które stwierdza, sugeruje lub daje do zrozumienia, że istnieje związek pomiędzy kategorią żywności, daną żywnością lub jednym z jej składników, a zdrowiem [Rozporządzenie (WE) 1924/2006 z dnia 20 grudnia 2006 r.]. Zatwierdzone oświadczenia zdrowotne mogą być stosowane przez wszystkie podmioty działające na rynku spożywczym, pod warunkiem, że spełniają szczegółowe warunki ich stosowania oraz są zgodne z zasadami i wymaganiami rozporządzenia (WE) nr 1924/2006. Do wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym: ALA, LA, DHA, EPA, odnoszą się dwa rodzaje oświadczeń. Wśród nich znajdują się oświadczenia zdrowotne inne niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci (Artykuł 13 ust. 1 rozporządzenia (WE) nr 1924/2006), które są szczegółowo opisane w załączniku do rozporządzeń Komisji (UE) nr 432/2012 [Rozporządzenie Komisji (UE) 432/2012 z dnia 16 maja 2012r.] oraz nr 536/2013 zmieniającego rozporządzenie Komisji (UE) nr 432/2012 [Rozporządzenie Komisji (UE) 536/2013 z dnia 11 czerwca 2013 r.]. Drugą grupę stanowią oświadczenia zdrowotne odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci (Artykuł 14 ust. 1 rozporządzenia (WE) nr 1924/2006) (tabela 3).

Kilka z poniżej przedstawionych oświadczeń zdrowotnych mogłoby z powodzeniem znaleźć się na opakowaniu oleju lnianego tłoczonego na zimno. Olej lniany, będąc bogatym źródłem nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym kwasów omega-3, spełnia wymagania oświadczeń żywieniowych („wysoka zawartość tłuszczów nienasyconych” oraz „źródło kwasów tłuszczowych omega-3” [Rozporządzenie Komisji (UE) nr 116/2010 z dnia 9 lutego 2010 r.]), co stanowi warunek stosowania oświadczeń zdrowotnych. Co więcej, produkt ten zawiera odpowiednie ilości kwasu linolowego (ponad 1,5 g LA na 100 g i na 100 kcal produktu), by spełnić wymagania oświadczenia zdrowotnego dla tego kwasu. Umieszczenie oświadczenia zdrowotnego na opakowaniu oleju lnianego wymagałoby określenia warunków stosowania produktu, by zapewnić spodziewany efekt funkcjonalny.

Tabela 3. Oświadczenia zdrowotne związane z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi

| składnik odżywczy, substancja | oświadczenie | warunki stosowania oświadczenia, warunki lub ograniczenia stosowania danej żywności, dodatkowe wyjaśnienia lub ostrzeżenia |
|---|--|---|
| <i>Oświadczenia zdrowotne inne niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci zgodnie z artykułem 13 ust. 1 rozporządzenia (WE) nr 1924/2006**</i> | | |
| jedno- lub wielonienasycone kwasy tłuszczowe | zastępowanie w diecie tłuszczów nasyconych tłuszczami nienasyconymi pomaga w utrzymaniu prawidłowego poziomu cholesterolu we krwi (..) | dla żywności o wysokiej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych zgodnie z oświadczeniem* „wysoka zawartość tłuszczów nienasyconych” |
| kwasy α-linolenowy (ALA) | ALA pomaga w utrzymaniu prawidłowego poziomu cholesterolu we krwi | dla żywności będącej przynajmniej źródłem ALA, zgodnie z oświadczeniem* „źródło kwasów tłuszczowych omega-3”; korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 2 g ALA dziennie |
| kwasy linolowy (LA) | LA pomaga w utrzymaniu prawidłowego poziomu cholesterolu we krwi | dla żywności zawierającej przynajmniej 1,5g kwasu linolowego (LA) na 100g i na 100kcal; korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 10g LA dziennie |
| kwasy dokozaheksaenowy (DHA) | DHA przyczynia się do utrzymania prawidłowego funkcjonowania mózgu | dla żywności, która zawiera przynajmniej 40mg DHA na 100g i na 100kcal; korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 250 mg DHA dziennie |
| | DHA przyczynia się do utrzymania prawidłowego widzenia | |
| | DHA pomaga w utrzymaniu prawidłowego poziomu trójglicerydów we krwi | dla żywności zapewniającej spożycie 2g DHA dziennie i zawierającej DHA w połączeniu z kwasem eikozapentaenowym (EPA); korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 2 g DHA dziennie; nie należy przekraczać poziomu uzupełniającego dziennego spożycia wynoszącego 5 g EPA i DHA łącznie; oświadczenia nie wolno stosować w odniesieniu do żywności przeznaczonych dla dzieci |
| kwasy eikozapentaenowy/ kwasy dokozaheksaenowy (EPA/ DHA) | EPA i DHA przyczyniają się do prawidłowego funkcjonowania serca | dla żywności będącej przynajmniej źródłem EPA i DHA zgodnie z oświadczeniem* „źródło kwasów tłuszczowych omega-3”; korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 250 mg EPA i DHA dziennie |

| | |
|---|---|
| DHA i EPA pomagają w utrzymaniu prawidłowego ciśnienia krwi | dla żywności zapewniającej spożycie 3g EPA i DHA dziennie; korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 3g EPA i DHA dziennie; nie należy przekraczać poziomu uzupełniającego dziennego spożycia wynoszącego 5g EPA i DHA łącznie; oświadczenia nie wolno stosować w odniesieniu do żywności przeznaczonej dla dzieci |
| DHA i EPA pomagają w utrzymaniu prawidłowego poziomu trójglicerydów we krwi | dla żywności zapewniającej spożycie 2g EPA i DHA dziennie; korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 2g EPA i DHA dziennie; nie należy przekraczać poziomu uzupełniającego dziennego spożycia wynoszącego 5g EPA i DHA łącznie; oświadczenia nie wolno stosować w odniesieniu do żywności przeznaczonej dla dzieci |

Oświadczenia zdrowotne odnoszące się do rozwoju i zdrowia dzieci zgodnie z artykułem 14 ust. 1 lit. b) rozporządzenia (WE) nr 1924/2006

| | | |
|---|---|--|
| kwask dokozaheksaenowy (DHA) *** | DHA wspomaga prawidłowy rozwój wzroku u niemowląt do 12 miesiąca życia | 100 mg DHA dziennie. Jeśli oświadczenie dotyczy preparatu do dalszego żywienia niemowląt, żywność musi zawierać przynajmniej 0,3% kwasów tłuszczowych ogółem w postaci DHA |
| | DHA wspomaga prawidłowy rozwój oczu u płodu i niemowląt karmionych piersią | dla żywności zapewniającej codzienne pobranie przynajmniej 200 mg DHA; korzystne działanie występuje w przypadku spożywania 200 mg DHA dziennie ponad zalecane codzienne spożycie kwasów tłuszczowych omega-3 dla dorosłych, tj.: 250 mg DHA i EPA |
| | DHA wspomaga prawidłowy rozwój mózgu u płodu i niemowląt karmionych piersią | |
| kwask α-linolenowy i kwask linolowy (ALA i LA)**** | niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe są potrzebne dla prawidłowego wzrostu i rozwoju dzieci | 2g kwasu α-linolenowego (ALA) i codziennego spożycia 10g kwasu linolowego (LA) |

*oświadczenia żywieniowe są zdefiniowane w załączniku do [Rozporządzenie Komisji (UE) nr 116/2010 z dnia 9 lutego 2010 r.]

Źródło: opracowano na podstawie:

** [Rozporządzenie Komisji (UE) 432/2012 z dnia 16 maja 2012r.; Rozporządzenie Komisji (UE) 536/2013 z dnia 11 czerwca 2013 r.]

***[Rozporządzenie Komisji (UE) nr 440/2011 z dnia 6 maja 2011 r.]

**** [Rozporządzenie Komisji (UE) nr 376/2010 z dnia 3 maja 2010 r.; Rozporządzenie Komisji nr 983/2009 z dnia 21 października 2009 r.]

2. Nasiona lnu (*Linum usitatissimum* L.)

Len jest jedną z najstarszych znanych roślin uprawnych. Należy do rodziny *Linaceae*, rodzaju *Linum*, do którego należy około 200 gatunków, z których tylko jeden - len zwyczajny (*Linum usitatissimum* L.) jest gatunkiem uprawnym o znaczeniu gospodarczym. Obecnie uprawiane są 2 formy użytkowe lnu - len oleisty (*Linum usitatissimum* L. var. *brevimulticaulis* Vav.) oraz włóknisty (*Linum usitatissimum* L. var. *elongatum* Vav.). Formy oleiste wykazują wysoki plon nasion oraz zdecydowanie większą masę tysiąca nasion (MTN) niż formy włókniste. Ponadto, cechują się włóknem słabej jakości, które nie nadaje się do celów przędzalniczych. Wśród zarejestrowanych w Polsce odmian lnu oleistego wyróżnić można cztery: Bukoz, Jantarol, Oliwin i Szafir o zróżnicowanych cechach botanicznych i technologicznych (tabela 4) [Kozłowski 2006; Zając i in. 2010; 2011].

Tabela 4. Charakterystyka botaniczna i technologiczna polskich odmian lnu oleistego

| odmiana | barwa kwiatu | barwa nasion | MTN [g] |
|----------------------|----------------|--------------|---------|
| Bukoz | białoniebieska | brązowa | 7,3 |
| Jantarol | biała | żółta | 7,4 |
| Oliwin | fioletowa | żółta | 7,8 |
| Szafir (HR Strzelce) | niebieska | brązowa | 8,3 |

MTN - masa tysiąca nasion

Źródło: opracowano na podstawie [Kozłowski 2006]

2.1. Areal uprawy lnu

Len oleisty uprawiany jest w krajach klimatu suchego i ciepłego lub umiarkowanego, głównie w Indiach, Chinach oraz Kanadzie. W ostatnich latach do krajów z największą powierzchnią uprawy lnu dołączyła Rosja i Kazachstan, w których areal uprawy od 2008 roku wzrósł ponad sześciokrotnie, i w 2011 roku stanowił ponad 40% światowej powierzchni uprawy lnu (tabela 5). Przez wiele dziesięcioleci Kanada była uznawana za głównego producenta i eksportera siemienia lnianego. Jednakże w 2010 roku nastąpił prawie dwukrotny spadek produkcji, który nadal utrzymuje się [Faostat 2011].

W 2011 roku areal uprawy lnu na świecie wyniósł 2,24 mln ha, z czego 33,4% światowej powierzchni przypadło na kraje europejskie. Istotny wzrost (2,75-krotny w stosunku do roku 2008) uprawy lnu w Europie może być wynikiem zmniejszenia areалу uprawy lnu oleistego w Kanadzie oraz wzrostu cen na importowane do UE nasiona. Ponadto,

obserwuje się zwiększenie zapotrzebowania na siemię lniane w krajach UE, które wykorzystywane jest do produkcji pasz, suplementów diety, oleju jadalnego i innych wartościowych surowców i produktów zawierających wysoki poziom nienasyconych kwasów tłuszczowych. Wzrost uprawy lnu w Europie może być również efektem docenienia znaczenia lnu w płodozmianie jako rośliny korzystnie wpływającej na zdolność plonowania innych roślin [Heller i Wielgusz 2011].

Tabela 5. Uprawa lnu w wybranych krajach, na świecie oraz w Europie w 2011 roku

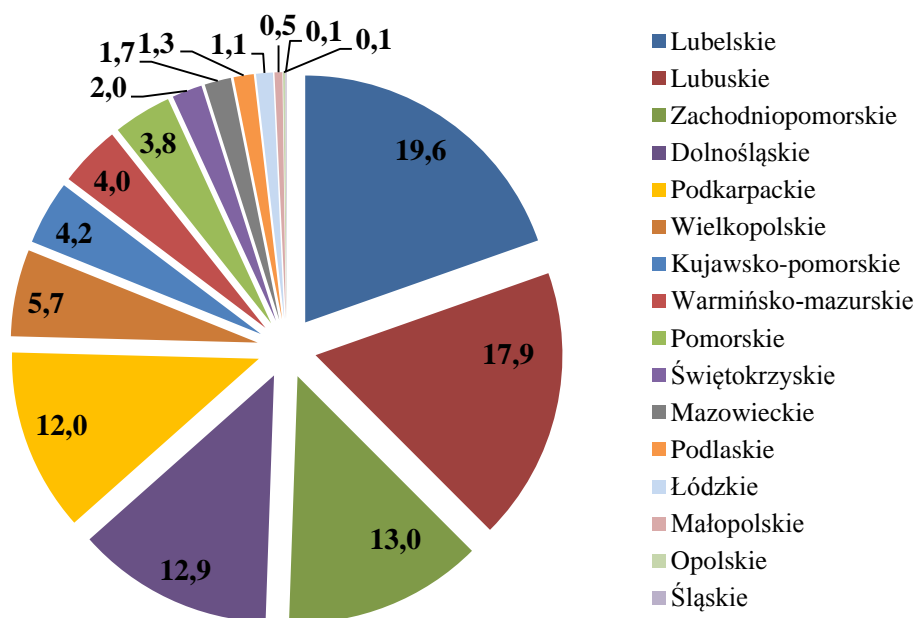
| | areal [ha] | procent światowego arealu [%] | produkcja [tony] | procent światowej produkcji [%] | nasiona [tony] | procent światowego zbioru [%] |
|------------|------------|-------------------------------|------------------|---------------------------------|----------------|-------------------------------|
| Rosja | 558300 | 25,0 | 369043 | 17,8 | 15000 | 16,7 |
| Kazachstan | 370000 | 16,5 | 158000 | 7,6 | 2000 | 2,2 |
| Indie | 338810 | 15,1 | 147000 | 7,1 | 650 | 0,7 |
| Chiny | 322100 | 14,4 | 358641 | 17,3 | 22750 | 25,4 |
| Kanada | 273200 | 12,2 | 368300 | 17,7 | 15000 | 16,7 |
| Etiopia | 116541 | 5,2 | 112761 | 5,4 | 2914 | 3,2 |
| USA | 70010 | 3,1 | 70890 | 3,4 | 8662 | 9,7 |
| Świat | 2237346 | 100,0 | 2076241 | 100,0 | 89695 | 100,0 |
| Europa | 747771 | 33,4 | 698697 | 33,7 | 32507 | 36,2 |

Źródło: opracowano na podstawie [Faostat 2011]

Roczne zapotrzebowanie na nasiona lnu oleistego w krajach UE utrzymuje się na poziomie 0,6 mln ton, z czego ok. 75% wykorzystywanych jest jako siemię mielone, ok. 20% na pasze, a pozostałe ok. 5% jako składnik żywności. Z uwagi na niewystarczającą produkcję na terenie krajów Unii Europejskiej, nasiona lnu są w dużej mierze importowane [Heller, Wielgusz i Byczyńska 2011].

Dobrym miernikiem pozycji gospodarczej w produkcji lnu jest wielkość zbioru nasion. W 2011 roku największy zbiór nasion lnu zaobserwowano w Chinach, a następnie w Kanadzie i Rosji, USA i Etiopii (tabela 5). Wielkość zbioru nasion w Europie w 2001 roku (25 231 ton, co stanowi 22%-owy udział w światowych zbiorach nasion lnu) wskazywała na stosunkowo niskie plony, na co prawdopodobnie wpływał duży udział w uprawie formy włóknistej lnu, dającej mały plon nasion w formie plonu ubocznego. W 2011 roku wielkość zbioru nasion w Europie wzrosła do 32 507 ton (36,2% udział w światowym zbiorze nasion lnu), co może być powiązane ze wzrostem zainteresowania uprawą lnu oleistego w krajach europejskich [Faostat 2001; Faostat 2011].

Według GUS [2011] powierzchnia uprawy lnu w Polsce w 2010 roku wyniosła 4,0 tys. ha (w tym lnu oleistego - ponad 3,4 tys. ha, lnu włóknistego - ponad 0,5 tys. ha). W 2010 roku uprawą lnu i konopi zajmowało się w Polsce ok. 1,0 tys. gospodarstw rolnych, z czego ok. 0,7 tys. hodowało len oleisty. Wśród jednostek uprawiających len dominowały małe gospodarstwa rolne o powierzchni uprawy nie przekraczającej 1 ha oraz te, w których powierzchnia wynosiła 2 ha i więcej. Średnio w jednym gospodarstwie rolnym uprawiającym len powierzchnia zasiewów wyniosła 4,45 ha, z tego w gospodarstwach rolnych sektora prywatnego 4,43 ha, a w gospodarstwach rolnych sektora publicznego 5,75 ha. Najwięcej gospodarstw rolnych zajmujących się uprawą lnu i konopi zanotowano w województwach: lubelskim oraz lubuskim, nieco mniej w zachodniopomorskim, dolnośląskim oraz podkarpackim (rysunek 1).



Rysunek 1. Udział gospodarstw rolnych zajmujących się uprawą lnu i konopi w 2010 roku według województw [%]

Źródło: opracowano na podstawie [GUS 2011]

Biorąc pod uwagę hodowlę roślin oleistych w Polsce uprawa lnu klasyfikuje się na trzecim miejscu za uprawą rzepaku oraz słonecznika. Powierzchnia uprawy rzepaku w 2011 roku wyniosła 830149 ha, co stanowiło 98% ogólnej powierzchni zasiewów roślin oleistych w Polsce (tabela 6).

Tabela 6. Uprawa wybranych roślin oleistych w Polsce w 2011 roku

| | rodzaj uprawy | | | | |
|--------------------------|---------------|-------|-------|------------|---------|
| | konopie | soja | len | słonecznik | rzepak |
| powierzchnia uprawy [ha] | 54 | 208 | 2162 | 2775 | 830149 |
| produkcja [tony] | 27 | 331 | 2611 | 5179 | 1861807 |
| nasiona [tony] | 5 | b.d. | 49 | b.d. | 72031 |
| plon [hektogram/ha] | 5000 | 15913 | 12077 | 18663 | 22427 |

b.d. - brak danych

Źródło: opracowano na podstawie [Faostat 2011]

Analizując areal uprawy lnu w Polsce od 1961 roku zauważyć można widoczny spadek powierzchni uprawy po 1989 roku, co mogło być spowodowane transformacją ustrojową ukierunkowaną na budowę wolnego rynku. Ponadto inną przyczyną mniejszego zainteresowania hodowlą lnu mogła być duża pracochłonność, stosunkowo niewielki stopień zmechanizowania prac związanych z uprawą, przy niedostatecznie zorganizowanym zbycie uzyskanej produkcji [Faostat 2011]. Poczynając od 2000 roku, w którym znacznie ograniczono areal uprawy formy włóknistej lnu, plony nasion zaczęły znacząco rosnać. W 2005 roku w Polsce uzyskano największy plon nasion, porównywalny z poziomem plonów w Niemczech [Zajac i in. 2010].

2.2. Skład chemiczny nasion lnu i rola w żywieniu

Nasiona lnu są bogate w tłuszcz, białko i błonnik pokarmowy (tabela 7) i stanowią produkt o wysokiej wartości energetycznej (ok. 510 kcal/ 100g). Procentowy skład chemiczny nasion może różnić się w zależności od odmiany, warunków uprawy i sposobu przetwarzania.

Tabela 7. Skład chemiczny nasion lnu [%]

| zawartość | | | | | literatura |
|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------------|----------------------------------|
| woda | tłuszcz | białko | błonnik | składniki mineralne | |
| 7,4 | 45,2 | 23,4 | - | 3,5 | [Mueller i in. 2010] |
| 4,0-8,0 | 30,0-40,0 | 20,0-25,0 | 20,0-28,0 | 3,0- 4,0 | [Coskuner i Karababa 2007] |
| 7,7 | 41,0 | 20,0 | 28,0 | 3,3 | [Canadian Grain Commission 2001] |
| 7,1-8,3 | 31,9-37,8 | 26,9-31,6 | 36,7-46,8 | - | [Hettiarachchy i in. 1990] |

Źródło: wg różnych autorów

Ze względu na zawarte składniki len wykazuje właściwości prozdrowotne, lecznicze i znalazł zastosowanie m.in. w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym, paszowym oraz jako składnik suplementów diety i żywności funkcjonalnej. Nasiona lnu i produkty pochodne

(olej, wytloki) wywierają korzystny wpływ na zdrowie poprzez działanie m.in. antyzapalne, przeciwutleniające, hipocholesterolemiczne, przeciwnowotworowe, obniżają ryzyko wystąpienia chorób układu krążenia, otyłości, a także pomagają kontrolować poziom glukozy u diabetyków, co zostało opisane w literaturze tematu [Carter 1993; Barowicz i Kędzior 2000; Oomah 2001; Rubilar i in. 2010; Singh i in. 2011; Carraro i in. 2012; Sielicka 2012; Ganorkar i Jain 2013].

Poniżej omówiono poszczególne składniki nasion lnu i ich znaczenie żywieniowe. Szczegółowa analiza frakcji tłuszczowej znajduje się w podrozdziale 2.3.2.

Białka

Zawartość białka w nasionach lnu waha się w granicach 20,0-31,6% (tabela 7). 76% białek lnu umiejscowionych jest w liścieniu, a 16% w bielmie i okrywie nasiennej. Globuliny stanowią około $\frac{3}{4}$ masy białka w nasionach, a pozostałą część albuminy. Ze względu na skład aminokwasowy białka nasiona lnu są porównywane do nasion soi (tabela 8) [Oomah 2003; Czech i in. 2012].

Tabela 8. Skład aminokwasowy białka [g/16g N] nasion lnu i soi

| aminokwas | nasiona lnu | nasiona soi |
|------------------|--------------------|--------------------|
| alanina | 4,8 | 4,8 |
| arginina | 11,5 | 6,2 |
| kw. asparaginowy | 9,2 | 8,3 |
| cysteina | 3,3 | bd |
| kw. glutaminowy | 16,7 | 14,5 |
| glicyna | 6,4 | 4,0 |
| histydyna | 2,7 | 2,2 |
| izoleucyna | 4,8 | 4,1 |
| leucyna | 6,7 | 6,5 |
| lizyna | 4,4 | 5,5 |
| metionina | 1,5 | 1,0 |
| fenyloalanina | 5,1 | 4,3 |
| prolina | 3,6 | bd |
| seryna | 4,9 | 3,8 |
| treonina | 3,4 | 3,2 |
| tryptofan | 0,5 | bd |
| tyrozyna | 2,2 | 2,2 |
| walina | 5,7 | 4,1 |

Źródło: opracowano na podstawie [Czech i in. 2012]

Białka lnu są stosunkowo bogate w argininę, kwas asparaginowy i glutaminowy. Z uwagi na występowanie aminokwasów ograniczających, t.j. lizyny, metioniny i cysteiny uważane są za białka niepełnowartościowe. Całkowita zawartość azotu w nasionach lnu wynosi 3,25 g/100 g lnu. W porównaniu z innymi roślinami oleistymi w nasionach lnu występują także duże ilości składników azotowych niebiałkowych [Wanasundara i Shahidi 1994; Singh i in. 2011].

Białka lnu wykazują wysoki wskaźnik strawności (85%), co powoduje, że odolejony wyciek stanowi bardzo wartościowy składnik pasz dla zwierząt, a także mógłby stać się dodatkiem funkcjonalnym do żywności, podobnie jak proteiny sojowe [Chung, Lei i Li-Chan 2005; Singh i in. 2011].

W przeciwieństwie do ziarna pszenicy, owsa, jęczmienia i żyta, nasiona lnu nie zawierają glutenu [Aubrecht i in. 1998], dlatego też dla osób dotkniętych nietolerancją glutenu (celiaką) jest to produkt bezpieczny żywieniowo. Podjęto próbę wykorzystania zmielonych nasion lnu do wypieku pieczywa bezglutenowego, zastępując skrobię kukurydzianą i ziemniaczaną siemieniem lnianym w ilości 7,5-12,5% jej masy [Gambuś 2005]. Dodatek zmielonych nasion lnu spowodował istotny wzrost objętości pieczywa, nie pogarszając wydajności i cech organoleptycznych chlebów oraz ograniczył twardnienie miękkiszu podczas przechowywania w odniesieniu do chleba bezglutenowego bez dodatku nasion lnu.

Błonnik pokarmowy

Nasiona lnu zawierają 20,0-46,8% błonnika pokarmowego (tabela 7), z czego jedna czwarta przypada na frakcję rozpuszczalną w wodzie (głównie gumy i śluzy, tworzące żelowane agregaty polisacharydów), a trzy czwarte na nierozpuszczalną (głównie celulozę, ligniny i inne polisacharydy nieskrobiowe) [Hettiarachchy i in. 1990; Warrand i in. 2005]. Zawartość błonnika w siemieniu lnianym jest zdecydowanie wyższa niż w roślinach strączkowych, w których wynosi 5-10% (w produktach gotowanych) [Morris 2001].

Na szczególną uwagę zasługuje frakcja błonnika pokarmowego rozpuszczalna w wodzie stanowiąca 6-8% suchej masy nasion. Śluzy składają się z dwóch frakcji: neutralnych arabinoksylianów (75%) oraz kwaśnych ramnogalakturonianów (25%). W skład arabinoksylianów wchodzi: ksylozy, arabinozy, galaktozy, a ramnogalakturoniany są złożone z: D-galaktozy, L-ramnozy, L-fruktozy i kwasu D-galakturonowego [Mazza i Biliaderis 1989; Singh i in. 2011]. Spożywanie siemienia lnianego, z uwagi na antyhipercholesterolemiczne, antynowotworowe właściwości oraz możliwość kontroli poziomu glukozy we krwi przez

polisacharydy lniane, może zapobiegać lub zmniejszać ryzyko wystąpienia różnych chorób, takich jak cukrzyca, nefropatia toczeniowa, miażdżyca i nowotwory hormonozależne [Williams i in. 2007; Bilek i Turhan 2009]. Lucas i in. [2004] wykazali, że włączenie śluzu lnianego i kwasu α -linolenowego do diety spowodowało spadek zawartości cholesterolu w plazmie oraz obniżenie tempa zmian miażdżycowych. Ponadto, spożywanie nasion lnu bogatych w błonnik pokarmowy, korzystnie wpływa na perystaltykę jelit, przemianę materii oraz zwiększa uczucie sytości i jednocześnie ułatwia ograniczenie ilości przyjmowanych pokarmów [Ibrügger i in. 2012]. Z tego względu zmielone nasiona lnu znalazły zastosowanie w płatkach śniadaniowych, herbatnikach, krakersach, bułkach, chlebach, batonach błonnikowych, ciastach, napojach śniadaniowych, zupach [Carter 1993]. Badania Jenkins, Kendall i Vidgen [1999] pokazały, że 25% dodatek częściowo odtłuszczonych nasion lnu obniżył indeks glikemiczny chleba o 28% w porównaniu do produktu bez dodatku.

Mazza i współautorzy [1989; 1992] wykazali, że rozpuszczalność, właściwości pniące, reologiczne oraz chemiczne gum otrzymanych z nasion lnu są zbliżone do właściwości gumy arabskiej, stosowanej w przemyśle spożywczym jako stabilizator. Stwierdzono, że gumy lniane mogą poprawiać lepkość, szczególnie przy pH 6-8 oraz pomagać w utrzymaniu stabilnej piany przy dodatku 1% (m/V). Dodatek gum lnianych poprawia parametry jakościowe chleba, zwiększa absorpcję wody w chlebie, jednocześnie zwiększając objętość bochenka oraz wykazuje obiecujące właściwości jako zagęszczacz i polepszacz w produktach piekarniczych [Garden 1993].

Witaminy i składniki mineralne

Nasiona lnu zawierają niewielkie ilości witamin i składników mineralnych. Wśród witamin z grupy B obecne są t.j.: tiamina (B1), ryboflawina (B2), niacyna (B3), kwas pantotenowy (B5), pirydoksyna (B6), kwas foliowy i biotyna (B7). Spośród witamin rozpuszczalnych w tłuszczu, na szczególną uwagę zasługują tokoferole, omówione w rozdziale 2.3.2.

Wśród składników mineralnych dominuje fosfor, potas, magnez i mangan. Spożycie siemienia lnianego w ilości około 1-2 łyżek stołowych w ograniczonym stopniu pokrywa zapotrzebowanie organizmu na witaminy i składniki mineralne (tabela 9).

Tabela 9. Wybrane witaminy i składniki mineralne zawarte w nasionach lnu a dzienne zalecane spożycie (RDA)

| składnik | mg/100g nasion | mg/łyżka stołowa siemienia (10g) | % RDA przy spożyciu 1 łyżki stołowej siemienia |
|-------------------|----------------|----------------------------------|--|
| kwask askorbinowy | 0,5 | 0,05 | 0,1 |
| tiamina | 0,53 | 0,05 | 4,8 |
| ryboflawina | 0,23 | 0,02 | 1,6 |
| niacyna | 3,21 | 0,32 | 2,0 |
| pirydoksyna | 0,61 | 0,06 | 4,4 |
| kwask pantotenowy | 0,57 | 0,06 | 1,0 |
| kwask foliowy | 0,11 | 0,01 | 5,6 |
| biotyna | 0,01 | 0,00 | 1,2 |
| wapń | 236 | 23,60 | 3,0 |
| miedź | 1 | 0,10 | 5,0 |
| magnez | 431 | 43,10 | 11,5 |
| mangan | 3 | 0,30 | 15,0 |
| fosfor | 622 | 62,20 | 8,9 |
| potas | 831 | 83,10 | 4,2 |
| sód | 27 | 2,70 | 0,1 |
| cynk | 4 | 0,40 | 4,0 |

Źródło: opracowano na podstawie [Morris 2007] i [Dyrektywa 2008/100/WEz dnia 28 października 2008 r.]

Związki fenolowe

Związki fenolowe to wtórne metabolity roślinne o zróżnicowanej strukturze chemicznej i właściwościach, które wykazują aktywność przeciwutleniającą, przerywając wolnorodnikową reakcję łańcuchową (jako przeciwutleniacze pierwotne) lub chelatując prooksydacyjne jony metali oraz hamując aktywność enzymów utleniających (jako przeciwutleniacze wtórne) [Yanishlieva-Maslarova 2001; Shahidi i Naczek 2004]. Z uwagi na właściwości profilaktyczne związków fenolowych, takie jak przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe, przeciwzapalne, hipolipidemiczne i hipoglikemiczne, w ostatnich latach w kręgu zainteresowań badawczych znalazły się rośliny oleiste zawierające te związki [Hao i Beta 2012; Alu'datt i in. 2013]. Wśród nich jest len, w którym zawartość związków fenolowych oznaczona została w zakresie od 537 do 1815 mg/100 g nasion [Oomah i Mazza 1997]. Bozan i Temelli [2008] oznaczyli zawartość związków fenolowych w ekstraktach odtłuszczonych nasion na poziomie 1670 mg/100g, przy czym 77% była w formie zestryfikowanej.

W nasionach lnu wykryto trzy główne grupy związków fenolowych: kwasy fenolowe, flawonoidy i lignany. Wśród kwasów fenolowych, zidentyfikowano m.in. kwas ferulowy, kwas chlorogenowy, kwas galusowy oraz kwas 4-hydroksybenzoesowy [Terpinc i in. 2012].

Zawartość kwasów fenolowych w wyciekach lnianych waha się od około 130 do 220 mg/100 g, w przeliczeniu na kwas ferulowy [Wanasundara i Shahidi 1994].

Zawartość flawonoidów w nasionach lnu wynosi 35-71 mg/100 g, przy czym dominują C- i O- glikozydy flawonowe [Shahidi i Naczek 2004]. Choo, Birch i Dufour [2007] oznaczyli w 7 olejach lnianych ich zawartość na poziomie 12,7-25,6 mg/ 100g w przeliczeniu na luteolinę. Całkowita zawartość flawonoidów w oleju lnianym jest niższa niż w nasionach lnu, co wynika z hydrofilowej natury tych związków, a co za tym idzie ich nieefektywnej ekstrakcji do frakcji lipidowej.

Nasiona lnu są bogatym źródłem lignanów, naturalnych związków z grupy fitoestrogenów (100-2600 mg diglikozydu sekoizolaricirezinolu/100 g), gdyż ich zawartość jest 47 razy wyższa niż w nasionach sezamu i 600 razy niż w czosnku [Muir 2006; Thompson i in. 2006]. Dominującym lignanem lnu jest sekoizolaricirezinol (SECO) [2,3-di-(metoksy- 4-hydroksybenzyl) butan-1,4-diol], który występuje w formie diglikozydu sekoizolaricirezinolu (SDG) (98% lignanów). Pozostałe lignany, m.in. izolaricirezinol, pinorezinol, matarezinol, znajdują się w śladowych ilościach [Daun i in. 2003]. Zdrowotne właściwości lignanów wynikają z ich strukturalnego podobieństwa do 17- β -estradiolu oraz właściwości antyoksydacyjnych [Toure i Xueming 2010]. Lignany wykazują aktywność biologiczną podobną do żeńskich hormonów płciowych - estrogenów. Po spożyciu, pod wpływem mikroflory jelitowej, ulegają przemianom enzymatyczno-metabolicznym do enterolignanów, czyli związków o budowie bardzo podobnej do estrogenów (w tym do enterodiolu oraz enterolaktonu) [Clavel i in. 2006]. Enterolignany mają możliwość kształtowania pro- lub przeciwestrogenowej reakcji w tkankach reagujących na estrogeny i w efekcie pomagają w organizmach kobiet łagodzić skutki niedoboru bądź nadmiaru estrogenów [Mueller i in. 2004]. Zachwianie odpowiedniego poziomu estrogenów może istotnie wpływać na samopoczucie, jak również sprzyjać rozwojowi chorób hormonozależnych m.in. nowotworów piersi, jajnika i macicy. Lignany lniane są doskonałą alternatywą dla kobiet nie mogących spożywać produktów pochodzenia sojowego zawierających fitoestrogeny: genisteinę i daidzeinę.

Lignany wykazują właściwości przeciwnowotworowe oraz antywirusowe, wpływają na ekspresję genów (aktywację) oraz mogą ochraniać organizm przed estrogenozależnymi chorobami, takimi jak osteoporoza [Benassayag, Perrot-Applanat i Ferre 2002]. Ponadto, dieta bogata w lignany może zmniejszyć ryzyko powstawania m.in. mięśniaków u kobiet w średnim wieku [Atkinson i in. 2006], raka piersi u kobiet [Touillaud i in. 2007] oraz raka prostaty u mężczyzn [Hedelin i in. 2006].

Badania potwierdzają, że SDG jest silnym przeciwutleniaczem, który dezaktywuje wolne rodniki, w szczególności rodniki hydroksylowe ($\bullet\text{OH}$) [Prasad 1997; Hedelin i in. 2006]. Ponadto, Kitts i in. [1999] wykazali właściwości antyoksydacyjne enterolignanów (enterodiolu oraz enterolaktonu) *in vitro* w tłuszczowym i wodnym układzie modelowym, dzięki którym organizm może być chroniony przed miażdżycą i innymi chorobami układu sercowo-naczyniowego.

Podczas tłoczenia lignany praktycznie nie przechodzą do oleju lnianego, pozostając w dużej mierze w wytloku. Bravi i in. [2011] oznaczyli zawartość SDG w świeżym oleju lnianym na poziomie 0,4 mg/100g, co stanowi prawie tysięczną część jego zawartości w porównaniu z zawartością w nasionach. Podczas przechowywania przez 8 miesięcy w warunkach praktycznego składowania zawartość lignanów spadła praktycznie do zera. Równolegle zmniejszała się zawartość związków fenolowych ogółem. Z kolei wzrost pierwotnych produktów utleniania był niewielki, co możnaby tłumaczyć ochronnymi właściwościami natywnych substancji o działaniu przeciwutleniającym.

Podjęto próby dodatku lignanów do oleju lnianego. Jednakże z uwagi na hydrofilowy charakter SDG, diglikozyd sekoizolaricirezinolu opadał na dno opakowania [Westcott i Muir 2003].

Antyżywniowe składniki nasion lnu

Nasiona lnu, poza składnikami o wysokiej wartości odżywczej, zawierają składniki, które ograniczają jego zastosowanie jako produktu w pełni bezpiecznego. W nasionach występują, m.in.: glikozydy cyjanogenne, inhibitory tripsyny, kwas fitynowy oraz linatyny [Carraro i in. 2012].

W nasionach lnu obecne są glikozydy cyjanogenne (264-354 mg/100 g nasion), w tym linustatyna (136-162 mg/100 g nasion) przekształcająca się w produkt pośredni - linamarynę oraz neolinustatyna (105-183 mg/100 g nasion), dająca po rozpadzie pochodną - lotaustralinę. W wyniku hydrolizy enzymatycznej lub kwasowej (np. w żołądku) glikozydów cyjanogennych uwalniana jest glukoza, aceton i toksyczny cyjanowodór [Smith i in. 1980]. Symptomami zatrucia związkami cyjanogennymi są problemy z układem nerwowym, bóle głowy oraz częstoskurcz. Spożywając nasiona lnu zgodnie z zalecaną dawką (1-2 łyżki stołowe), około 5-10 mg cyjanowodoru uwalnia się z siemienia lnianego, co wynosi znacznie poniżej szacowanej ostrej dawki toksycznej dla dorosłych (50-60 mg nieorganicznych cyjanków) [Roseling 1994]. W celu wyeliminowania glikozydów cyjanogennych można zastosować obróbkę termiczną lub mechaniczną nasion [Oomah i Mazza 1998]. Gorąca woda

unieczynnia enzymy: linustatynazę, która uwalnia produkty pośrednie, a także linamarazę i α -hydroksynitrylazę dopełniające rozpad związku. Innym sposobem redukcji tych antyżywnościowych związków, zaproponowanym przez Wanasundara i współautorów [1993], jest ekstrakcja rozpuszczalnikowa nasion za pomocą heksanu i alkoholu (metanolu, etanolu lub izopropanolu) w fazie z dodatkiem wody i/lub amoniaku. Ponad 90% zawartości glikozydów: linustatyny i neolinustatyny zostało usuniętych poprzez zastosowaną metodę.

Inhibitory trypsyny stanowią antyodżywczy składnik, gdyż zmniejszają wzrost zwierząt, z uwagi na ograniczanie trawienia i w następstwie wchłaniania białek [Lyman i Lepkovsky 1957]. Inhibitory trypsyny występują w nasionach lnu, ale w porównaniu z nasionami rzepaku i soi ich aktywność jest niska [Ganorkar i Jain 2013]. Wanasundara, Shahidi i Brosnan [1999] oznaczyli niewielkie ilości inhibitorów proteaz w nasionach lnu (na poziomie 13,3 mg/g surowego białka), które po kiełkowaniu zredukowane są do śladowych ilości. Dodatkowo, inhibitory proteaz są termolabilne, dlatego też obróbka termiczna unieczynnia te antyodżywcze substancje [Guerrero-Beltrán i in. 2009].

Kwas fitynowy to organiczny związek chemiczny (heksafosforan inozytolu) występujący w nasionach lnu w ilości 0,8-1,5% masy. Ze względu na zdolność do trwałego łączenia się w przewodzie pokarmowym ssaków z białkami oraz niektórymi składnikami mineralnymi (wapń, miedź, żelazo, magnez, cynk) i tworzeniem z nimi nierozpuszczalnych soli, może powodować poważne niedobory tych pierwiastków [Morris 2007].

Linatyna jest organicznym związkiem z grupy α -aminokwasów, której obecność stwierdzono w niedojrzałych nasionach lnu. Uważana jest za antagonistę witaminy B6, jednak badania wykazały brak związku między spożywaniem lnu a niedoborem witaminy B6 u ludzi [Toure i Xueming 2010].

2.3. Charakterystyka oleju lnianego tłoczonego na zimno

2.3.1. Otrzymywanie oleju lnianego

Oleje roślinne można uzyskać na drodze ekstrakcji, tłoczenia lub dwuetapowo w wyniku tłoczenia a następnie ekstrakcji rozpuszczalnikiem oleju pozostałego w wytlókach. Tłoczenie stosuje się zazwyczaj w przypadku nasion o wysokiej zawartości tłuszczu i może odbywać się na zimno lub gorąco.

Tłoczenie na zimno przebiega przy użyciu procesów mechanicznych bez zastosowania ogrzewania. Otrzymane oleje mogą być jedynie oczyszczane za pomocą wody, sedymentacji,

filtracji i wirowania [Codex Standard 19-1981 2013]. Technologia ta nie wymaga obróbki chemicznej, dużych nakładów energii i jest ekologicznie czysta, gdyż nie stosuje się żadnych rozpuszczalników. Ponadto w stosunku do metody ekstrakcji rozpuszczalnikiem jest prostsza i nie wymaga wielu etapów przygotowania surowca. Nasiona przed tłoczeniem można poddać płatkowaniu i kondycjonowaniu w temperaturze 30-50°C.

W technologii tłoczenia na gorąco nasiona poddawane są wstępnemu ogrzewaniu, zgniataniu, właściwemu ogrzewaniu i dopiero tłoczeniu. Ogrzewanie i rozdrabnianie nasion istotnie wpływa na wydajność procesu oraz jakość finalnego produktu [Górecka, Wroniak i Krygier 2003; Wroniak, Krygier i Kaczmarczyk 2008; Spychała, Frąckowiak i Adamczyk 2011; Łaska, Myczko i Golimowski 2012]. Zgniatanie nasion ułatwia wydobycie tłuszczu, dzięki zniszczeniu struktury tkankowej nasion i łupiny, otwarciu części komórek, powiększeniu powierzchni wypływu oleju i zmniejszeniu oporu tkanki [Niewiadomski 1993]. Rozdrobnienie nasion aktywuje enzymy komórkowe miazgi, szczególnie lipazę, peroksydazę, fosfolipazę, a zwiększenie powierzchni wypływu i częściowe uwolnienie oleju z komórek sprzyja procesom utleniania tłuszczu [Rutkowski 1979]. Rozdrobnione nasiona powinny być jak najszybciej poddawane dalszemu przerobowi, by zapobiec pogorszeniu jakości i destabilizacji tłoczonego oleju i śruty. Podczas tłoczenia oleju w podwyższonej temperaturze, równoległe z wydajnością, zwiększa się wydobycie substancji nieglicerydowych. Niektóre z nich powodują obniżenie trwałości oleju (m.in. chlorofile, związki siarkowe, fosfolipidy), a inne ją podwyższają (m.in. tokoferole, sterole, karotenoidy) [Prior 1991a; Niewiadomski 1993; Górecka, Wroniak i Krygier 2003].

Olej tłoczony na gorąco na ogół jest poddawany rafinacji, aby otrzymać olej o wyższej jakości sensorycznej i trwałości. W tym złożonym procesie następuje usunięcie z surowego oleju składników obniżających te cechy, t.j. substancji białkowych, fosfolipidów, wolnych kwasów tłuszczowych, barwników, lotnych substancji organicznych, wody oraz związków nieorganicznych [Rotkiewicz, Konopka i Żylik 1999]. Z kolei, zastosowanie jedynie tłoczenia na zimno, bez dalszej obróbki - rafinacji, pozwala zachować wiele cennych związków o właściwościach przeciwutleniających w końcowym produkcie, m.in. tokoferoli, tokotrienoli, karotenoidów, steroli [Koski i in. 2002; Matthäus i Brühl 2003; Kania i in. 2004]. Jednakże wyższa stabilność oksydacyjna oleju tłoczonego na zimno w porównaniu z olejem rafinowanym jest kwestią niejednoznaczną. W badaniach Wroniak i in. [2006] w olejach rafinowanych rzepakowym, słonecznikowym i sojowym zaobserwowano tendencję szybszego wzrostu pierwotnych i wtórnych produktów utleniania w porównaniu z olejami tłoczonymi na zimno. W teście termostatowym Rancimat czas indukcji par olejów:

łóczonego na zimno i rafinowanego oleju słonecznikowego i rzepakowego nie różnił się między sobą statystycznie istotnie. W przypadku oleju sojowego, olej po rafinacji wykazał wyższą stabilność oksydacyjną. Wyniki uzyskane w przypadku olejów rzepakowych odbiegały od uzyskanych przez Krygiera i in. [1998], u których w teście Rancimat bardziej trwały okazał się olej rafinowany. Dłuższy czas indukcji w olejach rafinowanych najprawdopodobniej był spowodowany usunięciem składników proutleniających w procesie rafinacji [Sionek 1997]. Z kolei inni autorzy twierdzą, że oleje rafinowane utleniają się szybciej, gdyż podczas rafinacji usuwane są naturalne przeciwutleniacze [Ziemiański i Budzyńska- Topolowska 1991].

Metoda pozyskiwania oleju lnianego bezpośrednio wpływa na wydajność procesu oraz determinuje zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych w produkcie (tabela 10). Zhang i in. [2008] otrzymali najwyższą wydajność ekstrakcji stosując heksan i traktując nasiona ultradźwiękami. Tak otrzymany olej charakteryzował się również najwyższą procentową zawartością kwasu α -linolenowego.

Tabela 10. Wpływ metody otrzymywania oleju lnianego na wydajność procesu i procentowy udział wybranych kwasów tłuszczowych

| wydajność [%] | warunki ekstrakcji*, tłoczenia** | kwas oleinowy [%] | kwas linolowy [%] | kwas α -linolenowy [%] | literatura |
|---------------|--|-------------------|-------------------|-------------------------------|-----------------------|
| bd | *aparatus Soxhleta/ eter naftowy | 18,5 | 17,3 | 53,2 | [Popa i in. 2012] |
| 84,9 | *ultradźwięki/heksan | 16,9 | 15,8 | 56,0 | [Zhang i in. 2008] |
| bd | *ultradźwięki/ chloroform:metanol | 23,7 | 16,6 | 46,7 | [Metherel i in. 2009] |
| 35,3 | *CO ₂ w stanie nadkrytycznym | 17,5 | 16,2 | 55,0 | [Pradhan i in. 2010] |
| 38,8 | *aparatus Soxhleta/ heksan | 16,1 | 14,4 | 50,0 | [Pradhan i in. 2010] |
| 25,5 | **prasa ślimakowa | 14,7 | 15,6 | 53,8 | [Pradhan i in. 2010] |

bd - brak danych

Źródło: wg różnych autorów

Ze względu na wysoką zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych olej lniany jest wrażliwy na działanie światła i temperatury oraz może ulegać szybkim przemianom oksydacyjnym. Porównując stabilność oksydacyjną oleju lnianego z innymi olejami tłoczonymi na zimno przy zastosowaniu testu Rancimat można zauważyć, że czas indukcji jest istotnie krótszy niż np. oleju rzepakowego tłózonego na zimno czy oliwy z oliwek [Kruszewski i in. 2013]. Na podstawie podobnego badania [Wroniak, Kwiatkowska i Krygier

2006] wnioskować można, że olej lniany jest również mniej stabilny niż inne oleje tłoczone na zimno, t.j. olej sojowy, sezamowy, arachidowy, kukurydziany czy z pestek dyni. Szybkość utleniania tłuszczów (test Rancimat) jest w dużej mierze uwarunkowana składem kwasów tłuszczowych. Kwas α -linolenowy jest podatny na zmiany oksydacyjne i utlenia się 20-40 razy szybciej niż kwas oleinowy i 2-4 razy szybciej niż kwas linolowy [Frankel 2005].

Istotną kwestią podczas tłoczenia oleju na zimno jest zachowanie odpowiedniej temperatury, powszechnie przyjmowanej na poziomie nie wyższym niż 40-60°C. Producenci najczęściej kontrolując temperaturę tłoczenia mierzą temperaturę korpusu bądź wytłoków opuszczających prasę, która jest zdecydowanie niższa niż temperatura ślimaka (śruby). W trakcie tłoczenia następuje silne nagrzewanie ślimaka na skutek tarcia pomiędzy śrubą a nieruchomą miazgą nasienną. Temperatury ślimaka nie można zmierzyć, natomiast analizując konstrukcję prasy pod względem przepływu ciepła można podejrzewać, że jest ona znacznie wyższa od zmierzonej na korpusie. Przekroczenie zalecanej temperatury może istotnie wpłynąć na jakość finalnego produktu a zwłaszcza jego cechy organoleptyczne. Zastosowanie niskich temperatur podczas tłoczenia pozwala otrzymać produkt o delikatnym orzechowo-tostowym zapachu i niewyczuwalnym smaku gorzkim.

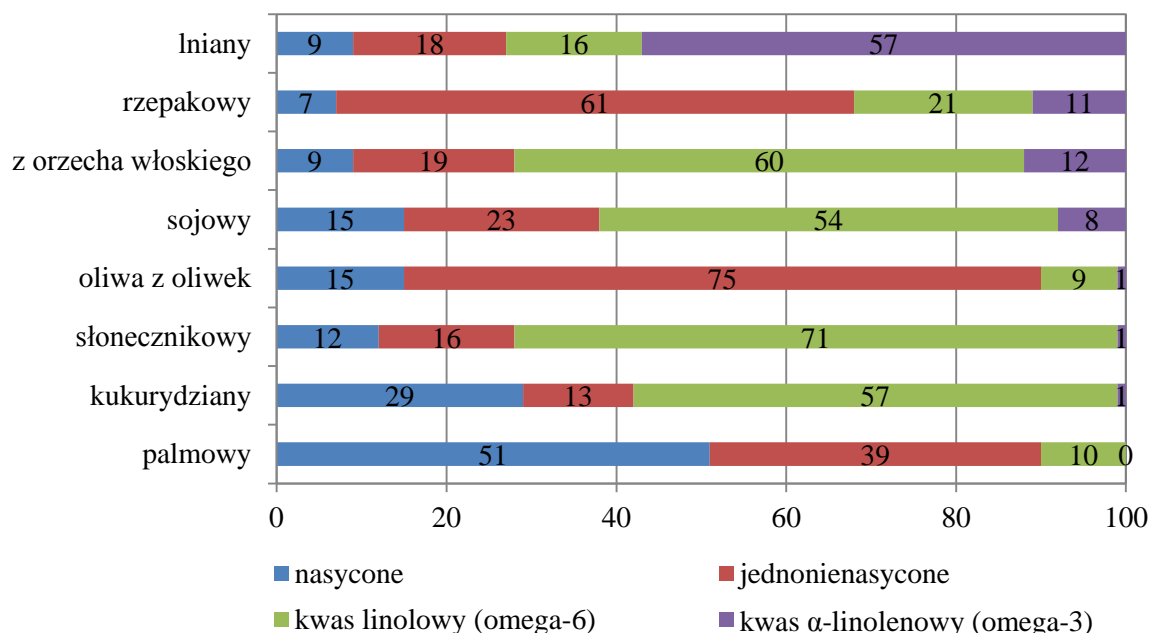
Ważnym czynnikiem limitującym szerokie zastosowanie tłoczenia na zimno jest niska wydajność tłoczenia oraz trudność w uzyskaniu produktu o stałych parametrach, niezależnie od jakości przerabianego surowca [Krygier 2000], która z kolei determinowana jest przez stopień dojrzałości nasion, ich traktowanie poźniwe (sprzęt i suszenie), transport oraz warunki przechowywania [Rotkiewicz i Konopka 1998]. Istotnym parametrem jest również wilgotność ziarna, która powinna wynosić 5-7%.

Jednym ze sposobów zwiększenia wydajności uzysku tłuszczu z nasion przy tłoczeniu na zimno może być zastosowanie promieniowania mikrofalowego w ramach obróbki wstępnej surowca [Uquiche, Jeréz i Ortíz 2008]. Wśród zalet tej metody wymienić należy krótki czas działania i oszczędność energii, ponieważ energia jest dostarczana bezpośrednio, w całej objętości materiału [Thostenson 1999]. Wykazano, że ogrzewanie mikrofalowe nasion rzepaku powodowało koagulację białek, co w konsekwencji prowadziło do zmniejszenia się kropelek oleju i gromadzenie się ich wzdłuż ścian komórek. Na skutek obróbki pękały błony komórkowe, co ułatwiało wypływ oleju [Takagi i in. 1999; Panasiewicz i in. 2012]. Poddanie nasion rzepaku przed tłoczeniem działaniu mikrofal wpłynęło na zwiększenie w oleju zawartości fitosteroli o 15% i tokoferoli o 55% [Azadmard-Damirchi i in. 2010], a finalny produkt charakteryzował się przyjemniejszym smakiem i zapachem niż olej niepoddany obróbce [Zhou i in. 2013]. Jak dotąd, nie zastosowano obróbki mikrofalowej nasion lnu.

2.3.2. Właściwości fizykochemiczne i znaczenie żywieniowe oleju lnianego

Kwasy tłuszczowe

Kwasy tłuszczowe występują w oleju lnianym w triacyloglicerolach (TAG) - 98%, fosfolipidach - 0,9% (fosfatydylocholina, fosfatydyloetanolamina, fosfatydyloinozytol, fosfatydyloseryna, kwas fosfatydowy), a w 0,1% jako wolne kwasy tłuszczowe [Tolkachev i Zhuchenko 2004; Przybylski 2005; Mueller i in. 2010]. Skład kwasów tłuszczowych oleju lnianego znacząco różni się od innych komercyjnych olejów (Rysunek 2). Olej lniany jest bogatym źródłem kwasu α -linolenowego (średnio 57%), obok oleju z orzecha włoskiego (średnio 12%), rzepakowego (średnio 11%) oraz sojowego (średnio 8%). Olej lniany zawiera stosunkowo niewielką ilość kwasu linolowego w porównaniu do m.in. oleju słonecznikowego, z orzecha włoskiego i kukurydzianego. Procentowy udział kwasu oleinowego w sumie kwasów tłuszczowych oleju lnianego jest na podobnym poziomie jak w przypadku oleju z orzecha włoskiego i słonecznikowego, przy czym jest trzykrotnie niższy niż w oleju rzepakowym. Nienasycone kwasy tłuszczowe o osiemnastowęglowym łańcuchu stanowią łącznie powyżej 90% całkowitej puli kwasów tłuszczowych oleju lnianego [Morris 2001].



Rysunek 2. Przeciętny udział kwasów tłuszczowych w wybranych olejach roślinnych [%]

Źródło: opracowano na podstawie [Morris 2001]

Istnieją także linie lnu o niskiej zawartości kwasu α -linolenowego (Linola), które zgodnie z badaniami Hosseinian i współautorów [2004], zawierają 2,4% kwasu α -linolenowego, 72,9% kwasu linolowego oraz 14,6% kwasu oleinowego. Taki skład kwasów tłuszczowych warunkuje wyższą trwałość produktu, lecz znacznie niższą wartość żywieniową.

Skład kwasów tłuszczowych oleju lnianego bezpośrednio wpływa na niektóre jego cechy fizykochemiczne. Gęstość względna oleju wynika z gęstości kwasów tłuszczowych, która zwiększa się wraz ze wzrostem ilości nienasyconych wiązań i wynosi 0,895; 0,9038 i 0,914 odpowiednio dla kwasu oleinowego, linolowego i α -linolenowego [Eskin i in. 1996]. Gęstość względna oleju lnianego wysokolinolenowego wynosi 0,925-0,935, a niskolinolenowego surowego 0,921 w temperaturze 20°C w stosunku do gęstości wody w temperaturze 4°C. Z kolei temperatura topnienia oleju jest powiązana z temperaturą topnienia kwasów tłuszczowych i zmniejsza się wraz ze wzrostem ich nienasylenia (dla oleju lnianego wysokolinolenowego wynosi od -20 do -24). Również wysokie zawartości substancji niezmydlających (0,1-1,7%), wartości liczby estrowej (187-195 mg KOH/g) i liczby jodowej (182-203 g jodu/100 g oleju) są uwarunkowane wysokim udziałem nienasyconych kwasów tłuszczowych w oleju lnianym. Temperatura zapłonu oleju lnianego jest stosunkowo niska w porównaniu z innymi olejami roślinnymi, co może być spowodowane wysoką zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych [Przybylski 2005].

Prozdrowotne działanie oleju lnianego jest przede wszystkim związane z wysoką zawartością kwasu α -linolenowego (n-3). W badaniu Griela i in. [2007] spożywanie oleju lnianego pozytywnie wpłynęło nie tylko na układ sercowo-naczyniowy, ale także na układ szkieletowy. Ponadto, olej lniany może być potencjalnym inhibitorem mediatorów zapalnych (m.in. cytokin) [Oomah 2001] oraz wpływać na obniżenie ciśnienia krwi zwłaszcza w przypadku mężczyzn w średnim wieku z dyslipidemią [Paschos i in. 2007]. Ponadto jego konsumpcja ma istotny wpływ na spowolnienie czasu krwawienia oraz zmniejsza ryzyko zawału mięśnia sercowego u mężczyzn chorujących na cukrzycę typu 2 [Barre i in. 2005]. Spożywanie oleju lnianego istotnie zwiększyło zawartość kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 w czerwonych krwinkach oraz we wszystkich tkankach z wyjątkiem mózgu [Barceló-Coblijn 2007]. Poprzez wzbogacanie produktów w olej lniany lub całe nasiona można oddziaływać na korzystną zmianę proporcji kwasów tłuszczowych n-6 do n-3 w diecie człowieka.

Tokochochromanole

Zasadniczą rolę tokoferoli i tokotrienoli jako przeciwutleniaczy jest neutralizowanie lipidowych rodników nadtlenkowych powstających w czasie utleniania polienowych kwasów tłuszczowych. Wygaszają one rodniki nadtlenkowe poprzez oddanie atomu wodoru, który przyłącza się do rodnika lipidowego. Same przekształcają się w rodniki tokoferoksyłowe, które również mogą wejść w reakcję z kolejnym rodnikiem. Jako antyoksydant α -tokoferol, dzięki obecności reaktywnej grupy $-OH$ w pierścieniu, jest także efektywnym wygaszczem tlenu singletowego [Munne-Bosch 2005; Mène-Saffrané i DellaPenna 2010; Nogala-Kałucka i Siger 2011]. Antyoksydacyjna aktywność tokoferoli *in vivo* kształtuje się w następującej kolejności $\alpha-T > \beta-T > \gamma-T > \delta-T$, natomiast ich aktywność *in vitro* jest odwrotna: $\delta-T > \gamma-T \sim \beta-T > \alpha-T$ [Eitenmiller i Lee 2004]. Działanie homologów β -, γ - i δ -T w organizmie człowieka jest ograniczone, ponieważ w wątrobie są one natychmiast metabolizowane i wydalane z żółcią lub moczem [Eggermont 2006]. Porównując aktywność przeciwutleniającą stwierdzono, że α -tokotrienol charakteryzuje się znacznie większą aktywnością niż α -tokoferol [Packer, Weber i Rimbach 2001].

Bogatym źródłem tokochochromanoli są oleje z nasion roślin oleistych, m.in. sojowy, kukurydziany, słonecznikowy, rzepakowy, które zawierają odpowiednio 84,6; 81,6; 62,5; 50,6 mg/100g. W oleju sojowym, kukurydzianym, rzepakowym dominuje β - i γ -tokoferol. Z kolei w oleju słonecznikowym i oliwie z oliwek znajduje się najwięcej α -tokoferolu [Gliszczyńska-Świgło i Sikorska 2004]. Zawartość tokoferoli w oleju lnianym kształtuje się na zróżnicowanym poziomie, przy czym dominuje γ -tokoferol (ponad 90%) (tabela 11).

Tabela 11. Zawartość tokoferoli i plastochochromanolu-8 w oleju lnianym [mg/100 g oleju]

| α -T | γ -T | δ -T | PC - 8 | Suma tokoferoli | Literatura |
|-------------|-------------|-------------|---------|-----------------|----------------------------------|
| 0,4 | 49,0 | 1,4 | | 50,8 | [Mińkowski i in. 2010] |
| 2,0 | 20,0 | 0,7 | 12,0 | 22,7 | [Przybylski 2005] |
| 0-9,1 | 10,6-15,0 | | 3,4-5,3 | 11,1-20,3 | [Choo, Birch i Dufour 2007] |
| 1,0 | 57,5 | 0,4 | | 58,9 | [Tuberoso i in. 2007] |
| 0,6 | 75,7 | 1,7 | | 78,0 | [Bozan i Temelli 2008] |
| | 36,3 | 0,5 | | 36,8 | [Gliszczyńska-Świgło i in. 2007] |

Zródło: wg różnych autorów

Według Choo, Birch i Dufour [2007] olej lniany charakteryzował się niskim poziomem tokoferoli. Zawartość poszczególnych izomerów wahała się od 0 do 9,1 mg/100g dla α -tokoferolu oraz 10,6 do 15,0 mg/100 g dla γ -tokoferolu. Z kolei Bozan i Temelli [2008]

oznaczyli zawartość tokoferoli na poziomie 78,0 mg/100 g. Duża zmienność może być związana z odmianą, rokiem uprawy oraz warunkami klimatyczno-glebowymi panującymi podczas wegetacji roślin i dojrzewania nasion, w tym temperatury i nasłonecznienia [Janiszowska 1986; Dolde, Vlahakis i Hazebrock 1999].

Olej lniany, obok oleju rzepakowego, jest bogatym źródłem plastochromanolu-8 (PC-8), który wykazał aktywność przeciwutleniającą 1,5 razy większą od α -T [Olejnik, Gogolewski i Nogala-Kałużka 1997]. Związek ten jest pochodną γ -tokotrienolu, ale różni się od niego dłuższym łańcuchem bocznym [Setiadi 2003]. Przybylski [2005] oznaczył zawartość PC-8 w oleju lnianym na poziomie 12 mg/100 g. Wykazano stosunkowo wysoką zdolność wygaszania tlenu singletowego przez plastochromanol-8 [Gruszka, Pawlak i Kruk 2008] i wysoką aktywność przeciwutleniającą w różnych układach [Nowicka, Gruszka i Kruk 2013].

Olej lniany zawiera nieznaczące ilości tokotrienoli: izomer α - 0,63 g/100 g oleju oraz γ - 0,83 g/100 g oleju [Bozan i Temelli 2008]. Liczne badania wskazują, że dzięki przeciwzapalnym i przeciwutleniającym właściwościom, tokotrienole mogą obniżać ryzyko wystąpienia m.in. nowotworów, cukrzycy, chorób układu sercowo-naczyniowego i neurodegeneracyjnych [Aggarwal i in. 2010].

Sterole

Sterole roślinne wykazują działanie hipocholesterolemiczne, polegające na obniżaniu zarówno poziomu cholesterolu całkowitego, jak i frakcji LDL, a ich oddziaływanie w tym zakresie zależy od dawki. Na podstawie dotychczasowych badań stwierdzono, że optymalna dawka steroli lub stanoli w przeciętnej dziennej racji pokarmowej waha się w granicach 2-3 g [Kopeć i in. 2011]. Ponadto, istnieją dowody na przeciwnowotworowe działanie steroli, które mogą hamować rozwój raka żołądka, płuc, jajników oraz prostaty. Mechanizm działania przeciwnowotworowego jest prawdopodobnie związany z hamowaniem syntezy związków kancerogennych, blokowaniem procesu tworzenia nowych naczyń krwionośnych oraz z inicjowaniem apoptozy komórek nowotworowych [Woyengo, Ramprasath i Jones 2009].

Główne sterole olejów roślinnych to: β -sitosterol, kampesterol, stigmasterol, brassikasterol, Δ 5-avenasterol, Δ 7-stigmasterol i Δ 7-avenasterol. β -sitosterol występuje we wszystkich olejach roślinnych, stanowiąc 50-80% frakcji sterolowej różnych olejów tłoczonych na zimno (tabela 12). Poszczególne sterole różnią się liczbą wiązań podwójnych w pierścieniu B lub budową łańcucha bocznego [Rudzińska, Kuzuś i Wąsowicz 2001; Parish, Boos i Li 2002].

Tabela 12. Zawartość steroli w olejach tłoczonych na zimno [mg/100 g oleju]

| sterole | oleje tłoczone na zimno | | | | | |
|-------------------------|-------------------------|-----------|--------|----------------|---------------|--------------|
| | lniany | rzepakowy | sojowy | oliwa z oliwek | słonecznikowy | kukurydziany |
| β -sitosterol | 169 | 382 | 216 | 114 | 237 | 614 |
| kampesterol | 75 | 252 | 49 | 5 | 44 | 212 |
| stigmasterol | 15 | 6 | 32 | nw | 24 | 63 |
| brassikasterol | nw | 104 | nw | nw | nw | nw |
| Δ -5-avenasterol | 52 | 25 | 26 | 24 | 20 | 86 |
| suma steroli | 311 | 769 | 323 | 143 | 325 | 975 |

nw – nie wykryto

Źródło: opracowano na podstawie [Rudzińska, Kazuś i Wąsowicz 2001]

Zgodnie z wynikami badań Rudzińskiej, Kazusia i Wąsowicza [2001] zawartość steroli w oleju lnianym była zbliżona do oleju sojowego i słonecznikowego, ponad dwukrotnie niższa niż w oleju rzepakowym i trzykrotnie niż w kukurydzianym (tabela 12). Olej lniany tłoczony na zimno zawierał 311 mg steroli w 100 g oleju, w tym: 169 mg β -sitosterolu, 75 mg kampesterolu, 15 mg stigmasterolu, i 52 mg Δ 5-avenasterolu, co stanowiło odpowiednio 54%, 24%, 5% i 17% sumy steroli. Mińkowski i in. [2010] oznaczyli zawartość steroli na poziomie $475,4 \pm 19,7$ mg w 100 g oleju, przy czym 50% stanowił β -sitosterol.

Barwniki

Barwniki chlorofilowe, jako sensybilizatory, wpływają na tworzenie się tlenu singletowego i zwiększają tempo utleniania olejów, zwłaszcza w obecności światła. Karotenoidy z kolei, wygaszając tlen singletowy i zmiatając wolne rodniki, działają jako przeciwutleniacze. Aczkolwiek w wielu badaniach prowadzonych zarówno w układach *in vivo* jak i *in vitro* stwierdzono także prooksydacyjne oddziaływanie karotenoidów [Rotkiewicz i Konopka 1998; 2002].

Wśród karotenoidów występujących w olejach roślinnych wyróżnia się karoteny: β -karoten, likopen, γ -karoten, α -karoten oraz ksantofile: luteinę i zeaksantynę (Rotkiewicz, Konopka, Tańska 2002). Według Dauna i in. [2003] olej lniany zawiera od 2 do 11,5 mg/100 g karotenoidów, z czego najwięcej jest luteiny (6,9 mg/100 g). Olej lniany może zawierać niewielkie ilości (0,1-0,6 mg/100 g, w przeliczeniu na feofitynę) barwników chlorofilowych [Choo, Birch i Dufour 2007]. Z kolei, Mińkowski i zespół [2010] oznaczyli zawartość karotenoidów na poziomie 14,8 mg/100 g, w przeliczeniu na β -karoten oraz 0,04 mg/100 g chlorofili. Pewne różnice w zawartości i składzie barwników w badanych próbkach surowych olejów mogą być wynikiem zróżnicowanych warunków uprawy roślin, stopnia dojrzałości nasion, sposobu wyodrębniania oleju i jego dalszej obróbki [Drozdowski 2007].

2.3.3. Wymagania jakościowe, znakowanie i zalecane warunki przechowywania oleju lnianego

W odniesieniu do oleju lnianego tłoczonego na zimno stosuje się wymagania jakościowe zawarte w standardzie 19-1981 Kodeksu Żywnościowego [Codex Standard 19-1981 2013] dla tłuszczów i olejów jadalnych nie ujętych w indywidualnych standardach (tabela 13).

Tabela 13. Wymagania jakościowe odnośnie do oleju lnianego tłoczonego na zimno*

| wyróżniki jakościowe | wymagania |
|-------------------------------------|---|
| barwa | charakterystyczna dla danego produktu |
| zapach i smak | charakterystyczny dla danego produktu, bez smaku i zapachu obcego i zjełczałego |
| maksymalna zawartość | |
| - substancji lotnych w 105°C | 0,2% m/m |
| - zanieczyszczeń nierozpuszczalnych | 0,05 % m/m |
| - mydeł | 0,005 % m/m |
| - żelaza | 5,0 mg/kg |
| - miedzi | 0,4 mg/kg |
| liczba kwasowa | 4,0 mg KOH/g tłuszczu lub oleju |
| liczba nadtlenkowa | 15,0 milirównoważników tlenu/kg oleju |

Źródło: opracowano na podstawie [Codex Standard 19-1981 2013]

*wymagania jakościowe odnośnie do oleju lnianego tłoczonego na zimno są tożsame z wymaganiami jakościowymi odnośnie do olejów roślinnych tłoczonych na zimno z różnych surowców, nie objętych indywidualnymi standardami

Zgodnie z wymaganiami maksymalna wartość liczby kwasowej dla oleju tłoczonego na zimno wynosi 4,0 mg KOH/g tłuszczu lub oleju a liczba nadtlenkowa nie powinna przekraczać 15,0 milirównoważników tlenu/kg oleju. Dla olejów rafinowanych [PN-A-86908:2000] dopuszczalne limity są niższe i wynoszą 0,3 mg KOH/g tłuszczu dla liczby kwasowej oraz 10,0 milirównoważników tlenu/kg oleju dla liczby nadtlenkowej .

Zgodnie z normą przedmiotową [PN-EN ISO 6885:2008] liczba p-anizydynowa nie powinna przekraczać 8 jednostek dla rafinowanych olejów i tłuszczów. Z kolei Makareviciene i Janulis [1999] wskazują, że maksymalna wartość liczby p-anizydynowej dla olejów z pierwszego tłoczenia („extra virgin oils”) nie powinna przekraczać 3 jednostek a Subramanian i in. [2000] - 2 jednostek. Jak dotąd nie określono górnego limitu liczby p-anizydynowej tylko dla olejów tłoczonych na zimno. Według Frankela [2005] wskaźnik TOTOX obliczany ze wzoru $TOTOX=2* \text{liczba nadtlenkowa} + \text{liczba p-anizydynowa}$ nie powinien przekraczać wartości 4 dla olejów o dobrej jakości.

Badania światowe, jak również polskie, wykazują, że znaczna część konsumentów czyta informacje zawarte na opakowaniu, jednak poziom zaufania do zamieszczonych informacji nadal jest niewystarczający [Leathwood i in. 2007; Grunert i Wills 2009; Grunert 2011; Sojkin 2012]. Może być to spowodowane nieczytelnością danych, niskim zaufaniem do komunikatów producentów kierowanych za pomocą opakowania lub brakiem edukacji konsumenta. Podstawą zwiększenia zaufania, a co za tym idzie akceptacji pojawiających się produktów jest umożliwienie konsumentom zasięgnięcia pełnej i rzetelnej informacji o produkcie w momencie dokonywania zakupu. Na opakowaniu powinny znaleźć się informacje zgodne z obowiązującymi przepisami dotyczącymi znakowania żywności [Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lipca 2007 r.; Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r.]. Ponadto oleje mogą być opatrzone oświadczeniami zdrowotnymi i żywieniowymi zgodnymi z Rozporządzeniem (WE) 1924/2006 [Rozporządzenie (WE) 1924/2006 z dnia 20 grudnia 2006 r.] (rozdział 1.2).

Informacja na opakowaniu na temat terminu przydatności do spożycia odgrywa kluczową rolę w decyzjach nabywczych konsumentów, gdyż stwarza poczucie bezpieczeństwa, ochrony i zapewnienia o świeżości produktu [Harcar i Karakaya 2005; Gimenez, Ares i Gambaro 2008]. W przypadku olejów lnianych okres przydatności do spożycia wynosi od 2 do 6 miesięcy.

Informacje dotyczące zalecanych warunków przechowywania oleju lnianego istotnie różnią się w zależności od producenta. Część z nich zaleca przechowywanie oleju w temperaturze pokojowej, część w miejscu chłodnym, a inni w lodówce. Na wielu opakowaniach nie ma dokładnej instrukcji postępowania z produktem przed i po pierwszym otwarciu. Jedynie nieliczni producenci podają, że olej lniany należy chronić przed światłem i przechowywać w zacienionym miejscu, w temperaturze od + 4 do +10°C lub od +2 do +20°C przed pierwszym otwarciem butelki, a w lodówce podczas użytkowania.

2.3.4. Charakterystyka i kierunki wykorzystania pozostałości poprodukcyjnych nasion lnu

Z uwagi na wzrost wykorzystania lnu, jednocześnie rośnie ilość produktów ubocznych i odpadów przy wytłaczaniu oleju. Produktami ubocznymi są pozostałości poprodukcyjne, nadające się do bezpośredniego wykorzystania bez uprzedniego przetwarzania lub stanowiące surowiec do produkcji innych wyrobów. Z kolei odpad zdefiniować można jako pozostałość

poprodukcyjną wymagającą poddania procesowi przerobu w celu odzysku lub unieszkodliwienia [Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi oraz Instytut Technologiczno-Przyrodniczy 2010].

Lniane pozostałości poprodukcyjne mogą być zgodnie z Rozporządzeniem Komisji Europejskiej 68/2013 [Rozporządzenie Komisji (UE) NR 68/2013 z dnia 16 stycznia 2013 r.] dwójakiego rodzaju:

- makuch (wytłok) z siemienia lnianego (ang. flaxseed cake) to produkt wytwarzania oleju, uzyskiwany przez tłoczenie nasion lnu,
- śruta poekstrakcyjna lniana (ang. flaxseed meal) to produkt wytwarzania oleju, uzyskiwany przez ekstrakcję i odpowiednią obróbkę cieplną makuchu z siemienia lnianego.

Główną różnicą między powyższymi pozostałościami poprodukcyjnymi jest zawartość oleju a co za tym idzie substancji lipofilnych, takich jak tokoferole, sterole itd. Wytłok lniany po zastosowaniu jedynie tłoczenia na zimno może zawierać nawet 12-15% oleju, z kolei pozostałość po ekstrakcji rozpuszczalnikiem ok. 3,5% [Carter 1993].

Pozostałości przetwórstwa roślin oleistych są cennym surowcem, gdyż zawierają wartościowe składniki takie jak białka, cukry, substancje mineralne, błonnik, tłuszcz. Wykorzystywane są zazwyczaj jako pasze dla zwierząt lub w przemyśle energetycznym. Ponadto, stosowane są jako substraty przy biotechnologicznej produkcji: enzymów (lipaz, proteaz, α -amylaz, fitaz), antybiotyków, biopestycydów, witamin oraz innych bioproduktów [Ramachandran i in. 2007].

Z ekonomicznego punktu, produkty uboczne przetwórstwa nasion oleistych mogłyby być wykorzystywane jako źródło naturalnych substancji o właściwościach odżywczych czy funkcjonalnych, co byłoby zgodne z obecnie obserwowanym trendem na rynku żywności. Ekstrakty z wytłoków wykazują aktywność przeciwutleniającą, gdyż większość związków fenolowych i innych przeciwutleniaczy nierozpuszczalnych w tłuszczach, występujących głównie w połączeniach glikozydowych, nie przechodzi do oleju, pozostając w wytłoku [Matthäus 2002; Terpine 2012]. Produkty uboczne przetwórstwa nasion oleistych charakteryzują się jednak znaczną nietrwałością i podatnością na rozwój mikroorganizmów, co wymusza ich niezwłoczne przetwarzanie. Badania prowadzone przez Samotyję i in. [2014] wykazały, że podczas sześciomiesięcznego przechowywania w temperaturze pokojowej mąk: lnianej, sezamowej, kokosowej, dyniowej, z nasion słonecznika oraz z orzecha arachidowego następowały istotne zmiany hydrolityczne frakcji lipidowej, co może być istotne z punktu bezpieczeństwa produktu.

W przypadku lnu wyłoki stanowią bogate źródło związków fenolowych (w tym lignanów), białek, błonnika rozpuszczalnego oraz, w zależności od metody wydobycia oleju, nienasyconych kwasów tłuszczowych [Gutiérrez i in. 2010; Rubilar i in. 2010]. Wyłok lniany charakteryzuje się zawartością białka na poziomie 30,5%, tłuszczu - 6,6%, ekstraktu bezazotowego - 43,2%, włókna surowego - 9,5% oraz składników mineralnych - 7% [Singh i in. 2011]. Rozpatrując przeciwutleniacze, w wyłokach lnu zidentyfikowano kwas sinapinowy, p-hydroksybenzoesowy, kumarynowy, ferulowy, lignany oraz ich glikozydy [Schmidt i Pokorny 2006]. Zawartość związków fenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z wyłoków lnianych uwarunkowana była rozpuszczalnikiem użytym do ekstrakcji oraz odmianą nasion lnu [Anwar i Przybylski 2012; Waszkowiak, Gliszczyńska-Świgło i Skręty 2012]. Terpinć i in. [2012] wykazali, że wyłoki lniane charakteryzowały się najwyższą zdolnością chelatowania jonów Fe^{2+} w porównaniu z wyłokami z nasion rzepaku, lnianki oraz gorczycy. Ponadto, ekstrakt z wyłoków lnianych charakteryzował się wysoką siłą redukującą. Dodatek odtłuszczonych wyłoków lnianych oraz ich wodnych ekstraktów wraz z ekstraktem z rozmarynu do pulpetów mięsnych zahamował procesy utleniania kwasów tłuszczowych oraz cholesterolu podczas przechowywania produktów w warunkach zamrażalniczych [Waszkowiak i Rudzińska 2014].

Pozostałości poprodukcyjne przetwórstwa nasion lnu są doskonałym źródłem białka, dlatego są wykorzystywane m.in. w pokarmach dla narybku karpia oraz innych ryb [Ramachandran i in. 2007]. Xu, Hall III i Wlof-Hall [2008] sporządzili ekstrakt białkowy z odtłuszczonej mąki lnianej i oznaczyli jego aktywność przeciwgrzybiczną względem *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium graminearum*, *Aspergillus flavus* oraz *Penicillium* sp. Wyniki ukazały, że neutralne i zasadowe pH sprzyja przeciwgrzybiczej aktywności ekstraktów białkowych, co sugeruje potencjalne zastosowanie ekstraktów jako środków konserwujących w produktach spożywczych o obojętnym lub zasadowym pH, wymagających jedynie łagodnej obróbki cieplnej. Ponadto, podjęto próbę wykorzystania wyłoków lnianych w smażonych chrupkach ziemniaczanych [Kita i Popiela-Kukus 2010]. Dodatek wyłoków lnianych obniżał zawartość tłuszczu w gotowych chrupkach. Wpływ na to miała frakcja błonnikowa wyłoków, która istotnie ograniczała ilość wchłanianego tłuszczu. Zastosowanie 5 i 10% dodatku pozwoliło otrzymać produkt o akceptowalnych cechach organoleptycznych.

Odpadem przy obróbce nasion lnu są łuski lniane, składające się z okrywy nasiennej i cząstek bielma, które stanowią 36% całkowitej masy nasion ręcznie łuskanych lub 22% w przypadku obróbki mechanicznej [Oomah i Mazza 1998]. Trawienie łusek jest utrudnione, a co za tym idzie ograniczona jest biodostępność lipidów w nich zawartych [Barceló-Coblijn

2007]. Dlatego też niezbędne jest zastosowanie odpowiedniej metody ekstrakcji oleju z łusek lnianych. Według Oomah i Sitter [2009] wysoką wydajność ekstrakcji (20,4%), najwyższą aktywność przeciwutleniającą i zawartość SDG w oleju lnianym otrzymano w przypadku ekstrakcji w stanie nadkrytycznym.

Mając na uwadze powyższe doniesienia naukowe, pozostałości poprodukcyjne nasion roślin oleistych, a przede wszystkim nasion lnu, zdają się być produktem o wysokim potencjale wielokierunkowego zastosowania w żywności.

2.3.5. Elementy rynku oleju lnianego w Polsce

W 2011 roku światowa produkcja oleju lnianego wyniosła 535 792 ton. Głównymi producentami były Chiny, Belgia i Stany Zjednoczone, których udział w światowej produkcji stanowił odpowiednio 22,5%, 19,6% i 19,2% (tabela 14). Wielkość produkcji oleju lnianego w Polsce w 2011 roku wyniosła 4 097 ton, co stanowi 0,8% światowej produkcji (14 miejsce w rankingu światowym) [Faostat 2011].

Tabela 14. Wielkość produkcji oleju lnianego w wybranych krajach w 2011 roku [tony]

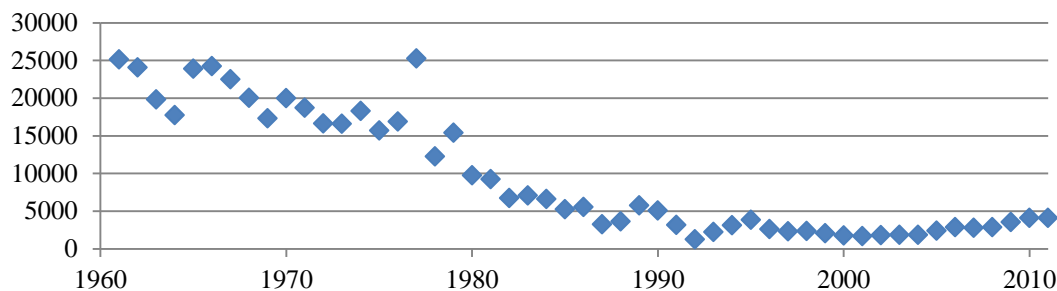
| Lp | kraj | produkcja [tony] |
|----|-----------------|------------------|
| 1 | Chiny | 120765 |
| 2 | Belgia | 104916 |
| 3 | USA | 102965 |
| 4 | Indie | 42000 |
| 5 | Niemcy | 40600 |
| 6 | Etiopia | 33508 |
| 7 | Turcja | 12316 |
| 8 | Kanada | 12300 |
| 9 | Szwecja | 7029 |
| 10 | Egipt | 7000 |
| 11 | Włochy | 6500 |
| 12 | Wielka Brytania | 6200 |
| 13 | Brazylia | 5500 |
| 14 | Polska | 4097 |
| 15 | Ukraina | 3400 |

Źródło: opracowano na podstawie [Faostat 2011]

Wielkość produkcji oleju lnianego w Polsce w latach 1961-2011 kształtowała się na zróżnicowanym poziomie (wykres 1). Do roku 1992 produkcja oleju spadała, osiągając w 1992 roku najmniejszą wielkość wynoszącą 1240 ton. W latach 1996-2004 wielkość

produkcji była na ustabilizowanym niskim poziomie. Od 2005 roku zauważyć można tendencję wzrostową, której sprzyja trend zdrowego odżywiania oraz rozwój żywności bogatej w prozdrowotne składniki.

Wykres 1. Wielkość produkcji oleju lnianego w Polsce w latach 1961-2011 [tony]



Źródło: opracowano na podstawie [Faostat 2011]

Z uwagi na większe zapotrzebowanie na olej lniany niż dostarcza go rodzima produkcja częściowy popyt jest pokrywany poprzez import. Olej lniany i jego frakcje są importowane do Polski z Niemiec (72,2%), Belgii (27,5%) oraz Wielkiej Brytanii (0,3%) [Parker 2011].

Na podstawie danych zamieszczonych na stronach internetowych oraz obserwacji własnej w punktach sprzedaży zidentyfikowano 27 przedsiębiorstw zajmujących się produkcją oleju lnianego tłoczonego na zimno (w butelkach). Olejarnie zlokalizowane są głównie na obszarze województwa: wielkopolskiego (8), dolnośląskiego (5) i mazowieckiego (4). W pozostałych regionach zakłady produkcyjne występują sporadycznie (rysunek 3). Przeważają firmy kilkuosobowe, rodzinne, o wieloletniej tradycji wyłaczania oleju. Firmy niejednokrotnie współpracują z ośrodkami naukowo-badawczymi w celu nadzorowania jakości produkowanych wyrobów.

Z uwagi na krótki okres trwałości olej lniany najczęściej jest wyłaczany na zamówienie klienta (złożone przez stronę internetową przedsiębiorstwa lub sklep online) i dostarczany bezpośrednio do kupującego w styropianowych pojemnikach termicznych, by zachować odpowiednią, niską temperaturę podczas dostawy. W punktach sprzedaży część firm przechowuje oleje w lodówkach. Mniejsze firmy, z uwagi na wysokie koszty takiej formy dystrybucji, decydują się na umieszczenie butelek z olejem lnianym tłoczonym na zimno obok innych, najczęściej rafinowanych olejów.



Rysunek 3. Rozmieszczenie producentów oleju lnianego tłoczonego na zimno, w butelkach, w Polsce

stan na dzień: 26.09.2013

Źródło: opracowanie własne na podstawie google.pl

Dostępne na rynku oleje lniane pakowane są najczęściej w butelki z ciemnego szkła, rzadziej w przezroczyste lub zielone. Butelki z tworzyw sztucznych są rzadkością. Zgodnie z wynikami badań Smyka [2008] opakowania szklane lepiej chronią olej niż opakowania z tworzyw sztucznych w zakresie promieniowania UV. Ponadto, w zakresie widzialnym również stanowią lepszą ochronę z uwagi na grubszą warstwę opakowania, które przepuszcza mniej fotonów do oleju. Oleje zawierające chlorofile powinny być przechowywane w czarnych bądź ciemnych butelkach w celu zapobieżenia działania chlorofilu jako fotosensybilizatora. Mając powyższe na uwadze, opakowania z ciemnego szkła są wskazane w przypadku olejów lnianych tłoczonych na zimno.

Oleje lniane, zarówno z odmian wysokolinolenowych, jak i niskolinolenowych, są najczęściej dostępne w opakowaniach 250 ml i 500 ml. Średnia cena 1 litra oleju lnianego wysokolinolenowego dostępnego na polskim rynku wynosiła 41,5 zł [stan na dzień: 26.09.2013] i była wyższa od ceny oleju lnianego niskolinolenowego średnio o 4 zł (tabela 15). Porównując ze średnią ceną rafinowanego oleju rzepakowego (olej Kujawski), która wynosiła 6,8 zł za litr [<http://www.dlahandlu.pl/koszyk/towar/olej-kujawski-1-1,5.html>], średnią cenę oleju lnianego można uważać za wysoką. Jednak biorąc pod uwagę kategorię olejów tłoczonych na zimno cena oleju lnianego należy do najniższych za olejem ryżowym, słonecznikowym i rzepakowym [http://oleofarm24.pl/pol_m_Oleje-swiata-172.html] [stan na dzień: 26.09.2013].

Tabela 15. Średnia cena olejów lnianych

| wielkość opakowania | olej lniany wysokolinolenowy | | | olej lniany niskolinolenowy | | |
|---------------------|------------------------------|----|---------------------------------------|-----------------------------|---|---------------------------------------|
| | średnia cena ± SD | n | średnia cena w przeliczeniu na 100 ml | średnia cena ± SD | n | średnia cena w przeliczeniu na 100 ml |
| 100 ml | 8,5±0 | 1 | 8,5 | - | 0 | - |
| 250 ml | 14,4±2,3 | 13 | 5,7 | 11,0±0,0 | 3 | 4,4 |
| 500 ml | 24,8±4,4 | 14 | 5,0 | 23,2±8,9 | 3 | 4,6 |
| 750 ml | 34,0±0 | 2 | 4,5 | - | 0 | - |
| 1000 ml | 41,5±8,8 | 9 | 4,2 | 37,5±0 | 2 | 3,8 |

[stan na dzień: 26.09.2013]

n- ilość olejów lnianych w opakowaniu danej wielkości

*niektóre oleje zostały pominięte w analizie ze względu na brak informacji o odmianie lnu lub cenie

Źródło: opracowanie własne na podstawie google.pl

W ofertach krajowych przedsiębiorstw znajduje się łącznie blisko 50 olejów lnianych w butelkach, głównie z odmian o wysokiej zawartości kwasu α -linolenowego. W ostatnich miesiącach kilku przedsiębiorców wprowadziło do swojej oferty olej lniany BIO oraz EKO. Wśród nowych produktów pojawił się także olej lniany z dodatkiem żeń-szenia oraz olej lniany z kapsaicyną. Kapsaicyna jest alkaloidem odpowiedzialnym za ostry, piekący smak papryki chili. W wyniku maceracji papryki olej lniany zyskuje ostry smak i intensywnie czerwony kolor [<http://sklep.zlotopolskie.pl/>].

Wśród trendów przedstawionych w raporcie The EU Vegetable Oil & Proteinmeal Industry [FEDIOL 2011] szczególnie istotne wydają się być zabiegi zmierzające do poprawy składu kwasów tłuszczowych produktów tłuszczowych poprzez zwiększanie zawartości kwasu oleinowego i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, szczególnie z grupy omega-3, w które dieta krajów zachodnioeuropejskich jest uboga. Jednym z proponowanych sposobów jest mieszanie różnych rodzajów olejów roślinnych w celu modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych. Odpowiedzią na prezentowaną tendencję jest wprowadzenie na polski rynek oleju rzepakowego wzbogaconego olejem lnianym (Golden Drop). Producent deklaruje, że produkt nadaje się do smażenia, pieczenia w wysokich temperaturach (temperatura dymienia 220°C), sporządzania sosów, wypieku ciast, wyrobu lodów oraz jako dodatek do jarzyn [<http://www.goldendrop.pl/>].

Na polskim rynku dostępny jest także rafinowany olej lniany z pierwszego tłoczenia włoskiej firmy, który według informacji na etykiecie nadaje się do smażenia i gotowania mięsa i ryb [http://gocciadoro.pl/pok_prod.php?id=10].

Kilka olejów lnianych produkowanych przez polskie olejarnie, zarówno w formie płynnej jak i kapsułkowanej, jest dostępnych jako suplementy diety. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety [Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r.] na olejach lnianych zarejestrowanych jako suplementy diety zamieszczone są informacje o zalecanej porcji produktu do spożycia w ciągu dnia oraz ostrzeżenie dotyczące zagrożeń związanych z przekraczaniem dawki. W definicji suplementu diety podane jest, że wprowadzany jest on „do obrotu w formie umożliwiającej dawkowanie, w postaci: kapsułek, tabletek, drażetek i innych podobnych postaciach, saszetek z proszkiem, ampułek z płynem, butelek z kroplomierzem i w innych podobnych postaciach płynów i proszków przeznaczonych do spożywania w małych, odmierzonych ilościach jednostkowych” [Ustawa o bezpieczeństwie żywności i żywienia z dnia 25 sierpnia 2006 r.]. Dlatego też niektóre firmy posiadające w swojej ofercie olej lniany jako suplement diety w formie płynnej dołączają do opakowania dozownik, by umożliwić dawkowanie produktu lub wprowadzają na rynek olej lniany w saszetkach [<http://sklep.iwnirz.pl/>; <http://sklep.zlotopolskie.pl/>].

Oleje lniane w formie kapsułek typu „softgel” zarejestrowane jako suplementy diety mogą stanowić pojedynczy składnik lub mieszalinę z dodatkiem m.in. olejów z dzikiej róży, owoców rokitnika, ogórecznika, oleju piniowego, wiesiołkowego, rybiego lub ekstraktu z zielonej herbaty [http://www.doz.pl/leki/s1958-olej_lniany].

Podsumowując, asortyment produktów otrzymywanych z lnu na polskim rynku stale rozszerza się, co spowodowane jest coraz większym zainteresowaniem konsumentów tym produktem, z uwagi na jego cenne składniki i prozdrowotne właściwości.

3. Trwałość oleju lnianego

3.1. Zarys zmian zachodzących podczas przechowywania oleju

Shelf life czyli okres przydatności do spożycia definiuje się jako czas, w którym produkt żywnościowy jest akceptowany sensorycznie, chemicznie, fizycznie i mikrobiologicznie bezpieczny oraz który zachowuje zadeklarowane na opakowaniu właściwości, podczas gdy jest przechowywany w zalecanych warunkach [Institute of Food Science and Technology 1993]. Olej podczas przechowywania może ulegać zmianom w wyniku procesów hydrolizy, utleniania i polimeryzacji, które to prowadzą do niepożądanych zmian organoleptycznych, chemicznych, obniżenia wartości odżywczej produktu, a także powstawania związków szkodliwych dla zdrowia. Do czynników wpływających na trwałość oleju należą m.in.: skład kwasów tłuszczowych, metody otrzymywania oleju, energia termiczna i promienista, stężenie tlenu, obecność wolnych kwasów tłuszczowych, mono-i diacylogliceroli, jonów metali przejściowych, fosfolipidów, enzymów, termicznie utlenionych związków, barwników i antyoksydantów [Kondratowicz-Pietruszka i Ostasz 2000; Yanishlieva i Marinova 2001].

3.1.1. Hydroliza triacylogliceroli

Podczas przechowywania w warunkach zbliżonych do normalnych, pod wpływem lipaz (należących do klasy hydrolaz), zachodzi hydroliza triacylogliceroli [Drozdowski 2007]. Reakcja hydrolizy enzymatycznej triacylogliceroli przebiega na granicy fazy wodnej (w której rozpuszczone są lipazy) oraz lipidowej i prowadzi do powstania diacylogliceroli (DAG), monoacylogliceroli (MAG) i glicerolu, przy czym na każdym etapie reakcji uwalniane są wolne kwasy tłuszczowe. Lipazy katalizują również hydrolizę rozpuszczalnych w wodzie, krótkołańcuchowych estrów kwasów karboksylowych, która zachodzi jednak bardzo powoli [Weete 2002; Grillitsch i Daum 2011]. Hydroliza enzymatyczna jest niezwykle skomplikowanym procesem, co utrudnia stworzenie odpowiedniego modelu kinetycznego opisującego tę reakcję [Hermansyah i in. 2007].

Większość lipaz (poznano ponad 20) należy do glikoprotein zawierających od kilku do 15% masowego udziału cukrów. Ze względu na różnorodną specyficzność, mogą być podzielone na pięć grup [Marangoni 2002]:

- substratospecyficzne - specyficzność substratowa definiowana jest jako zdolność lipaz do preferencyjnej hydrolizy określonych estrów glicerolu, m.in. lipaza *Penicillium*

camemberti wykazuje wyższą preferencję w stosunku do monoacylogliceroli i diacylogliceroli, natomiast minimalną reaktywność z triacyloglicerolami,

- regiospecyficzne - specyficzność pozycyjną lub regiospecyficzność lipaz definiuje się jako zdolność tych enzymów do odróżnienia dwóch zewnętrznych pozycji (pierwszorzędowych wiązań estrowych) i wewnętrznej pozycji (drugorzędowego wiązania estrowego) szkieletu TAG. Podczas hydrolizy triacylogliceroli, lipazy sn-1,3-regiospecyficzne preferencyjnie hydrolizują pozycje sn-1 i sn-3, przed pozycją sn-2. Tym sposobem dalsza hydroliza otrzymanej mieszaniny równomolowej 1,2-diacylogliceroli i 2,3-diacylogliceroli prowadzi do powstania 2-monoacylogliceroli,
- acylospecyficzne - lipazy mogą być specyficzne dla określonego kwasu tłuszczowego, lub bardziej ogólnie dla określonej klasy kwasów tłuszczowych. Lipazy tego typu hydrolizują estry glicerydu kwasów tłuszczowych niezależnie od ich pozycji na szkielecie glicerolu,
- stereospecyficzne - stereospecyficzność definiowana jest jako zdolność tych enzymów do rozróżnienia konformacji przestrzennej grup acylowych,
- niespecyficzne - część lipaz wykazuje niewielką lub żadną specyficzność pozycyjną i hydrolizuje wszystkie wiązania estrowe w TAG, bez względu na rodzaj tłuszczowych komponentów acylowych hydrolizowanego substratu.

W wyniku hydrolizy acylogliceroli pogorszeniu ulegają cechy organoleptyczne produktów zawierających lipidy, gdyż powstające wolne kwasy tłuszczowe charakteryzują się nieprzyjemnym zapachem i smakiem (tzw. proces jęlczenia hydrolitycznego) Rozpad wiązania estrowego lipidów może mieć charakter reakcji chemicznej katalizowanej przez wysoką temperaturę i ciśnienie [Kasperek, Małecka i Leszkiewicz 1989; Drozdowski 2007].

Wolne kwasy tłuszczowe są bardziej podatne na utlenianie niż zestryfikowane kwasy tłuszczowe oraz mogą katalizować rozpad hydrolityczny acylogliceroli. Mistry i Min [1987] wykazali, że wolne kwasy tłuszczowe działają prooksydacyjnie w oleju jadalnym, co związane jest z ich budową. Wolne kwasy tłuszczowe posiadają jednocześnie grupy hydrofilowe i hydrofobowe i dlatego są skoncentrowane na powierzchni oleju. W efekcie zmniejszają napięcie powierzchniowe oleju i zwiększają szybkość dyfuzji tlenu z górnej przestrzeni do oleju, co przyspiesza procesy oksydacyjne [Choe i Min 2006]. Efekt proutleniający wolnych kwasów tłuszczowych uzależniony jest od ich stężenia a także stopnia nienasycenia wolnych kwasów tłuszczowych, przy czym wzrost nienasycenia powoduje obniżenie efektu prooksydacyjnego [Waraho, McClements i Decker 2011]. Co więcej,

uwolnione w wyniku hydrolizy nienasycone kwasy tłuszczowe mogą ulegać reakcjom rozkładu, które mają charakter oksydatywny.

3.1.2. Utlenianie kwasów tłuszczowych

Utlenianie lipidów może przebiegać według trzech mechanizmów: autooksydacji, fotosensybilizacji oraz pod wpływem działania enzymów (lipooksygenaz) [Skibsted 2010]. W reakcjach tych uczestniczą dwie formy tlenu: tlen tripletowy ($^3\text{O}_2$) lub singletowy ($^1\text{O}_2$) [Choe i Min 2005].

Autooksydacja lipidów jest wolnorodnikową reakcją łańcuchową prowadzącą do wzrostu zawartości reaktywnych wolnych rodników inicjujących dalsze reakcje. Okres, w którym tworzenie się nadtlenków jest niewykrywalne lub bardzo małe, nazywa się okresem indukcji.

W przebiegu procesu autooksydacji lipidów wyróżnia się trzy fazy: inicjację, propagację i terminację. W fazie pierwszej, by tlen tripletowy mógł reagować z lipidami, następuje oderwanie cząsteczki wodoru od cząsteczki nienasyconego kwasu tłuszczowego i utworzenie wolnego rodnika zawierającego ugrupowania dienowe. Podwyższona temperatura, obecność jonów metali oraz energia promienista przyspiesza proces utworzenia rodnika. Inicjacja może być zapoczątkowana m.in. przez rodniki: hydroksylowe, nadtlenkowe i alkilowe oraz tlenek i ditlenek azotu. W reakcjach propagacji (prolongacji) wolne rodniki alkilowe reagują z tlenem dając wolne rodniki nadtlenkowe, a w efekcie nadtlenek kwasu tłuszczowego i inne rodniki tłuszczowe. Rodniki automatycznie katalizują reakcję, dlatego proces ten nazywa się wolnorodnikową reakcją łańcuchową. Cykl reakcji może się powtarzać wielokrotnie i doprowadzić do przekształcenia w nadtlenki nawet kilkuset cząsteczek kwasów tłuszczowych. Miejsce powstania nadtlenku uwarunkowane jest m.in. rodzajem kwasu tłuszczowego biorącego udział w oksydacji (tabela 16). Autooksydacja przebiega spontanicznie aż do wyczerpania się tlenu w otoczeniu lub pojawienia się specyficznego inhibitora zdolnego do przerywania reakcji łańcuchowej i sprzyjającego tworzeniu produktów nierodnikowych. Reakcja terminacji może zająć na skutek połączenia się dwóch rodników alkilowych, nadtlenkowych lub dwóch różnych rodników występujących w układzie. Efektem wolnorodnikowej reakcji łańcuchowej są zmodyfikowane, uszkodzone cząsteczki lipidów. Dalsze przemiany produktów peroksydacji lipidów prowadzą do rozpadu reszt wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i powstania głównie aldehydów (m.in. dialdehyd malonowy), hydroksyaldehydów (m.in. 4-hydroksynonenal) oraz węglowodorów (m.in.

pentan). Wolne rodniki powstające w procesach peroksydacji lipidów mogą reagować również z innymi składnikami, w tym frakcją nieglicerydową, m.in. witaminami, sterolami [Zabłocka i Janusz 2008; Choe i Min 2009].

Tabela 16. Wybrane produkty pierwotnego i wtórnego utleniania kwasów tłuszczowych

| kwas tłuszczowy | nadtlenki | aldehydy |
|------------------------|------------------|-------------------------------------|
| oleinowy | 8-OOH | 2-dekenal dekanal |
| | 9-OOH | 2-dekenal nonanal |
| | 10-OOH | nonanal |
| | 11-OOH | oktanal |
| linolowy | 9-OOH | 2,4-dekadienal 3-nonenaal |
| | 13-OOH | heksanal |
| α -linolenowy | 9-OOH | 2,4,7-dekatrienal 3,6-nonadienal |
| | 12-OOH | 2,4-heptadienal 3-heksenal |
| | 13-OOH | 3-heksenal |
| | 16-OOH | propanal |

Źródło: opracowano na podstawie [Frankel 1985]

W organizmach żywych reaktywne formy tlenu (RFT) w warunkach homeostazy odgrywają ważną rolę mediatorów i regulatorów wielu procesów komórkowych. RFT biorą udział w procesach starzenia poprzez indukcję różnicowania i apoptozy komórek, wpływają na syntezę, uwalnianie lub inaktywację tlenu azotu oraz pobudzają transport glukozy do komórek. Zwiększając przepuszczalność ścian naczyń włosowatych warunkują prawidłowy przebieg reakcji zapalnej. Jednym z bardziej istotnych zadań wykonywanych przez RFT jest regulacja procesów przekazywania sygnałów z komórki do komórki oraz w jej obrębie [Dröge 2002]. Działanie wolnych rodników tlenowych uwarunkowane jest w dużym stopniu ich stężeniem i czasem oddziaływania. W niskim stężeniu RFT spełniają funkcje fizjologiczne, wyższe stężenia tych cząsteczek wywołują toksyczne uszkodzenia komórek prowadzące do ich destrukcji [Valko i in. 2007]. Przed toksycznym działaniem wolnych rodników tlenowych chronią dwa systemy antyoksydacyjne: enzymatyczny (m.in. katalaza) i nieenzymatyczny. Głównym ich zadaniem jest neutralizacja wolnych rodników, hamowanie wolnorodnikowych reakcji łańcuchowych oraz ochrona komórki przed ich toksycznym działaniem [Zabłocka i Janusz 2008].

Fotosensybilizowane utlenianie lipidów obejmuje reakcję kwasu tłuszczowego z tlenem w obecności światła i odpowiedniego sensybilizatora, np. chlorofilu. Pod wpływem absorpcji energii świetlnej sensybilizator przechodzi we wzbudzony stan singletowy ^1Sen , a następnie bez wydatkowania energii w stan tripletowy ^3Sen . Wzbudzony sensybilizator może przenosić energię na cząsteczkę tlenu, powodując jego wzbudzenie do reaktywnego, elektrofilowego stanu singletowego $^1\text{O}_2$. Jednocześnie sensybilizator wraca do stanu podstawowego. Z uwagi na wysoką reaktywność tlenu singletowego posiadającego niesparowane elektrony, reaguje on bezpośrednio z kwasami tłuszczowymi bez wytwarzania wolnego rodnika. Powstałe nadtlenki mogą posiadać struktury skoniugowane lub nieskoniugowane (struktury nieskoniugowane nie tworzą się w przypadku autooksydacji). Fotosensybilizowane utlenianie przebiega dużo szybciej niż autooksydacja. Może być zahamowane przez „wygaszacze” tlenu singletowego (m.in. β -karoten, tokoferole). Istnieją przypuszczenia, że autooksydacja naturalnych tłuszczów może być zainicjowana przez fotoutlenianie, na skutek obecności w nich określonych barwników. Powstałe poprzez fotosensybilizowane utlenianie wodoronadtlenki rozpadają się tworząc rodniki, które mogą zapoczątkować reakcję łańcuchową autooksydacji [Frankel 1985; Choe i Min 2009].

Utlenianie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (w szczególności kwasu linolowego, linolenowego oraz arachidonowego) oraz estrów o układzie cis,cis-1,4-pentadienu może być katalizowane przez lipooksygenazę. Lipooksygenaza jest dioksygenazą zawierającą żelazo w centrum aktywnym. Proces katalizowany przez lipooksygenazy przebiega w trzech zasadniczych etapach. W pierwszej fazie następuje stereospecyficzne oderwanie wodoru od grupy metylenowej położonej pomiędzy podwójnymi wiązaniami kwasu tłuszczowego i utworzenie rodnika kwasu tłuszczowego. Następnie dochodzi do izomeryzacji rodników, w wyniku której następuje ich rekombinacja do skoniugowanych dienów. W ostatnim etapie zostaje przyłączona cząsteczka tlenu i utworzony rodnik nadtlenkowy. Jednocześnie następuje redukcja jonu Fe^{3+} do Fe^{2+} . Kolejno, lipidowe rodniki nadtlenkowe są redukowane do ROO– przez lipooksygenazę, przy jednoczesnym przejściu żelaza do jonu trójwartościowego. Na koniec następuje przyłączenie uwolnionego z lipidów wodoru i powstają wodoronadtlenki [Grechkin 1998; Baraniak i Szymanowska 2006; Choe i Min 2009].

Pierwotne produkty utleniania powstające w reakcjach są substratami działania kolejnych enzymów, takich jak: liazy, izomerazy i dehydrogenazy wodoronadtlenków czy peroksygenazy, które przekształcają je w aldehydy, ketony, estry. Lipooksygenazy mogą

również katalizować proces współutleniania karotenoidów, w tym β -karotenu, co powoduje straty niezbędnych składników odżywczych i powstawanie niekorzystnego aromatu.

Z drugiej strony działanie lipooksygenaz jest w pewnym stopniu pożądane, gdyż dzięki zachodzącym procesom z ich udziałem, kształtowane są cechy organoleptyczne niektórych produktów (np. proces wybielania mąki pszennej) [Baraniak i Szymanowska 2006].

3.1.3. Polimeryzacja tłuszczów

Dimeryzacja i polimeryzacja są głównymi reakcjami zachodzącymi podczas termicznego utleniania oleju. Dimery i polimery stanowią duże cząsteczki o masie cząsteczkowej w zakresie 692 do 1600 Da i zawierają wiązania -C-C-, -C-O-C- i -C-O-O-C- [Choe i Min 2007]. Polimeryzacja zachodzi łatwiej w oleju o wysokiej zawartości kwasu linolowego niż o wysokiej zawartości kwasu oleinowego [Bastida i Sanchez-Muniz 2001]. W warunkach podwyższonej temperatury i niskiej dostępności tlenu w oleju tworzą się acykliczne dimery poprzez wiązanie -C-C- pomiędzy 2 grupami acyłowymi. Natomiast, cykliczne polimery mogą powstać podczas reakcji Diels'a-Alder'a, podczas której formowane są struktury kulkupierścieniowe złożone z cykloheksenu oraz w wyniku wieloetapowych reakcji rodnikowych w obrębie lub między triacyloglicerolami. Polimery są bogate w tlen oraz skoniugowane dieny i w efekcie tworzą brązowy, żywiczny osad [Kasperek, Małecka i Leszkiewicz 1989; Choe i Min 2007; Choe i Min 2009].

3.2. Wybrane metody analizy sensorycznej i instrumentalnej w ocenie jakości olejów jadalnych

W wyniku procesów zachodzących podczas przechowywania, w żywności podatnej na utlenianie, m.in. olejach i tłuszczach, powstają pierwotne produkty oksydacji, w tym nadtlarki oraz wodoronadtlenki. Na skutek ich rozpadu dochodzi do utworzenia, z jednej strony nowych rodników, które włączają się do łańcucha autooksydacji, a z drugiej szerokiej gamy związków lotnych, takich jak aldehydy, ketony, alkohole, estry, kwasy, laktony, furany i węglowodory, które istotnie wpływają na smak i zapach tłuszczów [Min i Boff 2002].

Z punktu widzenia cech organoleptycznych, największe znaczenie wykazują aldehydy i ketony powstające na skutek utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych (C18:1, C18:2, C18:3). Większość z nich charakteryzuje się niskim progiem wyczuwalności

(np. 0,00045 ppm dla 1,5-cis oktadien-3-onu). Wzajemne proporcje oraz rodzaje powstałych związków lotnych uwarunkowane są składem kwasów tłuszczowych wyjściowego produktu oraz mechanizmem, według którego przebiega utlenianie [Frankel 1985; Frankel 2005; Belitz, Grosch i Schieberle 2009] (tabela 16).

Zidentyfikowano związki karbonylowe odpowiedzialne za powstanie poszczególnych nut zapachowych (tabela 17).

Tabela 17. Wrażenia sensoryczne wybranych aldehydów

| lotny aldehyd | charakterystyka zapachu |
|-----------------|--|
| heksanal | tłusty, wyraźny, olejowy, trawiasty |
| heptanal | olejowy, tłusty, ciężki, drzewny, orzechowy |
| oktanal | tłusty, ostry, cytrusowy |
| nonanal | tłusty, woskowy, cytrusowy, jak farba, |
| dekanal | penetrujący, słodki, woskowy, jak farba |
| 2,4-heptadienal | tłusty, zjełczały, przypominający orzech laskowy |

Źródło: opracowano na podstawie [Ho i Shahidi 2005]

Zachodzące w tłuszczach przemiany oksydacyjne wpływają również na barwę i konsystencję produktu. Barwa produktu w czasie przechowywania jest wypadkową procesów degradacyjnych barwników (co wiąże się ze spadkiem zawartości karotenoidów i chlorofilów) oraz procesów tworzenia się nowych związków, m.in. w wyniku reakcji utleniania, a także brunatnienia i polimeryzacji, powodując wzrost intensywności barwy produktu. Z kolei przemiany konsystencji są obserwowane na etapie reakcji polimeryzacji, kiedy to dochodzi do wzrostu lepkości i interakcji między składnikami żywności a produktami utleniania lipidów [Maskan 2003; Wąsowicz i in. 2004; Frankel 2005].

Z uwagi na fakt, że cechy organoleptyczne stanowią jedną z najważniejszych determinant wyboru produktu żywnościowego przez polskich konsumentów [Wądołowska, Babicz-Zielińska i Czarnocińska 2008], kluczowe jest stosowanie metod pozwalających monitorować te zmiany. W opinii Frankela [1993] najskuteczniejszą metodą określania stabilności oksydatywnej i okresu trwałości produktów jest analiza sensoryczna, a za nią kolejno: analiza związków lotnych > oznaczanie liczby nadtlencowej > oznaczanie TBARS > oznaczanie potencjału antyoksydacyjnego w układzie β -karoten/kwas linolowy > test Rancimat. Zgodnie z wnioskami Broadbent i Pike [2003], analiza sensoryczna pozwala wykryć zmiany w aromacie spowodowane procesami degradacji oksydacyjnej i nieoksydacyjnej. Co więcej, uważa się, że ludzki zmysł węchu jest kluczowym dyskryminatorem aromatu i jakości żywności.

Ciekawe zdaje się być zestawienie wyników dla produktów bogatych w lipidy ocenianych równoległe za pomocą metod chemicznych i sensorycznych. Zauważyć można zróżnicowany stopień korelacji wyników tych metod w zależności od badanego parametru i produktu [Eldin 2010]. Jednakże, w nielicznych pracach ocena trwałości olejów jadalnych odbywa się za pomocą obydwu metod.

Analiza sensoryczna może być przeprowadzana przy użyciu panelu konsumentów lub panelu analitycznego. Panel konsumentów to liczna grupa nieprzeszkolonych osób, które uważane są za potencjalnych klientów. Przeprowadzane testy oparte są na ocenie preferencji i akceptacji produktów. Z kolei panel analityczny składa się z przeszkolonych testerów, którzy oceniają za pomocą metod różnicowych oraz jakościowej analizy opisowej, m.in. profilowania smakowego (QDA) [Jacobsen 2010].

W literaturze tematu konfrontuje się wyniki otrzymane z pomocą panelu konsumenckiego i eksperckiego [Ramirez, Hough i Contrini 2001]. W większości rezultaty badań są spójne, lecz uwarunkowane jest to rodzajem produktu. W badaniu Delgado i Guinard [2011] z wykorzystaniem oliwy z oliwek oceny panelu ekspertów i konsumentów były tylko w pewnych obszarach spójne, co mogło być spowodowane nieznaną przez konsumentów prawdziwej natury oliwy z oliwek (intensywna nuta gorzka i ostra) oraz tym, że specyfiką ocen konsumenckich jest badanie subiektywnych odczuć respondenta.

Wykorzystanie panelu konsumentów w wyznaczaniu okresu przydatności produktów byłoby najwłaściwsze, jednakże wielokrotne testy w celu przeprowadzenia badań przechowalniczych byłyby zbyt kosztowe i niepraktyczne. Dlatego stosuje się przeszkolony panel sensoryczny. Niestety nawet intensywne szkolenie zespołu oceniającego nie pozwala wyeliminować zróżnicowania ocen. Co więcej, podczas badań przechowalniczych prowadzonych przez kilka tygodni może zdarzyć się, że nie każdy oceniający będzie obecny na wszystkich sesjach, co w znaczący sposób może wpłynąć na finalny wynik. Zatem pewnym ograniczeniem metod sensorycznych jest niska powtarzalność wyników, długi czas analizy, niska spójność wyników uwarunkowana indywidualnym zróżnicowaniem oceniających. W przypadku oceny olejów pojawia się dodatkowo problem zmęczenia sensorycznego. W celu uniknięcia zróżnicowania na poziomie oceniającego stosuje się wielowymiarową analizę statystyczną uzyskanych wyników [Jacobsen 2010].

Alternatywnie do metod analizy sensorycznej stosuje się metody instrumentalne. Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas lub olfaktometrią wskazywana jest jako podstawowe narzędzie analizy składu frakcji lotnej olejów i tłuszczów, a jedną z podstawowych technik przygotowania próbek do analizy chromatograficznej związków

lotnych jest technika mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME). SPME została opracowana na początku lat 90. XX w. przez zespół Pawliszyna [Arthur i Pawliszyn 1990]. Metoda ta wykorzystuje zjawisko sorpcji analitów z fazy nadpowierzchniowej na włóknie z krzemionki pokrytym warstwą polimeru, a następnie ich desorpcji w gorącym dozowniku chromatografu gazowego. Jedną z zalet SPME jest możliwość równoczesnego oznaczania ilościowego i jakościowego związków lotnych. Metoda ta umożliwia szybkie rozróżnienie olejów roślinnych, określenie ich czystości lub zafałszowania innymi olejami, a także pozwala śledzić zmiany zachodzące w trakcie przechowywania olejów [Jeleń i in. 2000; Mildner-Szkudlarz i in. 2003; Jeleń i in. 2007; Gromadzka i Wardenecki 2008].

Inna z metod pozwalająca na wycucie różnych nut zapachowych powstających w produkcji wykorzystuje elektroniczny nos. Aparat składa się z zespołu detektorów chemicznych reagujących z częściową specyficznością i posiadających odpowiedni system rozpoznawania, mogący odróżnić pojedyncze i złożone zapachy. Ich zaletą jest podobieństwo zasady działania do ludzkiego układu węchowego [Bartlett, Elliott i Gardner 1997]. Uzyskane wyniki badań dowodzą, że elektroniczny nos jest narzędziem, który może w zadawalający sposób uzupełniać oceny zespołu sensorycznego. Uzyskano wysokie korelacje pomiędzy odpowiedzią sensorów elektronicznego nosa a natężeniem charakterystycznych deskryptorów zapachu w profilowej ocenie sensorycznej dla olejów roślinnych poddanych przechowywaniu [Shen i in. 2001; Mildner-Szkudlarz i in. 2007]. Niestety metoda ta jedynie analizuje próbki pod względem zapachu.

Z kolei elektroniczny język jest nowoczesnym urządzeniem do automatycznej analizy i klasyfikacji próbek ciekłych o złożonym składzie (m.in. herbata, wino, soki). Posiada on matrycę sensorową tj. zestaw wielu sensorów o zróżnicowanej selektywności, których sygnały mierzone w badanej próbce tworzą jej „obraz chemiczny”. Interpretacja sygnałów umożliwia identyfikację próbki lub określenie zawartości poszczególnych jej składników [Cosio i in. 2007; Winqvist 2008]. Dotychczas voltamperometryczny elektroniczny język nie był często wykorzystywany w analizie olejów ze względu na ich dużą lepkość, niską przewodność i niezdolność do rozpuszczenia wystarczającej ilości elektrolitu [Oliveri i in. 2009]. Oliveri i in. [2009] wykazał, że pozwala on odróżnić od siebie oleje z różnych surowców (m.in. olej kukurydziany od oliwy z oliwek) oraz innego pochodzenia (oliwy z oliwek z różnych regionów). Cosio i in. [2007] skonfrontowali możliwość zastosowania elektronicznego języka, elektronicznego nosa oraz klasycznych metod chemicznych do oceny jakości oliwy z oliwek przechowywanej w różnych warunkach. Wyniki pokazały, że jedynie elektroniczny nos potrafił wskazać zmiany oksydacyjne oliwy i rozróżnił wyniki dla

odmiennych warunków przechowywania. Wykorzystanie elektronicznego języka do oceny zmian cech organoleptycznych olejów podczas przechowywania mogłoby stanowić ciekawą alternatywę dla eksperckiej analizy sensorycznej.

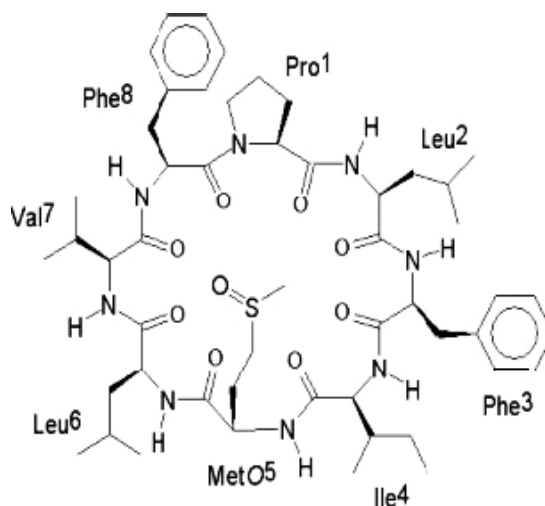
3.3. Niepożądane zmiany cech organoleptycznych oleju lnianego

Świeży, tłoczony na zimno olej lniany z nasion o dobrej jakości charakteryzuje się złotą barwą, przyjemnym, orzechowym smakiem oraz łagodnym zapachem. W trakcie przechowywania ulega niekorzystnym zmianom sensorycznym, polegającym na powstawaniu smaku i posmaku gorzkiego. Podejrzewano, że powstający smak gorzki może być bezpośrednio związany z obecnymi w lnieniu glikozydami cyjanogennymi, t. j.: linamaryną, linustatyną, neolinutatyną, lotaustraliną lub lignanami [Thompson i in. 1991; Warnecke-Wundram 2003]. Jednakże lignany znajdują się przede wszystkim w łuskach nasion lnu, a po tłoczeniu oleju ewentualne pozostałości nasion są usuwane z oleju poprzez filtrację lub sedymentację. Prowadzono badania modelowe, w których przechowywano olej wraz z wytlókiem, jednakże nie zaobserwowano znaczących zmian w powstającej gorzkości. Nie wyklucza się wpływu na smak gorzki związków fenolowych, takich jak kwas p-kumarowy, kawowy, sinapinowy, ferulowy, jak to zostało stwierdzone w przypadku oliwy z oliwek, lub wtórnych metabolitów roślinnych, takich jak hydroksykwasy tłuszczowe [Gutiérrez Rosales i in. 1992; Brühl i in. 2007] .

Badania Brühla i in. [2007; 2008] wskazały, że narastająca nuta gorzka oleju lnianego jest wynikiem wzrostu zawartości cyklolinopeptydów, w szczególności cyklolinopeptydu E. Cyklolinopeptydy (CLP) to grupa hydrofobowych peptydów cyklicznych, które składają się z ośmiu lub dziewięciu reszt aminokwasowych o masie cząsteczkowej w przybliżeniu tysiąc Da. W 1959 roku został wyizolowany pierwszy cyklolinopeptyd A z surowego oleju lnianego [Morita i in. 1999]. Do 2001 roku 10 kolejnych CLP zostało oznaczonych w nasionach lnu (B, C, D, E, F, G, H, I, J i K). W 2013 roku Aladedunye, Sosińska i Przybylski [2013] zaproponowali metodę separacji, identyfikacji i ilościowego oznaczania 14 cyklolinopeptydów w oleju i wytlókach lnianych.

Cyklolinopeptydy znajdują się przede wszystkim w liścieniu nasion lnu, jedynie w niewielkiej ilości w łusce, natomiast w śluzach i gumach są nieobecne. Podejrzewa się, że cyklolinopeptydy są zlokalizowane w strukturach magazynujących triacyloglicerole, m.in. oleosomach i podczas otrzymywania przechodzą do oleju. Stwierdzono, że olej uzyskany w wyniku tłoczenia zawiera o wiele więcej CLP niż olej poddany ekstrakcji

rozpuszczalnikami. W celu usunięcia cyklolinopeptydów zastosowano rafinację. Najbardziej skuteczne było odśluzowanie przy użyciu wodnego H_3PO_4 , natomiast alkaliczna rafinacja nie usunęła całkowicie wszystkich peptydów. Znaczne obniżenie zawartości cyklolinopeptydów zostało także osiągnięte po 6-krotnej homogenizacji i wirowaniu oleju [Gui, Shim i Reaney 2012]. Jednakże zastosowane procesy mogą istotnie wpłynąć na zawartość cennych składników w oleju lnianym i w efekcie na wartość odżywczą i zdrowotną oleju. Ponadto, olej poddany takim zabiegom technologicznym nie spełnia wymagań oleju z pierwszego tłoczenia czy też tłoczonego za zimno.



Rysunek 4. Struktura cyklolinopeptydu E

Źródło: [Brühl i in. 2007]

Mechanizm gorzknienia nie został w literaturze jednoznacznie wyjaśniony i w ciągu ostatniego dziesięciolecia były podejmowane nieliczne próby w tym zakresie. Smak gorzki przypisuje się cyklolinopeptydowi E (CLE), który składa się z L-proliny (Pro), L-leucyny (Leu), L-fenylalaniny (Phe), L-isoleucyny (Ile), L-sulfoksyd metioniny (MetSO) oraz waliny (Val) (rysunek 4). Istnieje również nieutleniona forma CLE tzw. cyklolinopeptyd E' zawierający metioninę, który może być prekursorem CLE. Podejrzewa się, że na skutek czynnika utleniającego dochodzi do oksydacji jonu siarki w metioninie (w CLE'), która przekształca się w sulfoksyd metioniny (CLE) [Brühl i in. 2007; Brühl i in. 2008; Aladedunye, Sosińska i Przybylski 2013]. Proponowaną teorię wspierają wcześniej przeprowadzone badania, które wykazały, że w środowisku kwaśnym nadtlenek wodoru może utleniać metioninę [Shechter 1986]. Z kolei aniony nadtlenkowe wytwarzane w procesie metabolizmu oksydacyjnego w układach biologicznych mogą utleniać metioninę do sulfotlenku metioniny [Vogt 1995].

Podczas przechowywania próbek oleju lnianego zauważono, że zawartość cyklolinopeptydów zawierających metioninę (m.in. CLP B, H, I) spada na rzecz wzrostu zawartości utlenionych cyklolinopeptydów (m.in. CLP C, G, F) [Stefanowicz 2004; Aladedunye, Sosińska i Przybylski 2013]. Świadczy to o postępującej oksydacji tych substancji, mimo iż w badaniu Aladedunye, Sosińska i Przybylski [2013] badano oleje lniane przechowywane w pojemnikach zamkniętych przy użyciu argonu, a w badaniu Brühla i in. [2008] opakowanie napełniono olejem tak, aby nie pozostało powietrze w fazie nadpowierzchniowej. Najprawdopodobniej początkowa zawartość tlenu rozpuszczonego w oleju ma kluczowe znaczenie. Należy dodać, że procesowi gorzknięcia nie towarzyszył wzrost zawartości pierwotnych i wtórnych produktów utleniania [Aladedunye, Sosińska i Przybylski 2013].

W badaniu Brühla i in. [2008] skorelowano zawartość cyklolinopeptydu E z intensywnością smaku gorzkiego ocenianą metodami sensorycznymi. Początkowa zawartość CLE w badanych próbkach olejów lnianych wynosiła od 0 mg/kg do 53 mg/kg. Po 150 dniach przechowywania w temperaturze pokojowej zawartość osiągnęła poziom od 485 mg/kg do 925 mg/kg. W części próbek wzrost zawartości CLE następował proporcjonalnie do wzrostu intensywności smaku gorzkiego podczas całego okresu przechowywania. W kilku olejach z różnych odmian lnu zawartość CLE po osiągnięciu pewnego poziomu zawartości cyklolinopeptydu E ustabilizowała się przy jednoczesnym wzroście intensywności gorzkości. Otrzymany wynik sugeruje, że w trakcie przechowywania może dojść do powstania innych związków, które wpływają na postrzeganą gorzkość.

Z punktu zdrowotnego cyklolinopeptydy nie wykazują działania toksycznego. Wręcz przeciwnie, CLP charakteryzują się aktywnością immunosupresyjną podobną do cyklosporyny, aktywnością hamującą wobec wapnio-zależnej aktywacji podziału limfocytów T oraz działaniem przeciwmalarycznym [Morita i in. 1999; Bell i in. 2000; Aladedunye, Sosińska i Przybylski 2013]. Jednakże, tak jak w przypadku oliwy z oliwy czy niektórych warzyw, gorzki smak istotnie wpływa na akceptowalność oleju lnianego. Dlatego też ważnym jest poszukiwanie metody ograniczania powstawania smaku gorzkiego w produktach żywnościowych [Drewnowski i Gomez-Carneros 2000].

3.4. Próby podwyższenia stabilności oksydatywnej oleju przez stosowanie przeciwutleniaczy

Naturalnie występującymi w olejach substancjami o właściwościach przeciwutleniających są tokoferole, tokotrienole, karotenoidy, związki fenolowe i sterole. Mimo ich obecności, w celu zwiększenia trwałości oleju, stosuje się dodatek przeciwutleniaczy. Ważny jest dobór odpowiedniego antyoksydanta dla określonego substratu lipidowego, by uniknąć efektu antagonistycznego w połączeniu z natywnymi przeciwutleniaczami [Choe i Min 2006].

3.4.1. Rodzaje przeciwutleniaczy i mechanizm ich działania

Przeciwutleniacze definiuje się jako substancje hamujące procesy oksydacyjne zachodzące, zarówno w układach biologicznych, jak i w żywności. Nadrzędnym celem stosowania przeciwutleniaczy jako dodatków do żywności jest zachowanie jej wysokiej jakości, bezpieczeństwa konsumentów oraz przedłużenie trwałości produktu na skutek opóźnienia pojawienia się pierwszych zmian oksydacyjnych, a następnie spowalniania tempa procesów utleniania [Frankel 2005].

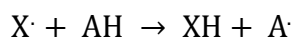
Biorąc pod uwagę mechanizm działania, przeciwutleniacze dzieli się na 2 grupy:

- przeciwutleniacze pierwotne czyli właściwe (ang. chain-breaking antioxidants),
- przeciwutleniacze wtórne działające według innych mechanizmów.

Niektóre substancje przeciwutleniające mogą działać według kilku mechanizmów, co powoduje, że mogą być przydzielone do obydwu klas.

Pierwsza grupa to przeciwutleniacze przerywające łańcuch reakcji wolnorodnikowych przez przekazanie im atomów wodoru (mechanizm HAT, ang. hydrogen atom transfer) lub elektronów (mechanizm SET, ang. single electron transfer), co powoduje przejście rodnika w związek o wyższej stabilności. Mechanizmy dają ten sam wynik końcowy, natomiast kinetyka i prawdopodobne reakcje uboczne różnią się. Reakcje według obydwu mechanizmów mogą przebiegać równoległe, a dominujący mechanizm i skuteczność antyoksydantów będzie determinowana budową i właściwościami przeciwutleniaczy, energią dysocjacji wiązań oraz potencjałem jonizacji [Szymusiak 2002; Prior, Wu i Schaich 2005].

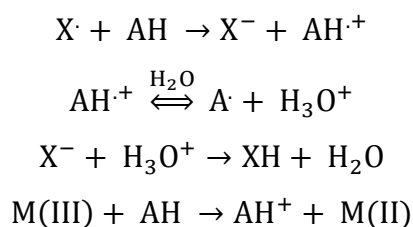
Metody oparte na mechanizmie HAT mierzą zdolność przeciwutleniaczy do wygaszania wolnych rodników poprzez przekazanie atomu wodoru według schematu:



Reakcje typu HAT przebiegają niezależnie od pH i rozpuszczalnika i zazwyczaj są krótkotrwałe (od kilku sekund do kilku minut). Obecność związków redukujących m.in. metali może doprowadzić do mylnie widocznej wysokiej reaktywności.

Wśród metod oznaczania aktywności przeciwutleniającej wykorzystujących mechanizm HAT znajdują się, m.in.: ORAC (ang. Oxygen Radical Absorbance Capacity), TRAP (ang. Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter), TOSC (ang. Total Oxidant Scavenging Capacity), chemiluminescencja (CL), fotochemiluminescencja (PCL). W dużej mierze pomiar pojemności przeciwutleniającej oparty jest na kinetyce reakcji [Prior, Wu i Schaich 2005].

Z kolei metody oparte na mechanizmie SET wykrywają zdolność przeciwutleniaczy do przeniesienia jednego elektronu i redukcji prooksydacyjnych metali lub rodnika.



Reakcje wykorzystujące mechanizm SET zachodzą powoli i są zależne od pH i obecności jonów metali. Obliczenia aktywności przeciwutleniającej oparte są na procentowym ubytku reaktywnego rodnika.

Wśród najpopularniejszych metod oznaczania aktywności przeciwutleniającej wykorzystujących mechanizm SET wymienić można, m.in.: FRAP (ang. Ferric Reducing Antioxidant Power), CUPRAC (ang. Copper Reduction Assay).

Istnieją jednak metody, których nie można jednoznacznie zakwalifikować do żadnej z powyższych grup, m.in. TEAC (ang. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)/ABTS (ang. 2,2' azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid), DPPH (ang. 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl), metoda Folina-Ciocalteu [Prior, Wu i Schaich 2005].

Najbardziej popularnymi przeciwutleniaczami pierwotnymi są: butylohydroksyanizol (BHA), butylohydroksytoluen (BHT), galusany, tokoferole, kwas rozmarynowy.

Obszerną grupę przeciwutleniaczy obejmują substancje, których działanie przeciwutleniające oparte jest na innych mechanizmach niż przerywanie łańcucha reakcji wolnorodnikowych. Do przeciwutleniaczy wtórnych można zaliczyć:

- substancje redukujące lub chelatujące jony metali, m.in. kwas askorbinowy, cytrynowy, winowy, etylenodiaminotetraoctowy (EDTA), flawonoidy,
- dezaktywatory (tzw. „wygaszacze”) tlenu singletowego i wzbudzonych cząsteczek pigmentów, m.in. karotenoidy, tokoferole, flawonoidy,
- substancje regenerujące przeciwutleniacze pierwotne, m.in. kwas askorbinowy,
- inhibitory lipooksygenaz, m.in. flawonoidy, fenolokwasy,
- substancje rozkładające nadtlarki do produktów nierodnikowych, m.in. selen, katalaza, fosfolipidy [Berdahl, Nahas i Barren 2010; Decker, Chen i Panya 2010].

Innym kryterium podziału przeciwutleniaczy jest ich pochodzenie (przeciwutleniacze naturalne i syntetyczne). Wzrost zainteresowania naturalnymi przeciwutleniaczami wynika przede wszystkim z przekonania konsumentów, że naturalne składniki żywności są bezpieczniejsze niż syntetyczne. Źródłem naturalnych przeciwutleniaczy są głównie przyprawy, zioła, herbata, kawa, kakao, oleje, nasiona zbóż, owoce, warzywa. Przedmiotem wielu prac są ekstrakty roślinne badane pod kątem możliwości ich zastosowania do ochrony lipidów żywności przed zmianami oksydacyjnymi [Yanishlieva i Marinova 2001; Małecka i in. 2003; Gramza, Korczak i Regula 2007; Samotyja i Małecka 2007; Klensporf-Pawlik i Jeleń 2008].

Jednym z najpopularniejszych, komercyjnie dostępnych naturalnych przeciwutleniaczy jest ekstrakt z rozmarynu (*Rosmarinus officinalis* L.). Wykazuje on wysoką efektywność antyoksydacyjną z uwagi na aktywne związki fenolowe rozpuszczalne w tłuszczach (m.in. kwas karnozowy, karnozol) i w wodzie (m.in. kwas rozmarynowy) oraz ich działanie synergiczne. Jak większość fenolowych przeciwutleniaczy, substancje aktywne rozmarynu działają przerywając reakcje wolnorodnikowe, dostarczając atom wodoru do rodników [Frankel i in. 1996; Terpinc, Bezbek i Abramovic 2009].

Hras i in. [2000] porównali właściwości antyoksydacyjne i synergiczne ekstraktu z rozmarynu, α -tokoferolu, palmitynianu askorbylu, kwasu cytrynowego w oleju słonecznikowym. Okazało się, że ekstrakt z rozmarynu wykazywał najlepsze zdolności przeciwutleniające wyrażone jako ograniczanie tempa pierwotnych i wtórnych zmian oksydacyjnych. Również badania prowadzone przez Samotyja i Małecka [2007] potwierdziły, że ekstrakt z nasion czarnej porzeczki i dostępne w handlu ekstrakty z rozmarynu wykazały działanie ochronne w stosunku do oleju rzepakowego i triacylogliceroli oleju rzepakowego. Zgodnie z [Dyrektywa Komisji 2010/67/UE z dnia 20 października 2010 r.] ekstrakty z rozmarynu klasyfikowane są jako dodatek do żywności (E392) i mogą być dodawane do

olejów roślinnych w maksymalnej ilości 30 mg/kg w przeliczeniu na sumę karnozolu i kwasu karnozowego.

Na uwagę zasługują także ekstrakty z nasion roślin oleistych, będące bogatym źródłem zarówno lipofilowych (np. tokoferoli), jak i hydrofilowych (m.in. związków fenolowych) substancji o właściwościach przeciwutleniających. Prowadzone badania dotyczą przede wszystkim optymalizacji metod izolacji ekstraktów z całych lub odtłuszczonych nasion, określenia ich składu, właściwości antyoksydacyjnych oraz implementacji w różnych produktach żywnościowych [Matthäus 2002; Schmidt i Pokorny 2006; Terpinc i in. 2012].

3.4.2. Dodatek substancji o właściwościach przeciwutleniających do oleju lnianego

Trwałość oleju lnianego jest determinowana wieloma czynnikami rozpoczynając od jakości nasion, warunków produkcji, poprzez warunki dystrybucji i sposób przechowywania przez konsumenta. Zachowanie właściwych parametrów podczas produkcji, transportu i sprzedaży oraz stosowanie odpowiednich opakowań może zapewnić produkt wysokiej jakości. Z uwagi na wysoką zawartość kwasu α -linolenowego, w celu przedłużenia okresu przydatności do spożycia oleju, stosuje się dodatek antyoksydantów.

Przegląd literatury z okresu 2000-2013 pozwala zapoznać się ze skutecznością substancji o działaniu przeciwutleniającym wykorzystanych w kształtowaniu trwałości oleju lnianego (tabela 18). W przeanalizowanych pracach stosowano dodatki przeciwutleniaczy naturalnych (m.in. ekstrakty z nasion roślin oleistych, olejów roślinnych, przypraw, herbaty), przeciwutleniaczy syntetycznych (m.in. BHA, BHT, TBHQ) lub mieszanin przeciwutleniaczy. W wielu przypadkach zbyt wysoki dodatek przeciwutleniaczy spowodował efekt proutleniający, co mogło być uwarunkowane nakładaniem się aktywności natywnych nieglicerydowych substancji i zastosowanych antyoksydantów poprzez synergistyczne lub antagonistyczne działanie [Choe i Min 2009]. Mierzalnym efektem działania przeciwutleniaczy było wydłużenie czasu indukcji (test Rancimat), obniżenie zawartości pierwotnych (m.in. zawartość nadtlenków) czy wtórnych produktów utleniania (m.in. poprzez pomiar liczby anizydynowej).

Tabela 18. Wpływ dodatku substancji o właściwościach przeciwutleniających na stabilność oksydacyjną oleju lnianego

| Lp | Olej | Rodzaj przeciwutleniacza | Stężenie dodatku | Warunki badania/przechowywania [°C] | Oznaczone parametry/metoda | Wyniki | Literatura |
|----|---|---|----------------------|-------------------------------------|---|---|---------------------------------------|
| 1 | olej lniany tłoczony na zimno | α -tokoferol | 10-200 mg/100 g | 120 | Rancimat | brak istotnych statystycznie zmian w stosunku do próbki kontrolnej | [Wagner i Elmadfa 2000] |
| | | γ -tokoferol | 10-800 mg/100 g | 120 | Rancimat | najskuteczniejszy dodatek 100 mg/ 100 g, wyższy dodatek - działanie proutleniające | |
| | | δ -tokoferol | 100 mg/100 g | 120 | Rancimat | brak istotnych statystycznie zmian w stosunku do próbki kontrolnej | |
| 2 | wysokolinole nowy olej lniany | metanolowe ekstrakty z nasion soi i oleju sojowego | 0,5; 1; 2 i 4% V/V | 60 | skoniungowane dieny, analiza związków lotnych, analiza związków aromatycznych | przeciwutleniacze zredukowały o max. 30% pierwotne produkty utleniania i o max. 99% wtórne produkty utleniania, powodując wzrost stabilności oksydacyjnej oleju | [van Ruth, Shaker i Morrissey 2001] |
| 3 | olej lniany tłoczony na zimno pod azotem | BHA | 0,01; 0,02% | | LOO, Rancimat, skaningowa kalorymetria różnicowa, analiza termogravimetryczna | mieszanina przeciwutleniaczy bardziej efektywna niż BHA | [Rudnik i in. 2001] |
| | | mieszanina zawierająca α -tokoferol, palmitynian askorbylu, kwas cytrynowy, kwas askorbinowy oraz oksyetylenowany glikol etylenowy | 0,05; 0,1 i 0,2% | | | | |
| 4 | olej z 9 odmian nasion lnu, ekstrakcja chloroform/metanol | β -karoten; kwercytyna | od 10 do 250 μ M | 140 | skoniungowane dieny, TBARS | dodatek 25 μ M każdego z przeciwutleniaczy był najskuteczniejszy; wyższe stężenia wykazywały efekt proutleniający | [Łukaszewicz, Szopa i Krasowska 2004] |

| | | | | | | | |
|---|------------------------------------|--|-----------------|---|--------------------------------|--|---------------------------|
| 5 | olej lniany tłoczony na zimno | ekstrakt z rozmarynu; mieszanina tokoferoli; α -tokoferol +palmitynian askorbylu+lecytyna; palmitynian askorbylu +emulgator | 100-600 mg/kg | | Rancimat | maksimum działania każdego z przeciwutleniaczy na poziomie dodatku 150 mg/kg | [Mińkowski 2005] |
| | | α -tokoferol +palmitynian askorbylu +lecytyna | 150 mg/kg | 8-9°C komora chłodnicza; 18-22°C warunki pokojowe | LK, LOO, LA, ocena sensoryczna | dodatek wydłuża okres przydatności do spożycia o 1 i 2 miesiące dla odpowiednio warunków pokojowych i chłodniczych | |
| 6 | olej lniany ekstrahowany soxhletem | ekstrakt z adżwanu (<i>Carum copticum</i>); syntetyczne (TBHQ, BHT, EQ) | 1:40 m/m | 100-220 | LOO, TBARS | dodatek TBHQ wykazał najefektywniejsze działanie antyoksydacyjne | [Bera, Lahiri i Nag 2006] |
| 7 | olej lniany tłoczony na zimno | α -tokoferol +palmitynian askorbylu +lecytyna | 150 mg/kg oleju | warunki: pokojowe (+18 do +22°C), chłodnicze (+6 do +8°C), zamrażalnicze (-18 do -22°C) | LOO, LK, LA, ocena sensoryczna | dodatek przeciwutleniacza w okresie 1-2 tygodni przechowywania nie ma wpływu na jego cechy chemiczne i organoleptyczne | [Mińkowski 2008] |
| 8 | | polifenole z herbaty (Tp) - głównie katechiny; TBHQ; cytrynian monoglicerydu i ich mieszaniny | 100-400 mg/kg | 60 | LOO, LA, Rancimat | wszystkie substancje wykazały efekt przeciwutleniający, przy czym najefektywniej działał Tp ₂₀₀ + TBHQ ₁₀₀ | [Omar i in. 2010] |
| 9 | wysokolinole nowy olej lniany | etanolowy ekstrakt z papryki | 1:40 m/m | 30°C oraz inkubacja w 0-200°C przez 10 minut | LOO, TBARS | wysoki efekt ochronny ekstraktu - nie obserwowano wzrostu mierzonych parametrów w obydwu badaniach | [Nag 2000] |

| | | | | | | | |
|----|----------------------------------|---|--|----|---|---|------------------------|
| 10 | olej lniany rafinowany | palmitynian askorbylu (AP); AP + mirycetyna, AP + (+)-katechina, AP + genistein , AP + kwas kawowy AP + BHA; BHA; | 241 $\mu\text{mol/kg}$ 241 + 555 $\mu\text{mol/kg}$ 555 $\mu\text{mol/kg}$ | 60 | LOO, zawartość kwasu α -linolenowego, ubytek związków fenolowych | kwas kawowy,(+)-katechina, mirycetyna były bardziej efektywne niż BHA; silne właściwości przeciwutleniające (+)-katechiny i mirycetyna w ochronie ALA | [Michotte i in. 2011] |
| 11 | olej lniany poddany enkapsulacji | witamina E (mix tokoferoli) | 500, 1000 i 2000 ppm | 49 | fluorymetria w geometrii odbiciowej | dodatek jedynie kwasu rozmarynowego w ilości 1000 ppm wydłużył czas indukcji; pozostałe substancje działały protleniająco | [Barrett i in. 2011] |
| | | kwas rozmarynowy | 500 i 1000 ppm | | | | |
| | | kwas cytrynowy | 1000 ppm | | | | |
| | | EDTA | 100 i 1000 ppm | | | | |
| 12 | olej lniany tłoczony na zimno | preparat związków fenolowych z wyłoków lnu | 600, 1000 i 1500 ppm | | Rancimat, DPPH | dodatek związków fenolowych wyizolowanych z nasion w niewielkim stopniu zwiększa stabilność oksydacyjną i potencjał antyrodnikowy | [Mińkowski i in. 2013] |

Źródło: wg różnych autorów

Wśród substancji o właściwościach przeciwutleniających skuteczne działanie w opóźnianiu procesów oksydacyjnych w oleju lnianym wykazały ekstrakty z nasion roślin oleistych, ekstrakt z rozmarynu/kwas rozmarynowy, związki fenolowe, tert-butylhydrochinon oraz mieszaniny różnych tokoferoli (tabela 18). Z uwagi na zastosowanie przez autorów zróżnicowanych metod badawczych, innych warunków doświadczenia trudne jest jednoznaczne porównanie działania wszystkich przeciwutleniaczy i wskazanie najskuteczniejszych.

W analizowanych pracach stosowano najczęściej warunki przyspieszonego starzenia. Jednakże przełożenie otrzymanych wyników na rzeczywiste warunki przechowywania wydaje się nie zawsze adekwatne [Martín-Polvillo, Márquez-Ruiz i Dobarganes 2004]. W literaturze tematu zaobserwować można niewiele doniesień na temat stabilności oksydatywnej olejów tłoczonych na zimno przechowywanych w rzeczywistych warunkach zalecanych przez producentów (przechowywanie w chłodnym i ciemnym miejscu). Co więcej, nieliczne prace konfrontują metody sensoryczne i fizykochemiczne do oceny trwałości olejów, co w przypadku oleju lnianego zdaje się być kluczowe.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

4. Założenia badawcze

4.1. Cel pracy i hipotezy badawcze

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe mają istotne odżywcze i prozdrowotne znaczenie dla organizmu człowieka. Aby zapewnić ich odpowiednią podaż dla organizmu, powinno się dążyć do zwiększonego, ale i kontrolowanego ich udziału w diecie. Cennym źródłem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w szczególności kwasu α -linolenowego oraz innych substancji o dużej aktywności biologicznej, jest olej lniany tłoczony na zimno.

Świeży, tłoczony na zimno olej lniany uzyskany z nasion o dobrej jakości charakteryzuje się złotą barwą, łagodnym zapachem oraz przyjemną, orzechową, nieco trawiastą nutą smakową. W trakcie przechowywania ulega niekorzystnym zmianom cech organoleptycznych, polegającym na powstawaniu smaku gorzkiego, co ogranicza jego akceptowalność. W literaturze tematu odnaleźć można wyniki analizy ilościowej i jakościowej związków odpowiedzialnych za gorzknienie, lecz niewiele prac dotyka problemu ich redukcji i poprawy cech organoleptycznych oleju lnianego podczas przechowywania. Autorzy są jednak zgodni, że zmiany we frakcji cyklolinopeptydów, odpowiedzialnych za gorzknienie oleju lnianego, są spowodowane procesami utleniania.

Celem podjętych badań było przedłużenie trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno z wykorzystaniem substancji o właściwościach przeciwutleniających. Na podstawie wstępnych badań oraz analizy literatury naukowej sformułowano następujące hipotezy badawcze:

1. Cechy fizykochemiczne świadczące o zasięgu zmian jakościowych nie są wystarczającym wyróżnikiem przy określaniu terminu przydatności do spożycia oleju lnianego tłoczonego na zimno.
2. Trwałość oleju lnianego tłoczonego na zimno może być podwyższona poprzez dodatek substancji o właściwościach przeciwutleniających.

W celu weryfikacji hipotez przyjęto następujące cele szczegółowe:

1. Ocena stabilności próbek oleju lnianego na tle innych olejów roślinnych tłoczonych na zimno w warunkach praktycznego składowania.

2. Ocena skuteczności dodatku różnych substancji o właściwościach przeciwutleniających w ograniczaniu zasięgu zmian oksydacyjnych oleju lnianego tłoczonego na zimno przechowywanego w warunkach przyspieszonego starzenia.
3. Ocena stabilności próbek oleju lnianego z dodatkiem wybranego przeciwutleniacza w warunkach praktycznego składowania.

4.2. Zakres badań

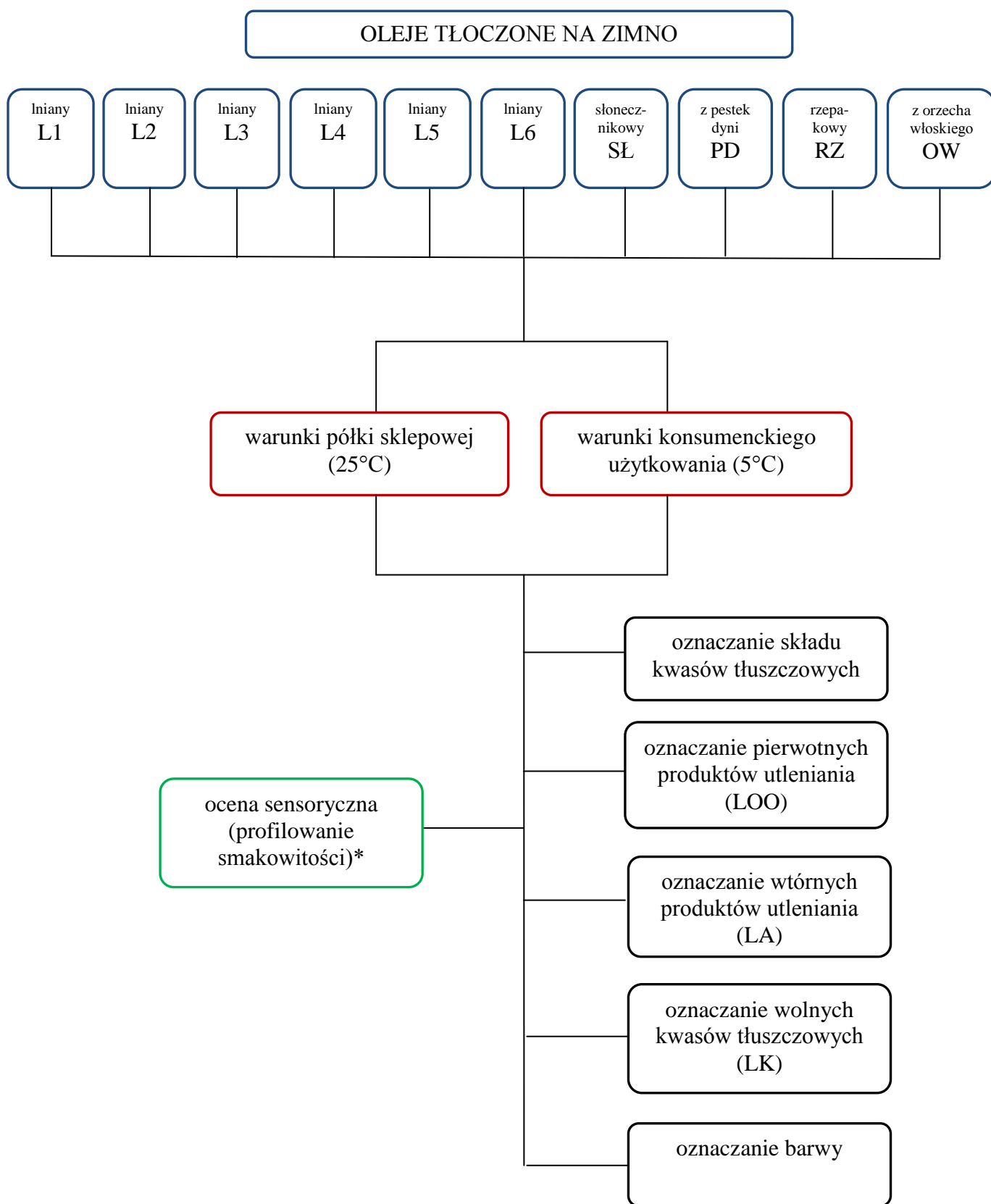
Podjęte w ramach pracy badania zostały podzielone na 3 etapy, zgodnie z wytyczonymi celami szczegółowymi.

W pierwszym etapie (rysunek 5) badań przeprowadzono analizę zmian jakościowych olejów lnianych na tle innych olejów roślinnych tłoczonych na zimno podczas przechowywania w warunkach półki sklepowej (w temperaturze pokojowej, przed otwarciem opakowania) oraz w warunkach konsumenckiego użytkowania (w temperaturze chłodniczej, po otwarciu opakowania) przez kilka miesięcy. Wszystkie próbki olejów zostały poddane obszernym, regularnie powtarzanym badaniom fizykochemicznym mającym na celu określenie zasięgu zmian oksydacyjnych. Ponadto, oleje lniane poddano systematycznym badaniom sensorycznym przy udziale przeszkolonego zespołu oceniającego.

W drugiej fazie badań przeprowadzono ocenę skuteczności różnych substancji o właściwościach przeciwutleniających w podwyższaniu trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno stosując testy przyspieszonego starzenia. W celu wyboru substancji o wysokich właściwościach antyoksydacyjnych przeprowadzono ocenę ich potencjału przeciwutleniającego (rysunek 6). Na podstawie otrzymanych wyników w dalszych badaniach przechowalniczych zastosowano dodatek ekstraktów z wyłoków roślin oleistych (lnu, wiesiołka, czarnuszki siewnej), olejów tłoczonych na zimno (olej z wiesiołka i czarnuszki siewnej), ekstraktu z rozmarynu oraz przeciwutleniacza syntetycznego BHT. Oznaczono zasięg zmian oksydacyjnych oleju lnianego z dodatkiem przeciwutleniaczy wykorzystując metody fizykochemiczne (rysunek 7).

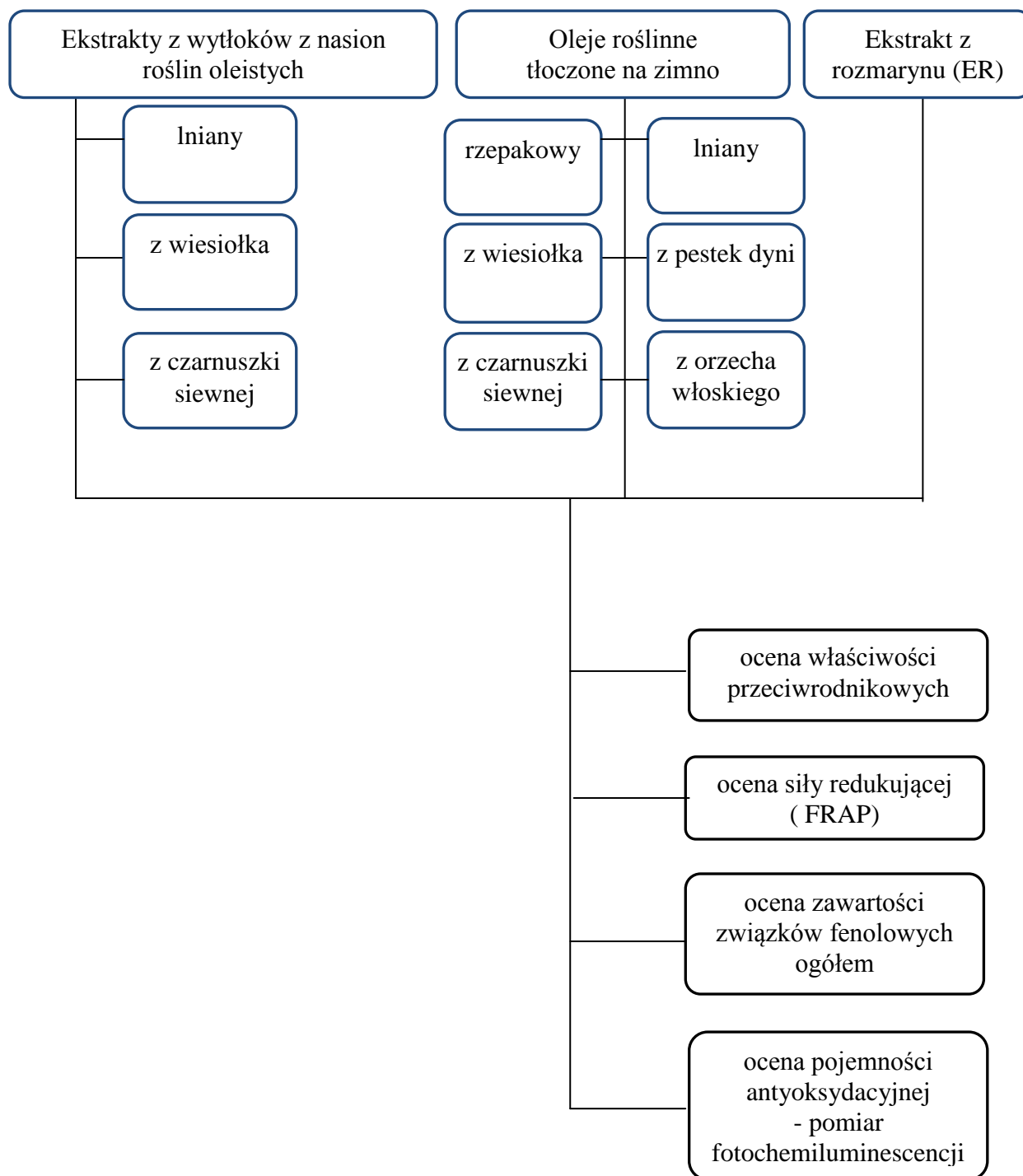
W trzecim etapie badań (rysunek 8) dokonano oceny stabilności próbek oleju lnianego z dodatkiem wybranego przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania z wykorzystaniem metod fizykochemicznych i sensorycznych.

Rysunek 5. Ocena stabilności próbek oleju lnianego na tle innych olejów roślinnych tłoczonych na zimno w warunkach praktycznego składowania (Etap 1)

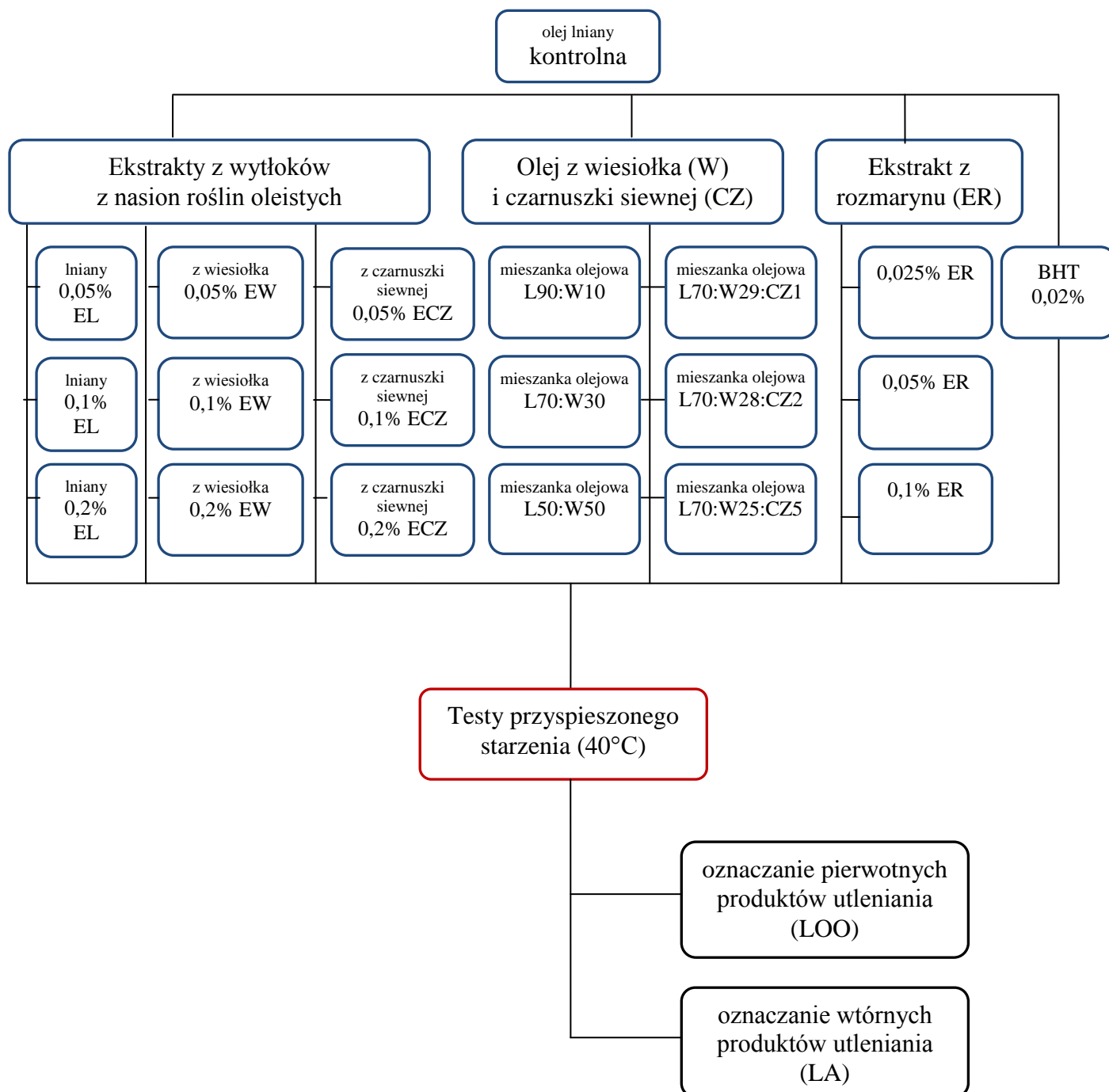


*dotyczy tylko olejów lnianych

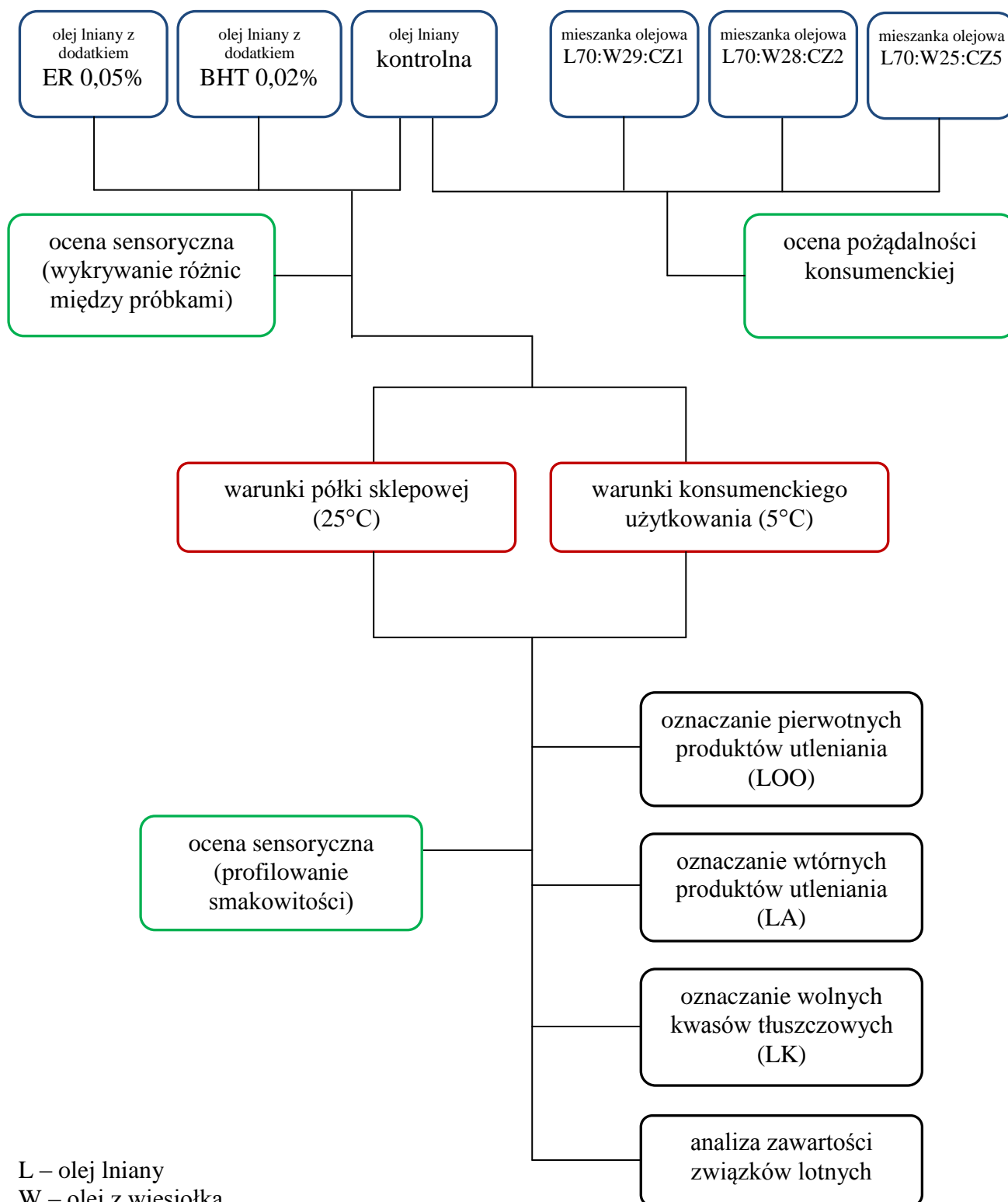
Rysunek 6. Ocena aktywności przeciwutleniającej substancji naturalnych wykorzystywanych do przedłużenia trwałości oleju lnianego (Etap 2A)



Rysunek 7. Ocena skuteczności dodatku różnych substancji o właściwościach przeciwutleniających w ograniczaniu zasięgu zmian jakościowych oleju lnianego tłoczonego na zimno przechowywanego w warunkach przyspieszonego starzenia (Etap 2B)



Rysunek 8. Ocena stabilności próbek oleju lnianego z dodatkiem wybranego przeciwutleniacza w warunkach praktycznego składowania (Etap 3)



L – olej lniany
 W – olej z wiesiołka
 CZ – olej z czarnuszki siewnej

5. Materiał badawczy, warianty próbek i warunki przechowywania

5.1. Materiał badawczy

W pierwszym etapie pracy badaniom poddano świeże oleje roślinne tłoczone na zimno otrzymane bezpośrednio po wytłoczeniu od producentów posiadających zakłady produkcyjne na terenie Wielkopolski. Surowcami olejarskimi do otrzymywania poszczególnych olejów były: nasiona lnu (*Linum usitatissimum*), nasiona rzepaku (*Brassica napus*), orzech włoski (*Juglans regia*), pestki dyni (*Cucurbita pepo*), nasiona słonecznika (*Helianthus annuus*). Zastosowano dobór celowy próbek, w którym jako kryterium przyjęto częstość występowania oleju zimnotłoczonego w ofercie producentów, a w przypadku olejów lnianych - miejsce tłoczenia (Wielkopolska).

W badaniach wykorzystano 6 olejów lnianych, które zgodnie z deklaracją producenta pochodziły z wysokolinolenowej odmiany lnu Szafir (próbka L1 i L2) oraz wysokolinolenowej odmiany lnu Oliwin (próbka L4 i L5). Próbka L3 stanowiła olej z mieszanki nasion. Z kolei próbka L6 pochodziła z odmiany lnu Linolia i w przeciwieństwie do pozostałych próbek charakteryzowała się niską zawartością kwasu α -linolenowego. Profil kwasów tłuszczowych badanych olejów został przedstawiony w tabeli 24. Termin przydatności do spożycia olejów lnianych wynosił od 2 do 6 miesięcy, z kolei oleju rzepakowego, z orzecha włoskiego, z pestek dyni, słonecznikowego - 9 miesięcy (tabela 19).

Tabela 19. Charakterystyka materiału badawczego - etap 1

| L.p. | olej | symbol próbki | odmiana nasion | termin przydatności do spożycia [miesiące] |
|------|--------------------------|---------------|----------------|--|
| 1 | Olej lniany | L1 | Szafir | 3 |
| 2 | Olej lniany | L2 | Szafir | 2 |
| 3 | Olej lniany wielkopolski | L3 | mieszanka | 3 |
| 4 | Olej lniany | L4 | Oliwin | 3 |
| 5 | Olej lniany | L5 | Oliwin | 3 |
| 6 | Olej lniany | L6 | Linolia* | 6 |
| 7 | Olej rzepakowy | RZ | n.d. | 9 |
| 8 | Olej z orzecha włoskiego | OW | n.d. | 9 |
| 9 | Olej z pestek dyni | PD | n.d. | 9 |
| 10 | Olej słonecznikowy | SŁ | n.d. | 9 |

n.d.-nie dotyczy

*odmiana o niskiej zawartości kwasu α -linolenowego

W kolejnych etapach pracy wykorzystano następujące substancje o właściwościach przeciwutleniających:

- ekstrakty z wyłoków nasion lnu (EL), wiesiołka (EW) i czarnuszki siewnej (ECZ),
- olej z wiesiołka (W) oraz olej z czarnuszki siewnej (CZ),
- handlowy ekstrakt z rozmarynu (ER) rozpuszczalny w oleju, HERBOR 025, Robertet, Francja
- butylohydroksytoluen (BHT), Sigma-Aldrich, Niemcy.

Wyłoki z nasion lnu, czarnuszki siewnej i wiesiołka stanowiły odpad po produkcji olejów. Wyłoki otrzymano bezpośrednio od producenta posiadającego zakład produkcyjny na terenie Wielkopolski. Dokonano charakterystyki wyłoków poprzez oznaczenie zawartości wody, stosując metodę suszenia w temperaturze 105°C do stałej masy oraz oznaczenie zawartości tłuszczu metodą Randalla (tabela 20).

Tabela 20. Zawartość tłuszczu oraz wody w badanych wyłokach nasion roślin oleistych [%]

| wyłok | zawartość | |
|-------------------|------------|-----------|
| | tłuszczu | wody |
| ln | 13,1 ± 0,1 | 5,2 ± 0,1 |
| wiesiołek | 9,6 ± 0,3 | 3,7 ± 0,1 |
| czarnuszka siewna | 21,6 ± 0,1 | 5,5 ± 0,4 |

Olej z wiesiołka (W) oraz olej z czarnuszki siewnej (CZ) otrzymano bezpośrednio po wyłoczeniu od producenta posiadającego zakład produkcyjny na terenie Wielkopolski.

Zastosowany ekstrakt z rozmarynu HERBOR 025 stanowi ekstrakt w formie płynnej o gęstości 0,963 g/cm³, rozpuszczony w średniołańcuchowych triacyloglicerolach (C8-C10). Deklarowana przez producenta zawartość substancji aktywnych wynosi 5-5,5% w przeliczeniu na zawartość karnozolu i kwasu karnozowego. ER spełnia specyfikacje oraz kryteria czystości uwzględnione w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia zmieniającym rozporządzenie w sprawie specyfikacji i kryteriów czystości substancji dodatkowych [Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 r.].

5.2. Warianty próbek

W celu wykorzystania wyłoków z nasion lnu, czarnuszki siewnej i wiesiołka do stabilizacji oleju lnianego sporządzono ekstrakty według procedury podanej w rozdziale 6.1.3.

Na podstawie przeglądu literatury oraz wstępnych badań zastosowano dodatek każdego z ekstraktów w ilości 0,05%, 0,1% i 0,2% suchej masy ekstraktu w stosunku do masy oleju.

Dodatek oleju z wiesiołka oraz oleju z czarnuszki siewnej do oleju lnianego pozwolił skomponować eksperymentalne mieszanki olejowe. Skład procentowy mieszanek został ustalony doświadczalnie i kształtował się następująco (tabela 21):

Tabela 21. Skład eksperymentalnych mieszanek olejowych [%]

| symbol mieszanki | olej tłoczony na zimno | | |
|------------------|------------------------|-----------------|---------------------------|
| | lniany (L) | z wiesiołka (W) | z czarnuszki siewnej (CZ) |
| kontrolna | 100 | 0 | 0 |
| L90:W10 | 90 | 10 | 0 |
| L70:W30 | 70 | 30 | 0 |
| L50:W50 | 50 | 50 | 0 |
| L70:W29:CZ1 | 70 | 29 | 1 |
| L70:W28:CZ2 | 70 | 28 | 2 |
| L70:W25:CZ5 | 70 | 25 | 5 |

W badaniach wykorzystano dodatek ekstraktu z rozmarynu w ilości 0,025%, 0,05% oraz 0,1% (tabela 22). Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia zmieniającym rozporządzenie w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych [Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 r.], ekstrakt z rozmarynu może być stosowany w olejach roślinnych w ilości 30 mg/kg tłuszczu, wyrażonej jako suma karnozolu i kwasu karnozowego. Dodatek ekstraktu o stężeniu 0,1% zastosowano, by sprawdzić, czy dawka przekraczająca maksymalną, może mieć proutleniające działanie.

Tabela 22. Zawartość substancji czynnych w ekstrakcie z rozmarynu w zależności od zastosowanego stężenia

| symbol próbki | zastosowane stężenie [%] | suma karnozolu i kwasu karnozowego [mg/kg tłuszczu] |
|---------------|--------------------------|---|
| ER 0,025% | 0,025 | 12,5-13,8 |
| ER 0,05% | 0,05 | 25,0-27,5 |
| ER 0,1% | 0,1 | 50,0-55,5 |

Próbkę kontrolną w drugim i trzecim etapie pracy stanowiła próbka oleju lnianego L4, badana w pierwszym etapie pracy.

5.3. Warunki przechowywania

Warunki półki sklepowej

Próbki przechowywano na półce w laboratorium symulując warunki działania, których poddany jest produkt podczas ekspozycji na półce sklepowej. Temperatura przechowywania wynosiła $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Warunki składowania regularnie kontrolowano za pomocą czujników połączonych z siecią komputerową (konceptcja Internetu rzeczy) [Wilusz, Flotyński i Sielicka 2013]. Próbki znajdowały się w szczelnie zamkniętych jednakowych butelkach o pojemności 150 cm^3 wykonanych z ciemnego szkła, zamkniętych nakrętką z tworzywa sztucznego. Po umieszczeniu próbki oleju w butelce, nakrętkę dodatkowo owijano parafilmem. Próbki otwierano dopiero w momencie analizy a następnie wykluczano z dalszego badania. Oceny próbek dokonywano co 14 lub 28 dni w zależności od badanego parametru.

Warunki konsumenckiego użytkowania

Próbki przechowywano w warunkach chłodniczych w temperaturze $5 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Próbki znajdowały się w jednakowych butelkach o pojemności 1000 cm^3 wykonanych z ciemnego szkła, zamkniętych nakrętką z tworzywa sztucznego. Typowe warunki konsumenckiego użytkowania osiągnięto wyjmując co 3-4 dni butelki z lodówki, utrzymując je przez 15 minut w temperaturze pokojowej i wylewając 5 cm^3 . Oceny próbek dokonywano co 14 lub 28 dni w zależności od badanego parametru.

Testy przyspieszonego starzenia

Próbki przechowywano w cieplarni laboratoryjnej w temperaturze $40 \pm 0,5^\circ\text{C}$ bez dostępu światła w otwartych naczyniach szklanych o pojemności 400 cm^3 i średnicy 7,5 cm. Na początku każdego badania w naczyniu umieszczano jednakową objętość próbki - 100 cm^3 . Przed każdym badaniem próbkę mieszano a następnie pobierano tę samą ilość, po czym naczynie z próbką jak najszybciej umieszczano w cieplarni. W pracy przedstawiono wyniki badań dla oznaczeń wykonywanych co 7 dni. Zastosowanie temperatury 40°C pozwoliło lepiej zobrazować przebieg zmian oksydacyjnych niż w przypadku inkubacji w temperaturze 60°C , co zostało stwierdzone we wstępnych badaniach.

6. Metodyka badawcza

6.1. Przygotowanie materiału badawczego

6.1.1. Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych¹

Analizę estrów metylowych kwasów tłuszczowych przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego HP 5890 Series II firmy Hewlett-Packard wyposażonym w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) zgodnie z metodyką opisaną przez Wąsowicza i Kamińskiego [1984]. Estry metylowe kwasów tłuszczowych otrzymano przy użyciu 0,4 N metanolanu sodu. Rozdział związków następował na polarnej kolumnie chromatograficznej Supelcowax-10 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Jako gaz nośny w analizie zastosowano hel. Parametry analizy były następujące: temperatura pieca - 150°C, wzrost temperatury o 12°C/min do 220°C, temperatura portu nastrzykowego - 220°C, temperatura detektora - 240°C, praca w trybie split 1:50. Kwasy tłuszczowe identyfikowano na podstawie standardowej mieszaniny estrów metylowych kwasów tłuszczowych. Względną zawartość estrów kwasów tłuszczowych oznaczano na podstawie metody normalizacji wewnętrznej, polegającej na ustaleniu procentowego udziału składników w mieszaninie, zgodnie ze wzorem:

$$\%i = \frac{A_i}{\Sigma A} * 100$$

w którym:

% i – udział procentowy pojedynczego składnika mieszaniny,

A_i – powierzchnia pików oznaczanego składnika,

ΣA – suma powierzchni pików wszystkich składników próbki.

6.1.2. Przygotowanie ekstraktów z olejów do oceny właściwości przeciwutleniających

Ekstrakty zawierające frakcję polarną olejów sporządzono zgodnie z metodyką zaproponowaną przez Szydłowską-Czerniak i in. [2008]. 2 g oleju wytrząsano z 10 cm³ rozpuszczalnika przez godzinę bez dostępu światła. Następnie próbki wymrażano w temperaturze -20°C przez kolejną godzinę aż do rozdzielenia warstw. Ekstrakt oddzielono od oleju przenosząc ilościowo do szklanych kolbek i przechowywano w zamrażalniku (-20°C) do czasu analizy. Do ekstrakcji użyto pięć rozpuszczalników: aceton, metanol oraz mieszaniny: aceton:woda (50:50 V/V), metanol:woda (50:50 V/V), metanol:woda (70:30 V/V).

¹ badania wykonano w Zakładzie Koncentratów Spożywczych Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Do oceny efektywności ekstrakcji z wykorzystaniem poszczególnych rozpuszczalników zastosowano unitaryzację zmiennych [Guzik, Appenzeller i Jurek 2005], która pozwoliła otrzymać zmienną znormalizowaną (V_{ij}), zgodnie ze wzorem:

$$V_{ij} = \frac{x_{ij} - \min_i\{x_{ij}\}}{\max_i\{x_{ij}\} - \min_i\{x_{ij}\}}$$

w którym:

V_{ij} – zmienna znormalizowana,

i – rodzaj oleju,

j – rodzaj rozpuszczalnika,

x_{ij} – obserwowana wartość zmiennej,

$\min_i\{x_{ij}\}$ – minimalna zaobserwowana wartość zmiennej przy danym i ,

$\max_i\{x_{ij}\}$ – maksymalna zaobserwowana wartość zmiennej przy danym i .

W rezultacie implementacji powyższej formuły otrzymano zmienne w zakresie $[0, 1]$. Następnie obliczono miernik syntetyczny (MS), dzięki któremu bezpośrednio porównano zdolność rozpuszczalników do efektywnej ekstrakcji związków przeciwutleniających z badanych olejów.

$$MS = \frac{1}{p} \sum_{j=1}^p V_{ij}$$

w którym:

MS – miernik syntetyczny,

p – ilość zmiennych,

V_{ij} – zmienna znormalizowana,

i – rodzaj oleju,

j – rodzaj rozpuszczalnika.

W pracy zaprezentowano wyniki aktywności przeciwutleniającej ekstraktów uzyskanych przy użyciu metanolu (najwyższe wartości MS). Rezultaty dla ekstraktów przygotowanych z udziałem pozostałych rozpuszczalników opublikowano w pracy Sielickiej i Samoty [2013].

W celu oznaczenia aktywności przeciwutleniającej frakcji apolarnej olejów, frakcję oleju oddzieloną po ekstrakcji metanolem rozpuszczono w 5 cm^3 octanu etylu zgodnie z metodyką zaproponowaną przez Espin, Soler-Rivas i Wichers [2000].

6.1.3. Przygotowanie ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych

Wyłoki z nasion lnu, wiesiołka i czarnuszki siewnej rozdrobniono za pomocą młynka, poduszono i poddano odtłuszczeniu w aparacie SER 148/3 firmy VELP. Ekstrakcję metodą Randalla prowadzono przy użyciu heksanu w 145°C zgodnie z programem - 60 minut immersji, 60 minut wymywania, 90 minut odzysku rozpuszczalnika. Następnie pobierano 5 g próbki odtłuszczonej i ekstrahowano przy użyciu 50 cm³ 80% etanolu.

Biorąc pod uwagę sposoby ekstrakcji zaprezentowane w literaturze, podjęto próbę doboru optymalnego sposobu ekstrakcji. Ekstrakcja przebiegała przy użyciu:

- łaźni ultradźwiękowej (3x 0,5h),
- wytrząsarki (3x 1h),
- łaźni wodnej w temperaturze 80°C (3x 1h) + 3x 2 minuty silnego wytrząsania.

Wykorzystując unitaryzację zmiennych obliczono miernik statystyczny i jako najbardziej efektywną ekstrakcję, przy której oznaczona aktywność przeciwutleniająca ekstraktów była najwyższa, wybrano ogrzewanie w łaźni wodnej w temperaturze 80°C z dodatkowym wytrząsaniem. W celu oddzielenia wyłoku od rozpuszczalnika po przeprowadzonej ekstrakcji próbki odwirowywano (10 minut, 4500 obrotów/ min). Otrzymane wyciągi zagęszczono za pomocą wyparki rotacyjnej. Zagęszczone ekstrakty umieszczono w kolbach miarowych o pojemności 25 cm³ i dopełniono alkoholem etylowym 96% do kreski. Przygotowane roztwory ekstraktów przechowywano w temperaturze -20°C do czasu analizy [Małecka i in. 2003].

W tak przygotowanych ekstraktach z wyłoków nasion roślin oleistych oznaczano zawartość suchej masy. Oznaczenie polegało na wysuszeniu 1 cm³ próbki ekstraktu do stałej masy w suszarce laboratoryjnej w temperaturze 105°C i zważeniu pozostałości. Zawartość suchej masy ekstraktu uwzględniono przy planowaniu wariantów próbek.

6.1.4. Przygotowanie próbek olejów z przeciwutleniaczami

Próbki oleju lnianego z dodatkiem 0,05%, 0,1% i 0,2%-owym ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych rozpuszczonych w 80% alkoholu etylowym otrzymano poprzez ich wymieszanie przy użyciu mieszadła magnetycznego, jednocześnie przedmuchując argonem do zaniku zapachu etanolu. Tą samą procedurę zastosowano równolegle dla próbek kontrolnych. W przypadku przygotowywania próbek oleju z dodatkiem ekstraktu rozmarynu, BHT oraz eksperymentalnych mieszanek olejowych, próbki wymieszano przy użyciu mieszadła magnetycznego.

6.2. Ocena właściwości przeciwutleniających ekstraktów

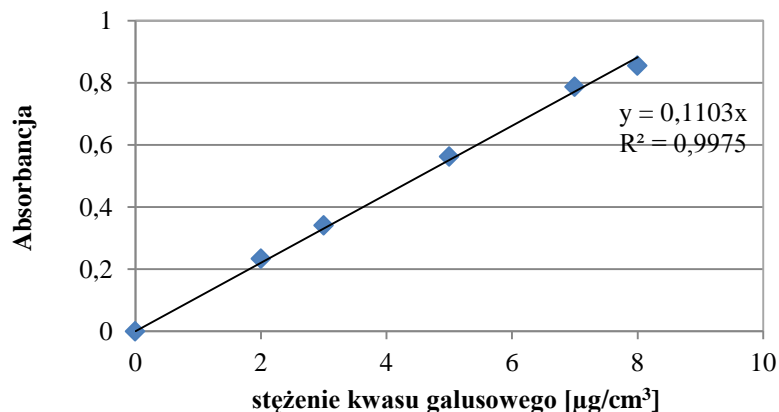
6.2.1. Oznaczanie zawartości związków fenolowych

Oznaczenie ogólnej zawartości związków fenolowych przeprowadzono metodą spektrofotometryczną z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu [Singleton i Rossi 1965]. Mechanizm reakcji opiera się na przeniesieniu elektronu (SET). W czasie trwania reakcji powstaje anion fenolowy redukujący odczynnik Folina-Ciocalteu i w efekcie zachodzi reakcja barwna.

Do kolb miarowych o pojemności 10 cm³ pobrano kolejno: 5 cm³ wody destylowanej, 0,5 cm³ odczynnika Folina-Ciocalteu, 0,1 cm³ ekstraktu. Stężenie dodanego ekstraktu zostało wyznaczone doświadczalnie i było uzależnione od zawartości związków fenolowych. Po 3 minutach inkubacji w temperaturze pokojowej do kolb dodano 1,5 cm³ 20% roztworu węglanu sodu i uzupełniono wodą destylowaną do kreski. Po upływie 2 godzin wykonano pomiar absorbancji przy długości fali $\lambda=725$ nm. Zastosowany odnośnik wykonano analogicznie dodając zamiast ekstraktu etanol.

Równolegle przygotowano krzywą wzorcową zależności absorbancji roztworu przygotowanego z użyciem kwasu galusowego (GAE) od jego stężenia w roztworze. W kolbie o pojemności 100 cm³ odważono 0,05 g kwasu galusowego i uzupełniono alkoholem etylowym do kreski. Z roztworu pobrano 10 cm³ do kolby o pojemności 50 cm³, a następnie uzupełniono alkoholem etylowym do kreski (roztwór roboczy kwasu galusowego). Dalszy sposób postępowania był identyczny z wcześniejszym opisem (zamiast ekstraktu stosowano odpowiednio rozcieńczony roztwór roboczy kwasu galusowego). Ogólną zawartość związków fenolowych w ekstraktach wyznaczono na podstawie krzywej wzorcowej (wykres 2).

Wykres 2. Krzywa wzorcową do oznaczania ogólnej zawartości związków polifenolowych ekstraktach w przeliczeniu na kwas galusowy (GAE)



6.2.2. Oznaczanie właściwości przeciwrodnikowych w teście z rodnikiem DPPH

Badanie aktywności przeciwrodnikowej ekstraktów prowadzono według metody Sanchez-Moreno, Larrauri i Saura-Calixto [1998], z modyfikacją polegającą na zastosowaniu roztworu rodnika DPPH o stężeniu 0,0025 g/100 cm³ rozpuszczonego w metanolu, etanolu lub octanie etylu (roztwory robocze) w zależności od rodzaju badanego ekstraktu. Rodnik DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazyl) jest stabilny w warunkach normalnych. W obecności przeciwutleniacza ulega redukcji, której towarzyszy zmiana barwy roztworu z fioletowej na żółtą oraz spadek absorbancji mierzonej przy długości fali $\lambda=515$ nm. Stężenie dodawanego ekstraktu oraz częstotliwość wykonywania pomiarów (30 sekund) zostały ustalone w sposób doświadczalny.

Do kuwety pobrano 2,4 cm³ roztworu roboczego DPPH oraz 0,1 cm³ ekstraktu, po czym zawartość kuwety wymieszano. Jako próbkę kontrolną zastosowano odpowiednio metanol, etanol lub octan etylu. Na podstawie otrzymanych wyników wyznaczono kinetyki reakcji próbek z rodnikiem DPPH podczas 10 minut inkubacji. Wyliczano procentową pozostałość rodnika DPPH zgodnie ze wzorem:

$$\% \text{ pozostałość rodnika DPPH} = \frac{[\text{DPPH} \cdot]_t}{[\text{DPPH} \cdot]_0} * 100 [\%]$$

w którym:

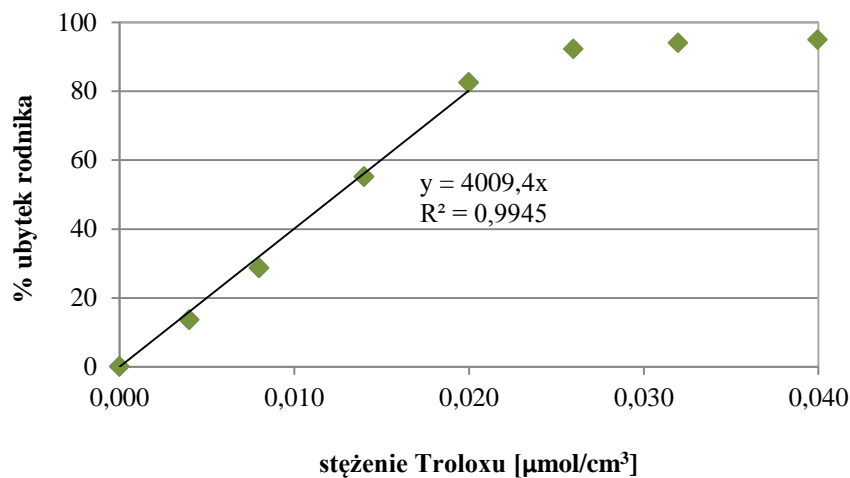
$[\text{DPPH} \cdot]_0$ – stężenie rodnika DPPH w roztworze roboczym,

$[\text{DPPH} \cdot]_t$ – stężenie rodnika po czasie t inkubacji próbki (roztworu roboczego z ekstraktem).

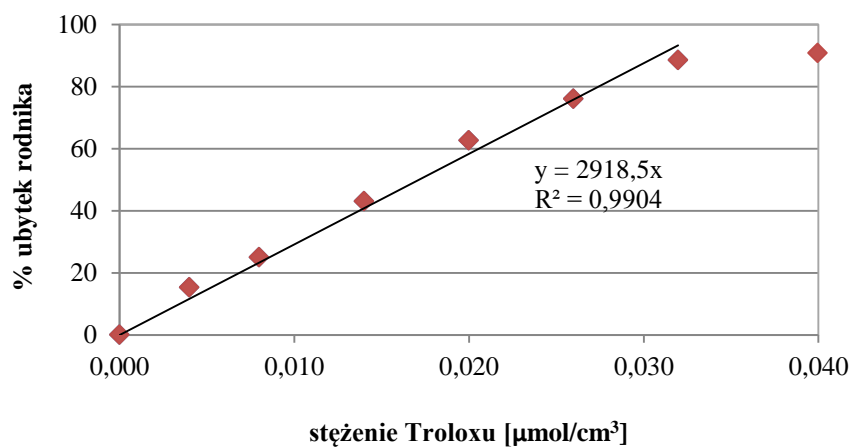
Stężenie rodnika w próbce w trakcie inkubacji wyznaczono na podstawie zmiany absorbancji.

W celu ujednoczenia wyników i możliwości ich porównania z rezultatami badań innych autorów przygotowano krzywe wzorcowe dla mieszaniny roztworu roboczego DPPH (2,4 cm³) i 0,1 cm³ roztworu Troloxu (zakres stężeń Troloxu 0-0,04 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ mieszaniny reakcyjnej) po 10 minutach inkubacji (wykres 3-5). W przypadku DPPH rozpuszczonego w metanolu liniowość stwierdzono do stężenia 0,02 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ mieszaniny reakcyjnej, a dla DPPH rozpuszczonego w etanolu i octanie etylu do stężenia 0,032 $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ mieszaniny reakcyjnej.

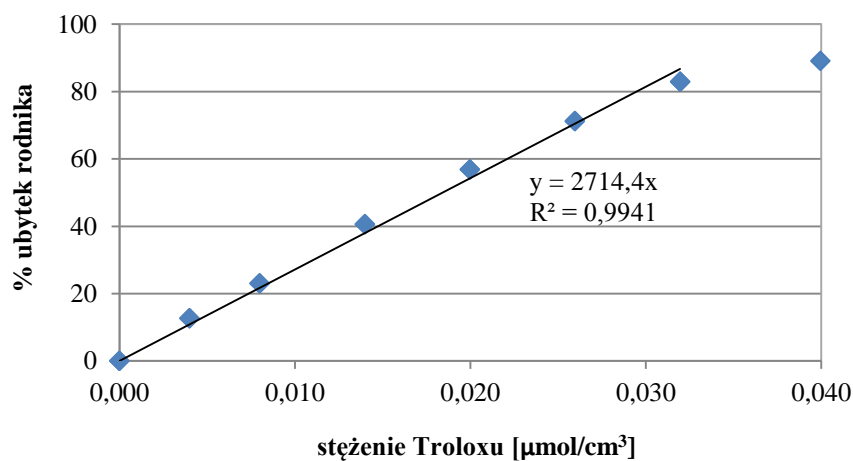
Wykres 3. Krzywa wzorcowa do oznaczenia aktywności przeciwrodnikowej (DPPH rozpuszczony w metanolu)



Wykres 4. Krzywa wzorcowa do oznaczenia aktywności przeciwrodnikowej (DPPH rozpuszczony w etanolu)



Wykres 5. Krzywa wzorcowa do oznaczenia aktywności przeciwrodnikowej (DPPH rozpuszczony w octanie etylu)



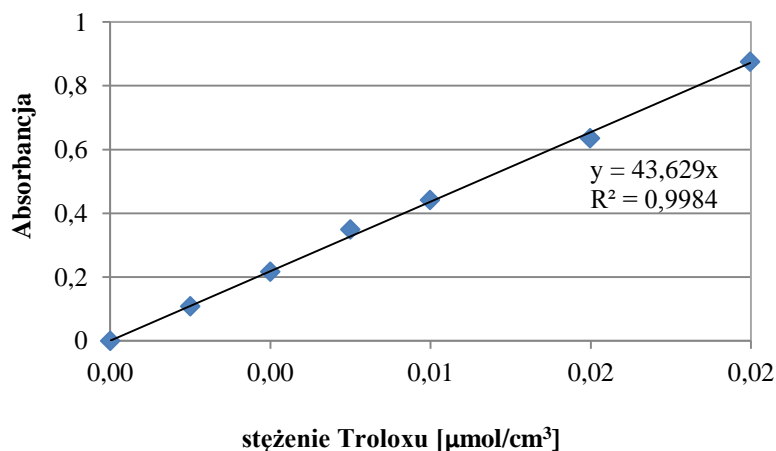
6.2.3. Oznaczanie siły redukującej testem FRAP

Właściwości redukujące badanych ekstraktów oceniono na podstawie testu FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power), który opiera się na ocenie zdolności redukcji kompleksu żelaza Fe^{3+} - TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-s-triazyny) do kompleksu Fe^{2+} - TPTZ przez badaną substancję. Redukcji tej towarzyszy spadek absorbancji układu reakcyjnego, co mierzy się spektrofotometrycznie przy długości fali $\lambda=593$ nm.

Do oceny siły redukującej FRAP ekstraktów z oleju wykorzystano metodykę Benzie i Strain [1996] z modyfikacjami zaproponowanymi przez Szydłowska-Czerniak i in. [2008]. Do oznaczenia siły redukującej FRAP sporządzono mieszaninę reakcyjną zawierającą 10 mmol/dm^3 roztworu TPTZ w 40 mmol/dm^3 HCl, 20 mmol/dm^3 $FeCl_3$, $0,1 \text{ mol/dm}^3$ buforu octanowego (pH=3,6) w proporcji 1:1:10. Do analizy pobrano $0,3 \text{ cm}^3$ ekstraktu z próbek olejów, 2 cm^3 mieszaniny reakcyjnej i uzupełniano wodą destylowaną do 10 cm^3 . Próbkę mieszano, po czym pozostawiono na 10 minut w temperaturze pokojowej. Następnie próbkę wirowano przez 10 minut i dokonywano pomiaru absorbancji wobec próbki kontrolnej (do kolby miarowej o pojemności 10 cm^3 pobrano 2 cm^3 mieszaniny reakcyjnej i uzupełniono wodą destylowaną do kreski).

Wartość FRAP (w mmol Troloxu/L oleju) poszczególnych próbek wyznaczono na podstawie krzywej wzorcowej (wykres 6), sporządzonej przy użyciu roztworu Troloxu, przygotowanego w zakresie stężeń $0-0,02 \text{ }\mu\text{mol/cm}^3$ mieszaniny reakcyjnej.

Wykres 6. Krzywa wzorcowo do oznaczenia siły redukującej testem FRAP



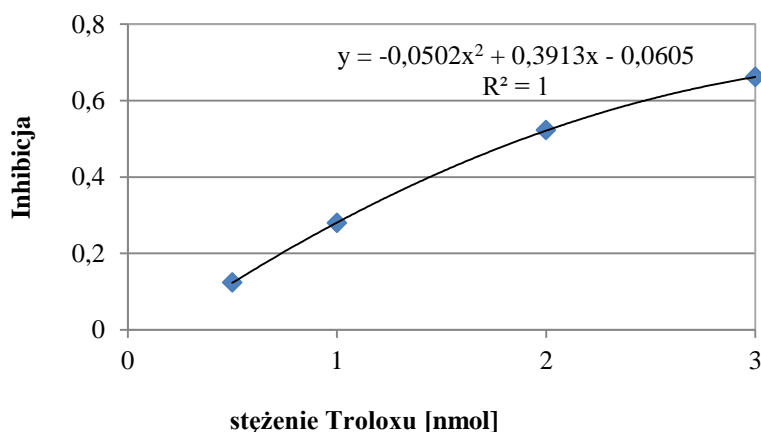
6.2.4. Pomiar fotochemiluminescencji (PCL)²

Metoda fotochemiluminescencji opiera się na połączeniu zjawiska fotochemicznego wytworzenia wolnych rodników oraz detekcji przy użyciu chemiluminescencji [Papadopoulos i in. 2003; Zielińska, Wiczkowski i Piskula 2008]. W oznaczeniu luminol odgrywa podwójną rolę jako sensybilizator oraz czynnik reagujący z rodnikami. Fotochemicznie generowane aniony ponadtlenkowe (poprzez luminol) są wychwytywane przez przeciwutleniacze obecne w próbce. Pozostała część niewygaszonych rodników w reakcji z luminolem wywołuje efekt chemiluminescencji [Navas i Jimenez 2007].

Pomiar fotochemiluminescencji (PCL) wykonano z wykorzystaniem aparatu Photochem®, zestawu ACL (zestaw odczynników do oznaczania pojemności przeciwutleniającej związków rozpuszczalnych w tłuszczach) oraz oprogramowania PCLsoft® (Analytik Jena AG, Niemcy). Oznaczenie przeprowadzono zgodnie z metodyką Popov i Lewin [1996] i instrukcją producenta aparatu [Analytik Jena AG manual 2005]. Próbkę rozpuszczono w n-heksanie w stosunku 1:1 (V/V). W zależności od aktywności przeciwutleniającej próbki rozcieńczono n-heksanem.

Aktywność przeciwutleniającą próbek wyrażono w mmol Troloxu/L oleju dla poszczególnych próbek na podstawie krzywej wzorcowej (wykres 7), sporządzonej przy użyciu roztworu Troloxu przygotowanego w zakresie stężeń 0,5-3 nmol.

Wykres 7. Krzywa wzorcowa do oznaczenia aktywności przeciwutleniającej metodą fotochemiluminescencji



² badania wykonano w Katedrze Technologii Żywności Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

6.3. Ocena zasięgu zmian jakościowych w próbkach oleju

6.3.1. Oznaczanie liczby kwasowej

Liczba kwasowa (LK) określa ilość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) zawartych w produkcie. Przyrost liczby kwasowej w próbce oleju lub tłuszczu wskazuje na hydrolizę triacylogliceroli. Wyraża się ją w mg KOH potrzebnych do zobojętnienia kwasów organicznych obecnych w 1 g tłuszczu. Liczbę kwasową oznaczano metodą miareczkową zgodnie z normą PN-EN ISO 660:2005 [PN-EN ISO 660:2005].

Do kolby stożkowej o pojemności 50 cm³ pobrano 1 g oleju z dokładnością do 0,001 g i dodano 5 cm³ 96% alkoholu etylowego. Roztwór miareczkowano 0,01 mol/L alkoholowym roztworem wodorotlenku potasu wobec fenoloftaleiny do momentu pojawienia się jasnoróżowego zabarwienia utrzymującego się przez 1 minutę. Równolegle wykonano próbę ślepą, bez dodatku oleju. Liczbę kwasową (LK) obliczono według wzoru:

$$LK = \frac{56,1 * V * c}{m} \text{ [mg KOH/g oleju]}$$

w którym:

V – objętość 0,1 molowego roztworu wodorotlenku potasu zużyta do miareczkowania, cm³,

c – stężenie roztworu wodorotlenku potasu, mol/L,

56,1 – ilość mg wodorotlenku potasu zawarta w 1 cm³ 1 molowego roztworu,

m – masa oleju, g.

6.3.2. Oznaczanie liczby nadtlenkowej

Liczba nadtlenkowa (LOO) określa zawartość nadtlenków i wodoronadtlenków powstałych w początkowych etapach utleniania lipidów. Pomiar liczby nadtlenkowej opiera się na oznaczeniu jodu wydzielonego z jodku potasu przez substancje obecne w próbce, uprzednio rozpuszczonej w rozpuszczalniku organicznym w środowisku kwaśnym. Powstały jod odmiareczkuje się mianowanym roztworem tiosiarczanu sodu w obecności roztworu skrobi jako wskaźnika końca reakcji (tzw. wizualne oznaczenie punktu końcowego).

Liczba nadtlenkowa została oznaczona metodą jodometryczną zgodnie z normą PN-ISO 3960:1996 [PN-ISO 3960:1996] z modyfikacją zaproponowaną przez Samotyję i Jurę [2012], polegającą na 10-krotnym zmniejszeniu objętości wszystkich dodawanych substancji w porównaniu z zalecanymi przez normę.

Do kolby stożkowej o pojemności 50 cm³ odważono około 0,5 g oleju z dokładnością 0,001 g. Naważkę oleju dokładnie wymieszano z 1 cm³ chloroformu. Do otrzymanej mieszaniny odmierzone 1,5 cm³ kwasu octowego i 0,1 cm³ nasyconego roztworu jodku potasu. Kolbę niezwłocznie zamknięto korkiem szklanym. Całość wytrząsano przez 1 minutę, a następnie pozostawiono w zaciemnionym miejscu, w temperaturze pokojowej. Po upływie 5 minut dodano 7,5 cm³ wody destylowanej i dokładnie wymieszano. Wydzielony jod miareczkowano 0,001 molowym, wodnym roztworem tiosiarczanu sodu wobec roztworu skrobi jako wskaźnika, do całkowitego odbarwienia, utrzymującego się przez co najmniej 30 sekund. Równoległe z oznaczeniem sporządzono próbę ślepa, bez dodatku oleju.

Liczbę nadtlenkową (LOO), wyrażoną w milirównoważnikach aktywnego tlenu w kilogramie próbki obliczono na podstawie podanego wzoru:

$$LOO = \frac{(V_1 - V_0) \cdot T}{m} * 1000 \text{ [meq O}_2\text{/kg oleju]}$$

w którym:

V₁ – objętość roztworu tiosiarczanu sodu zużyta do miareczkowania próbki oleju, cm³,

V₀ – objętość roztworu tiosiarczanu sodu zużyta do miareczkowania próby ślepej, cm³,

T – stężenie roztworu tiosiarczanu sodu, mol/L,

m – masa oleju, g.

6.3.3. Oznaczanie liczby anizydynowej

Pomiar liczby p-anizydynowej (LA) pozwala ocenić ilość wtórnych produktów utleniania lipidów, w tym wielkocząsteczkowych nielotnych związków karbonylowych (nasyconych i nienasyconych), powstających z rozpadu nadtlenków i wodoronadtlenków. Oznaczenie oparte jest na określeniu reaktywności wiązania karbonylowego aldehydu z grupą aminową p-anizydyny. Liczba anizydynowa określa 100-krotnie zwiększoną wartość absorbancji roztworu powstałego w wyniku reakcji 1 g tłuszczu w 100 cm³ mieszaniny rozpuszczalnika i odczynnika reakcyjnego (p-anizydyny) mierzoną przy długości fali λ=350nm w 1-centymetrowej kuwecie. Spektrofotometryczne pomiary liczby p-anizydynowej przeprowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 6885:2008 [PN-EN ISO 6885:2008].

Próbkę analityczną, odważoną do kolby miarowej z dokładnością do 0,001g, rozpuszczono w izooktanie do objętości 25 cm³. Do 2 próbek pobrano po 5 cm³ próbki, a następnie do jednej z nich dodano 1 cm³ odczynnika anizydynowego a do drugiej 1 cm³ lodowatego kwasu octowego. Do trzeciej próbki pobrano 5 cm³ izooktanu i 1 cm³ odczynnika anizydynowego (próba ślepa). Probówki zamknięto korkiem i wymieszano przez

wstrząsanie. Pozostawiono je w ciemnym miejscu, w temperaturze pokojowej, przez 8 minut. Po tym czasie nastąpił pomiar absorpcji w kuwetach kwarcowych wszystkich trzech próbek wobec izooktanu. Liczbę anizydynową obliczono ze wzoru:

$$LA = \frac{100 * Q * V}{m} * [1,2 * (A_1 - A_2 - A_0)]$$

w którym:

V – objętość, w jakiej została rozpuszczona próbka do badań, cm³ (V = 25 cm³),

Q – zawartość próbki w zmierzonym roztworze, na podstawie której wyrażana jest liczba anizydynowa, g/ cm³ (Q=0,01 g/ cm³),

m – masa próbki analitycznej, g,

A₀ – absorpcja nieprzereagowanego roztworu do badań,

A₁ – absorpcja przereagowanego roztworu do badań,

A₂ – absorpcja próby ślepej,

1,2 – współczynnik korekcyjny wynikający z rozcieńczenia roztworu do badań za pomocą 1 cm³ odczynnika anizydynowego lub lodowatego kwasu octowego.

6.3.4. Wyznaczanie wskaźnika oksydacji tłuszczu TOTOX

Wskaźnik oksydacji tłuszczu TOTOX [PN-EN ISO 6885:2008] wyraża całkowity stopień utlenienia tłuszczów i obliczany jest jako suma dwukrotnej wartości liczby nadtlenkowej (wyrażonej jako meq O₂/kg) oraz liczby anizydynowej, zgodnie ze wzorem:

$$TOTOX = 2 * LOO + LA$$

w którym:

LOO – liczba nadtlenkowa (wyrażona w milirównoważnikach O₂/kg),

LA – liczba anizydynowa.

6.3.5. Ocena barwy za pomocą metody spektrofotometrycznej

Ocena barwy za pomocą metody spektrofotometrycznej polega na pomiarze absorpcji próbek olejów roślinnych po ich rozpuszczeniu w n-heksanie przy dwóch długościach fal w zakresie widzialnym. Odczytane wartości absorpcji zsumowano i wyrażono jako barwa w postaci liczby całkowitej. Oznaczanie barwy spektrofotometrycznie zostało przeprowadzone zgodnie z normą PN-A-86934:1995 [PN-A-86934:1995].

W celu pomiaru absorbancji w zakresie charakterystycznym dla karotenoidów do próbówki szklanej odmierzone 1 cm³ oleju i dodano 10 cm³ n-heksanu. Probówkę zamknięto korkiem, dokładnie wymieszano jej zawartość, po czym zmierzono absorbancję przy długości fali $\lambda=442$ nm wobec heksanu. Pomiar absorbancji w zakresie charakterystycznym dla chlorofilów polegał na odmierzeniu 3 cm³ oleju do próbówki szklanej i dodaniu 3 cm³ n-heksanu. Probówkę zamknięto korkiem, dokładnie wymieszano jej zawartość, po czym zmierzono absorbancję przy długości fali $\lambda=668$ nm wobec heksanu.

Barwę obliczono ze wzoru:

$$X = 1000 * (A_{442} + A_{668})$$

w którym:

A_{442} – uśredniona wartość absorbancji barwników karotenoidowych,

A_{668} – uśredniona wartość absorbancji barwników chlorofilowych,

1000 – współczynnik przeliczeniowy.

6.3.6. Analiza związków lotnych za pomocą techniki GC-SPME/MS³

W celu izolacji związków lotnych za pomocą techniki SPME z oleju lnianego pobierano 10 cm³ produktu do fiolki o pojemności 20 cm³. Naczynie szczelnie kapslowano i wstawiano do termostatu o temperaturze 50°C. Po czasie 10 min przez membranę silikonowo-teflonową wprowadzano do fiolki igłę SPME z włóknem DVB/CAR/PDMS (diwinylobenzen/carboxen/polidimetylosiloksan; długość 2 cm). Adsorpcja związków lotnych trwała 30 minut, a desorpcja w komorze nastrojowej chromatografu gazowego 5 minut.

Rozdział związków lotnych izolowanych techniką HS-SPME wykonywano na chromatografie gazowym Agilent Technologies GC 7890A sprzężonym z kwadrupolowym spektrometrem masowym Agilent Technologies MS 5975C VL MSD (Triple-Axis Detector). Chromatograf wyposażony był w kolumnę kapilarną DB-5 (25 m x 0,2 mm x 0,33 μ m). Jako gaz nośny w analizie zastosowano hel (0,8 ml/min). Parametry analizy były następujące: temperatura pieca 35°C (1 min), wzrost temperatury o 3°C/min do 80°C (1 min), następnie 25°C/min do 260°C (10 min). Temperatura portu nastrojowego wynosiła 260°C, a temperatura interfejsu GC/MS 280°C.

Identyfikacji związków lotnych izolowanych z oleju lnianego dokonywano z wykorzystaniem dostępnych bibliotek widm masowych. Do ilościowej oceny zmian

³ badania wykonano w Zakładzie Koncentratów Spożywczych Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

w składzie i zawartości związków lotnych w badanych próbkach wykorzystano średnie wartości pól powierzchni pików.

6.4. Ocena sensoryczna próbek oleju

6.4.1. Dobór i szkolenie zespołu oceniających

Analiza sensoryczna próbek oleju lnianego została przeprowadzana przez zespół wykwalifikowanych oceniających przeszkolonych zgodnie z normami przedmiotowymi [PN-EN ISO 8586-2:2008; PN-ISO 3972:1998; PN-ISO 8586-1:1996]. Do zespołu oceniającego ostatecznie zrekrutowano 11 osób w wieku 21-58 lat. Osoby te pozytywnie zaliczyły testy oceniające ich wrażliwość i sprawność sensoryczną. Podstawowym wymogiem był brak awersji do oleju lnianego. Na podstawie przeprowadzonego wywiadu w oparciu o kwestionariusz ankietowy stwierdzono także, że osoby te:

- prawidłowo definiowały, czym jest żywność prozdrowotna,
- potrafiły prawidłowo określić wpływ poszczególnych składników żywności na zdrowie,
- znały pojęcie żywności wzbogaconej w kwasy omega-3 i omega-6 i potrafiły określić, w jakich segmentach rynku występują takie produkty,
- deklarowały, że zwracają uwagę na informacje umieszczone na opakowaniu produktów spożywczych (m.in. na termin przydatności do spożycia),
- wykazywały znajomość olejów roślinnych tłoczonych na zimno (w tym oleju lnianego),
- swój styl życia definiowały najczęściej jako zdrowy.

Szkolenie zespołu odbyło się według następującego schematu:

1. Zapoznanie oceniających z przedmiotem badań i metodami oceny sensorycznej stosowanymi w pracy.
2. Wybór deskryptorów typowych dla świeżego i przechowywanego oleju lnianego indywidualnie przez każdego oceniającego, a następnie przez cały zespół.
3. Ustalenie definicji wyróżników „metodą konsensusu”.
4. Oceny wstępne (szkoleniowe) wybranych próbek o różnym czasie przechowywania (równolegle dokonano oceny spójności odpowiedzi zespołu).
5. Zastosowanie metody wielokrotnych uporządkowań celem selekcji oceniających i wyboru osób o najwyższej sprawności dyskryminacyjnej.

6.4.2. Badania z wykorzystaniem przeszkolonego zespołu oceniającego

W badaniach wykorzystano metodę ilościowej analizy opisowej (ang. Quantitative Descriptive Analysis - QDA). Metodę tą, nazywaną również metodą profilowania smakowitości, wykorzystuje się do jakościowo-ilościowego określenia kompleksowej i szczegółowej charakterystyki produktu spożywczego. Podstawowym założeniem metody jest stwierdzenie, że na smakowitość składają się częściowo możliwe do zidentyfikowania cechy zapachowe oraz smakowe i częściowo zespół cech niemożliwych do zidentyfikowania oddzielnie [PN-ISO 6564:1999]. Do profilowej oceny oleju lnianego wytypowano następujące cechy organoleptyczne:

- smak gorzki,
- nutę orzechową,
- nutę utlenioną (jelką),
- nutę trawiastą.

Ocenę intensywności każdego wyróżnika przeprowadzono z wykorzystaniem 10-centymetrowej skali liniowej z oznaczonymi początkiem i końcem oraz określeniami brzegowymi (lewy brzeg - cecha niewyczuwalna; prawy brzeg - cecha bardzo intensywna) [PN-ISO 4121:1998]. Ponadto zespół oceniał ogólne wrażenie każdej próbki również z wykorzystaniem 10-centymetrowej skali liniowej z oznaczonymi początkiem i końcem. Ogólne wrażenie jest ogólną oceną produktu, w której bierze się pod uwagę odpowiedniość dla danego produktu obecności charakterystycznych nut, ich intensywności, możliwe do zidentyfikowania tło smakowitości i zharmonizowanie smakowitości [PN-ISO 6564:1999]. W pracy stosowano pojęcie ocena ogólna.

Badania panelowe odbywały się co 2 tygodnie dla eksperymentów prowadzonych w warunkach półki sklepowej i konsumenckiego użytkowania. Zakodowane próbki za pomocą 3-cyfrowego kodu podawano w bezwonnych, przezroczystych, plastikowych, jednorazowych naczynkach o pojemności 30 cm³. Z uwagi na to, że w pierwszym etapie pracy badaniom początkowo poddano 6 próbek oleju lnianego (L1-L6) oceny sensoryczne panelu wykonywano w dwóch sesjach przy zachowaniu odpowiednich odstępów czasowych między sesjami, by uniknąć zmęczenia sensorycznego. W celu zminimalizowania wpływu próbki poprzedzającej na ocenę następnej (tzw. carry-over effect), kolejność prezentacji próbek w ramach sesji była losowa, inna dla każdego oceniającego. Ponadto zestaw próbek w sesji był zmienny w kolejnych tygodniach badań, by ograniczyć efekt grupy.

By umożliwić porównanie wyników między sesjami i między poszczególnymi ocenami oraz w celu bieżącej weryfikacji wrażliwości sensorycznej oceniających wprowadzono próbkę kontrolną/odniesienia (K). Zakodowana próbka K za pomocą 3-cyfrowego kodu była obecna w każdym zestawie przez cały okres trwania badania. Próbkę K stanowił świeży olej lniany, przechowywany w warunkach zamrażalniczych (-20°C), bez dostępu światła w butelkach o pojemności 100 cm^3 . Do analiz przeprowadzanych w danym dniu stosowano olej ze świeżo otwartej butelki. Zastosowany sposób przechowywania próbki kontrolnej warunkował niezmiennosc jej cech organoleptycznych podczas całego okresu przechowywania (potwierdzono za pomocą analizy wariancji ANOVA).

Otrzymane wyniki ilościowej analizy opisowej wyrażono liczbowo (odległość od początku skali do miejsca zaznaczenia), a następnie sprawdzono rozkład danych i przeprowadzono analizę statystyczną wyników.

W celu wyznaczenia momentu, w którym daną próbkę należało usunąć z badania, rozważano zastosowanie metody COP (ang. cut-off point; ustalenie limitu tolerancji) [Hough i Garitta 2012]. Jednakże zróżnicowany profil smakowitości poszczególnych olejów spowodował niemożność wyznaczenia limitującej wartości smaku gorzkiego, przy której następowaloby odrzucenie wszystkich próbek. Dlatego też paneliści na każdej sesji byli proszeni o odpowiedź na pytanie, czy wyczuwalny poziom gorzkości w danej próbce stanowi podstawę do jej odrzucenia. W sytuacji, kiedy podczas dwóch kolejnych sesji ponad połowa oceniających dała odpowiedź pozytywną, podejmowano decyzję o usunięciu próbki z dalszych badań.

6.4.3. Sensoryczne badania konsumenckie

W przeprowadzonych badaniach konsumenckich wzięli udział studenci Wydziału Towaroznawstwa Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu, posiadający podstawową wiedzę z zakresu analizy sensorycznej. W celu scharakteryzowania grupy respondentów, przeprowadzono badanie z wykorzystaniem kwestionariusza ankietowego. Zadane pytania dotyczyły częstotliwości spożywania olejów roślinnych tłoczonych na zimno (w tym także oleju lnianego), znajomości prozdrowotnych właściwości oraz rynku oleju lnianego. Ponadto jedno pytanie dotyczyło świadomości oceniających w zakresie informacji umieszczanych na opakowaniu żywności (m.in. terminu przydatności do spożycia).

Zastosowano następujące metody:

- ocenę pożądalności konsumenckiej,
- tzw. prosty test różnicowy do wykrywania różnic między próbkami.

Ocena pożądalności konsumenckiej

Pożądalność jest odzwierciedleniem emocjonalnego stosunku konsumenta do ocenianego produktu, a jej miarą jest stopień, w jakim go lubi lub nie lubi. W badaniu zastosowano niestrukturowaną skalę hedoniczną z oznaczonymi początkiem i końcem (rysunek 9) [PN-ISO 4121:1998]. Oceniających proszono o zaznaczenie na skali pionową kreską oraz numerem próbki odczucia pożądalności zapachu i smaku poszczególnych próbek. Podczas jednej sesji podawano 2 lub 4 zakodowane próbki. Każdy respondent uczestniczył w dwóch sesjach, między którymi następowała co najmniej godzinna przerwa. W badaniu wzięło udział 100 oceniających. W pracy wykorzystano powyższą metodę do oceny pożądalności zapachu i smaku eksperymentalnych mieszanek olejowych.



Rysunek 9. Skala hedoniczna zastosowana w ocenie pożądalności konsumenckiej mieszanek olejowych

Źródło: opracowano na podstawie [PN-ISO 4121:1998]

Otrzymane wyniki wyrażono liczbowo (odległość od początku skali do miejsca zaznaczenia), a następnie sprawdzono rozkład danych i przeprowadzono odpowiednie testy statystyczne.

Wykrywanie różnic między próbkami

Ocenę różnicy sensorycznej między próbkami przeprowadzono metodą porównywania parami czyli tzw. prostym testem różnicowym (ang. same-different test) [ASTM E2139-05(2011)]. Test ten jest odpowiedni w sytuacji, gdy próbki charakteryzują się wysoką intensywnością smaku, powodują szybkie zmęczenie sensoryczne, nie mogą być konsumowane w dużych ilościach, a ich smak jest długo odczuwalny. Dlatego też w przypadku olejów i tłuszczów ta metoda może mieć szerokie zastosowanie w przeciwieństwie do metody trójkątowej lub „duo-trio”, które narażają oceniającego na szybsze zmęczenie sensoryczne [Rousseau, Meyer i O'Mahony 1998]. Z kolei w stosunku do metody parzystej daje konsumentowi możliwość odpowiedzi, że dwie próbki są takie same, co w przypadku metody parzystej jest najczęściej niemożliwe, gdyż komplikuje wnioskowanie statystyczne. Metoda ta nie jest specyficzna dla poszczególnych wyróżników

smakowitości produktów i z założenia nie jest stosowana do określenia wielkości różnicy między próbkami, lecz określenia, czy ta różnica występuje.

Każdy oceniający otrzymał parę zakodowanych próbek w jednej z czterech możliwych kombinacji (AA, AB, BB, BA) i miał zdefiniować, czy badane próbki są takie same czy różne pod względem smaku. Proszony był także o zdefiniowanie, czym różnią się dane próbki, o ile wyczuwalna była różnica (rysunek 10).

| | | |
|---|--------------|-----------|
| Oceniający:..... | Zestaw:..... | Data..... |
| Instrukcja oceny: | | |
| 1. Spróbuj kolejno próbkę oznaczoną kodem XYZ a następnie kodem ABC. | | |
| 2. Oceń, czy są takie same czy różne pod względem smaku. | | |
| 3. Zaznacz właściwą odpowiedź (X). | | |
| <input type="checkbox"/> Próbki są takie same | | |
| <input type="checkbox"/> Próbki różnią się | | |
| Komentarz (jeśli potrafisz zdefiniować, czym różnią się próbki to proszę o informację): | | |
| _____ | | |
| _____ | | |
| _____ | | |

Rysunek 10. Karta odpowiedzi dla prostego testu różnicowego

Źródło: opracowanie własne

W każdym badaniu uczestniczyło 100 oceniających. Metodę tą wykorzystano na początku trzeciego etapu badań chcąc ustalić, czy po dodaniu ekstraktu z rozmarynu i BHT do oleju lnianego nastąpiła wyczuwalna zmiana smaku.

6.5. Analiza statystyczna wyników

Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem programu Microsoft Excel 2010, STATISTICA 10 oraz IBM SPSS Statistics 21. Zakres stosowanych analiz był różny w zależności od charakteru danych uzyskanych poszczególnymi metodami. Każdy spośród przedstawionych w pracy wyników badań fizykochemicznych stanowił średnią arytmetyczną co najmniej trzech równoległych pomiarów. W przeprowadzonej analizie danych za poziom istotności przyjęto $\alpha=0,05$.

1. Analizę statystyczną wyników z przeprowadzonych badań sensorycznych z udziałem zespołu oceniającego przeprowadzono przy zastosowaniu testów parametrycznych. Wybór tych testów uwarunkowany był zastosowaniem zespołu o odpowiednich kwalifikacjach i pewnym stopniu przeszkolenia. Ponadto, rozkład danych był normalny lub zbliżony do normalnego [Baryłko-Pikielna i Matuszewska 2009].

W przypadku wyników oceny pożądalności konsumennej próbek, z uwagi na występowanie w większości przypadków rozkładu normalnego oraz, że w badaniu brała udział duża grupa respondentów zastosowano testy parametryczne. Dla sprawdzenia poprawności zastosowanych testów równolegle przeprowadzono testy nieparametryczne (test Friedmana oraz test kolejności par Wilcoxon – test dla danych zależnych) [Baryłko-Pikielna i Matuszewska 2009], które dały te same wyniki, co testy parametryczne.

Również w przypadku wyników badań fizykochemicznych zastosowano testy parametryczne.

Wyznaczono podstawowe statystyki opisowe (średnia arytmetyczna, odchylenie standardowe, współczynnik zmienności). Celem porównania wartości średnich przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Gdy oznaczony poziom istotności jest wyższy niż $\alpha=0,05$, nie mamy podstaw do odrzucenia hipotezy zerowej, zakładającej, że średnie z poszczególnych oznaczeń są równe. Z kolei dla istotności mniejszej od $\alpha=0,05$, możemy przyjąć hipotezę alternatywną, która zakłada, że średnie różnią się. Również statystyka F pozwala stwierdzić, czy dany czynnik istotnie wpływa na cechę. Obliczoną wartość statystyki F (tzw. F empiryczne - F_{emp}) odnoszono do wartości krytycznej z rozkładu F (F krytyczne - F_{kr}) dla założonego poziomu istotności (α) i określonej liczby stopni swobody ($df_1=k-1$ oraz $df_2=N-k$, gdzie N - liczba wszystkich pomiarów, k - liczba niezależnych prób/grup). Jeżeli $F_{emp} \geq F_{kr}$ - jest podstawa do odrzucenia hipotezy zerowej i stwierdzenia, iż istnieje co najmniej jedna para średnich, która różni się między sobą. Zatem czynnik doświadczalny wpływa statystycznie na cechę. W przeciwnym przypadku, nie ma podstaw do odrzucenia H_0 [Nawojczyk 2010].

Dla zweryfikowania istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano odpowiednie testy post-hoc (m.in. test Tukey'a).

2. W celu określenia relacji pomiędzy poszczególnymi parametrami, wyznaczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona. Znak współczynnika korelacji informuje o kierunku korelacji, natomiast jego bezwzględna wartość - o sile związku.

3. Przeprowadzono analizę regresji liniowej, która ma na celu wyznaczenie takich współczynników regresji (współczynników w modelu liniowym), aby model jak najlepiej przewidywał wartość zmiennej zależnej i aby błąd oszacowania był jak najmniejszy [Nawojczyk 2010].
4. Wyniki analizy związków lotnych opracowano stosując metodę wyodrębniania głównych składowych (PCA). Jest to technika pozwalająca na redukcję czynników potrzebnych do opisanie dużej liczby skorelowanych ze sobą zmiennych, przy zachowaniu jak największej ilości informacji o oryginalnych wartościach. Polega ona na wprowadzeniu nowego układu niezależnych zmiennych - składowych głównych, takich że pierwszych kilka składowych zawiera większość informacji o oryginalnych zmiennych. W tym celu wykorzystuje się bazę wektorów własnych rozpatrywanej przestrzeni [Mazerski 2000].
5. W celu przeprowadzenia wnioskowania statystycznego wyników prostego testu różnicowego zastosowano test niezależności chi-kwadrat [Meilgaard, Civille i Carr 1999]. Wyniki badań sklasyfikowano w postaci tablicy według jednej cechy w r wierszach i wg drugiej cechy w k kolumnach. Wnętrze tablicy niezależności stanowią liczebności n_{ij} elementów próby, które spełniają jednocześnie kryteria zawarte w i -tym wierszu i j -tej kolumnie. Tablica niezależności jest podstawą weryfikacji hipotezy głoszącej, że w populacji nie ma zależności między cechami (zmiennymi) X i Y.

W przypadku zastosowanego testu różnicowego dla każdego wariantu próby tabela 2x2 przyjęła postać (tabela 23):

Tabela 23. Układ wyników testu różnicowego

| | | Otrzymane próbki | | |
|--------------|------------|------------------|--------------|------------|
| | | AA lub BB | AB lub BA | |
| Wskazania | takie same | n_{ij} | n_{ij} | suma rzędu |
| oceniających | różne | n_{ij} | n_{ij} | suma rzędu |
| | | suma kolumny | suma kolumny | suma |

Źródło: opracowano na podstawie [Meilgaard, Civille i Carr 1999]

Do weryfikacji powyższych hipotez zastosowano statystykę χ^2 , której wartość wyliczono ze wzoru:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k \frac{(n_{ij} - \hat{n}_{ij})^2}{\hat{n}_{ij}}$$

w którym:

n_{ij} – obserwowana częstość komórki,

\hat{n}_{ij} – oczekiwana (teoretyczna) częstość komórki.

Liczebności teoretyczne obliczono ze wzoru:

$$\hat{n}_{ij} = \frac{\sum_{j=1}^k n_{ij} \cdot \sum_{i=1}^r n_{ij}}{n}$$

w którym:

$\sum_{j=1}^k n_{ij}$ – suma kolumny, w której znajduje się n_{ij} częstość,

$\sum_{i=1}^r n_{ij}$ – suma rzędu, w której znajduje się n_{ij} częstość,

n – suma wszystkich obserwacji.

Z tablic rozkładu chi-kwadrat odczytano wartość statystyki χ^2 przy poziomie istotności α i przy $(r-1)(k-1)$ stopniach swobody, czyli: $\chi_{\alpha; (r-1)(k-1)}^2$. Jeżeli $\chi^2 \geq \chi_{\alpha; (r-1)(k-1)}^2$ hipoteza zerowa H_0 jest odrzucana na rzecz hipotezy alternatywnej (różnica istotna statystycznie). W sytuacji, gdy $\chi^2 < \chi_{\alpha; (r-1)(k-1)}^2$, nie ma podstaw do odrzucenia H_0 o niezależności cech (różnica nieistotna statystycznie).

6.6. Wykaz odczynników, aparatury i sprzętu laboratoryjnego stosowanych w pracy

W celu przeprowadzenia badań zastosowano następujące odczynniki:

- aceton, Chempur, Piekary Śląskie
- alkohol etylowy, POCH, Gliwice
- alkohol metylowy, STANLAB, Lublin
- chlorek żelaza, Sigma-Aldrich, Niemcy
- chloroform czda, POCH, Gliwice
- DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl), Sigma-Aldrich, Niemcy
- etylu octan czda, Chempur, Piekary Śląskie
- fenoloftaleina, Chempur, Piekary Śląskie
- izooktan czda, POCH, Gliwice
- jodek potasu, STANLAB, Lublin
- kwas galusowy, Sigma-Aldrich, Niemcy
- kwas octowy, POCH, Gliwice
- kwas solny, firmy POCH, Gliwice
- metanolan sodu, POCH, Gliwice
- n-heksan, Chempur, Piekary Śląskie
- octan sodu, POCH, Gliwice
- odczynnik Folin-Ciocalteu, Fluka, Sigma-Aldrich, Niemcy
- p-anizydyna, Fluka, Steinheim, Niemcy
- skrobia, POCH, Gliwice
- wzorcowa mieszanina 37 estrów metylowych kwasów tłuszczowych (FAME), Supelco, Sigma-Aldrich, Niemcy
- tiosiarczan sodu czda, Chempur, Piekary Śląskie
- TPTZ (2,4,6-tripirydylo-s-traizyna), Fluka, Sigma-Aldrich, Niemcy
- TROLOX (6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochromian-2-kwas karboksylowy), Sigma-Aldrich, Niemcy
- węglan sodu bezwodny czda, Chempur, Piekary Śląskie
- woda destylowana
- wodorotlenek potasu, POCH, Gliwice
- zestaw ACL, Analytik Jena AG, Niemcy

Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem następującej aparatury i ważniejszego sprzętu laboratoryjnego:

- chromatograf gazowy Agilent Technologies GC 7890A sprzężony z kwadrupolowym spektrometrem masowym Agilent Technologies MS 5975C VL MSD (Triple-Axis Detector),
- chromatograf gazowy Hewlett-Packard 5890 Series II firmy wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID),
- cieplarka laboratoryjna, Memmert,
- ekstraktor SER 148/3, VELP,
- kuwety kwarcowe o długości drogi optycznej 10 mm, Hellma Analytics,
- kuwety szklane o długości ścieżki optycznej 10 mm, Hellma Analytics,
- łaźnia wodna MLL 547, Poch,
- mieszadło magnetyczne typu ES - 21H, Wigo,
- myjka ultradźwiękowa, Ultron,
- Photochem®, Analytik Jena AG,
- pipety automatyczne,
- spektrofotometr UV-VIS Genesis 6, Milton - Roy,
- suszarka laboratoryjna z termoregulacją,
- waga analityczna z dokładnością do $\pm 0,0001$,
- wirówka MPW 351E,
- wortex BVX-10,
- wyparka rotacyjna Rotavapor R-114, Buchi,
- wytrząsarka DOS-10M, Elmi,

7. Wyniki badań i ich dyskusja

7.1. Ocena stabilności próbek oleju lnianego i innych olejów roślinnych tłoczonych na zimno w warunkach praktycznego składowania (warunki półki sklepowej i konsumenckiego użytkowania)

7.1.1. Ocena parametrów jakościowych świeżych olejów tłoczonych na zimno

Skład kwasów tłuszczowych badanych olejów roślinnych tłoczonych na zimno

Właściwości fizykochemiczne i stabilność oksydacyjna olejów roślinnych jest uzależniona głównie od profilu kwasów tłuszczowych, a także składu ilościowo-jakościowego frakcji nieglicerydowej. Wysoki stopień nienasycenia kwasów tłuszczowych determinuje trwałość oleju, gdyż na skutek przemian labilnych kwasów tłuszczowych może dojść do obniżenia jakości sensorycznej produktu i wartości odżywczej w trakcie przechowywania.

Analizie składu kwasów tłuszczowych poddano 6 olejów lnianych oraz oleje: rzepakowy, z orzecha włoskiego, z pestek dyni i słonecznikowy, które następnie przechowywano w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania (tabela 24).

Tabela 24. Skład kwasów tłuszczowych badanych olejów roślinnych tłoczonych na zimno [%]

| próbka | C16:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 (n-6) | C18:3 (n-3) | C18:3 (n-6) | C20:0 | C20:1 | Σ NKT | Σ JNKT | Σ WNKT | n-6/ n-3 |
|--------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------|-------|-------|----------|-----------|-----------|-------------|
| L1 | 5,9 | 4,0 | 22,1 | 16,8 | 50,8 | n.w. | 0,2 | 0,2 | 10,1 | 22,3 | 67,6 | 0,3 |
| L2 | 5,6 | 3,8 | 17,1 | 12,2 | 61,1 | n.w. | 0,1 | 0,1 | 9,5 | 17,2 | 73,3 | 0,2 |
| L3 | 6,4 | 5,3 | 24,7 | 17,8 | 45,5 | n.w. | 0,1 | 0,1 | 11,8 | 24,8 | 63,4 | 0,4 |
| L4 | 6,1 | 3,6 | 18,5 | 17,6 | 54,0 | n.w. | 0,1 | 0,1 | 9,8 | 18,6 | 71,6 | 0,3 |
| L5 | 5,8 | 4,0 | 18,9 | 17,2 | 53,9 | n.w. | 0,1 | 0,1 | 9,9 | 19,0 | 71,1 | 0,3 |
| L6 | 6,5 | 3,6 | 16,2 | 70,1 | 3,4 | n.w. | 0,1 | 0,1 | 10,2 | 16,3 | 73,5 | 20,6 |
| RZ | 5,6 | 1,9 | 63,0 | 18,7 | 9,2 | n.w. | 0,5 | 1,1 | 8,7 | 64,0 | 28,4 | 2,1 |
| OW | 7,1 | 2,0 | 18,7 | 60,0 | 12,1 | n.w. | 0,1 | n.w. | 9,2 | 18,7 | 72,1 | 5,0 |
| PD | 12,7 | 4,9 | 28,9 | 53,1 | 0,4 | n.w. | n.w. | n.w. | 17,6 | 28,9 | 53,5 | 136,2 |
| SŁ | 6,6 | 3,4 | 28,1 | 61,4 | 0,5 | n.w. | n.w. | n.w. | 10,0 | 28,1 | 61,9 | 122,8 |

n.w. - nie wykryto; <0,1%

Σ NKT – suma nasyconych kwasów tłuszczowych

Σ JNKT – suma jednonienasyconych kwasów tłuszczowych

Σ WNKT – suma wielonienasyconych kwasów tłuszczowych

Oznaczony profil kwasów tłuszczowych olejów był typowy dla surowca, z którego otrzymano olej i zgodny z danymi literaturowymi [Choo, Birch i Dufour 2007; Dubois i in. 2007]. Średnia zawartość kwasu α -linolenowego w olejach lnianych L1-L5 wynosiła od 45,5% do 61,1%. Z kolei próbka oleju lnianego L6 pochodziła z odmiany niskolinolenowej Linolia i zawierała średnio 3,4% kwasu α -linolenowego oraz 70,1% kwasu linolowego. Oleje lniane L1-L5 wykazały niski stosunek kwasów z rodziny n-6 do kwasów z rodziny n-3 na poziomie 0,2-0,4, natomiast L6 bardzo wysoki - 20,6. Wszystkie oleje, z wyjątkiem oleju rzepakowego, wykazały wysoki poziom wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w zakresie od 53,5% (olej z pestek dyni) do 73,5% (olej lniany L6). W przypadku oleju rzepakowego dominował jednonienasycony kwas tłuszczowy - kwas oleinowy (63,0%).

Wybrane cechy fizykochemiczne badanych olejów roślinnych tłoczonych na zimno

Tabela 25 przedstawia wybrane właściwości fizykochemiczne badanych olejów roślinnych tłoczonych na zimno otrzymanych bezpośrednio od producenta. Próbkę olejów wykazywały dobrą jakość, a wartości badanych parametrów były charakterystyczne dla surowca, z którego otrzymano olej i istotnie różniły się dla poszczególnych olejów. Zawartość pierwotnych produktów oksydacji w badanych olejach lnianych (L1-L6) była na niskim poziomie i kształtowała się w zakresie od 0,56 do 1,17 meq O₂/kg oleju. Jest to zgodne z wynikami Choo, Birch i Dufour [2007], którzy oznaczyli poziom liczby nadtlencowej 7 olejów lnianych z Nowej Zelandii na poziomie nieprzekraczającym 3 meq O₂/kg oleju. Najniższą liczbę nadtlencową (LOO) posiadał olej lniany niskolinolenowy L6 (0,56 ± 0,02 meq O₂/kg oleju), podczas gdy najwyższą wartość oznaczono dla oleju słonecznikowego (10,48 ± 0,67 meq O₂/kg oleju). Równie wysoką zawartość pierwotnych produktów oksydacji w oleju słonecznikowym oznaczyli w swoich badaniach de Leonardis, Macciola i di Rocco [2003] oraz Martín-Polvillo, Márquez-Ruiz i Dobarganes [2004] (odpowiednio 8,90 i 8,00 meq O₂/kg oleju). Oznaczone wartości liczby nadtlencowej próbek olejów roślinnych są istotnie niższe niż podaje Wroniak, Kwiatkowska i Krygier [2006] dla oleju słonecznikowego (17,55 meq O₂/kg oleju), z pestek dyni (27,62 meq O₂/kg oleju) i rzepakowego (5,23 meq O₂/kg oleju) czy też Rudzińska, Kuzuś i Wąsowicz [2001], którzy oznaczyli zawartość pierwotnych produktów utleniania na poziomie 12,72 meq O₂/kg oleju dla oleju rzepakowego, 20,78 meq O₂/kg oleju dla oleju słonecznikowego oraz 6,56 meq O₂/kg dla oleju lnianego. Może to wynikać, z faktu, że próbki olejów wykorzystane w badaniach opublikowanych w powyższych pracach zostały zakupione w sieci detalicznej i mogły być już przez pewien czas przechowywane. Natomiast w zrealizowanych badaniach wszystkie oleje były świeżo

wytłoczone i zostały dostarczone bezpośrednio przez producenta. Wartości liczby nadtlenkowej badanych próbek olejów nie przekraczały maksymalnego poziomu 15 meq O₂/kg oleju dla olejów z pierwszego tłoczenia oraz olejów i tłuszczów tłoczonych na zimno określonego w Kodeksie Żywnościowym [Codex Standard 19-1981 2013; Codex Standard 210-1999 2013].

Tabela 25. Cechy fizykochemiczne próbek olejów tłoczonych na zimno wykorzystanych w badaniach

| olej | liczba nadtlenkowa [meq O ₂ /kg oleju] | liczba anizydynowa | liczba kwasowa [mg KOH/g oleju] | barwa** |
|------|--|---------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| L1 | 0,95 ^{ab} ± 0,03 | 0,60 ^{bc} ± 0,01 | 0,72 ^a ± 0,00 | 469 ^c ± 2 |
| L2 | 0,77 ^{ab} ± 0,00 | 0,34 ^a ± 0,01 | 0,76 ^a ± 0,01 | 255 ^{abc} ± 6 |
| L3 | 0,79 ^{ab} ± 0,01 | 0,72 ^c ± 0,04 | 3,13 ^d ± 0,02 | 483 ^c ± 0 |
| L4 | 0,79 ^{ab} ± 0,02 | 0,62 ^c ± 0,02 | 0,58 ^a ± 0,02 | 382 ^{bc} ± 13 |
| L5 | 1,17 ^b ± 0,00 | 1,28 ^d ± 0,08 | 1,39 ^b ± 0,15 | 382 ^{bc} ± 18 |
| L6 | 0,56 ^a ± 0,02 | 0,67 ^c ± 0,00 | 1,51 ^b ± 0,01 | 407 ^{bc} ± 4 |
| RZ | 2,61 ^c ± 0,39 | 0,70 ^c ± 0,01 | 0,67 ^a ± 0,01 | 410 ^{bc} ± 5 |
| OW | 1,23 ^b ± 0,06 | 0,38 ^a ± 0,03 | 2,07 ^c ± 0,05 | 225 ^{ab} ± 4 |
| PD | 8,02 ^d ± 0,00 | 1,24 ^d ± 0,09 | 0,73 ^a ± 0,01 | 6150 ^d ± 184 |
| SŁ | 10,48 ^e ± 0,67 | 0,44 ^{ab} ± 0,02 | 4,24 ^e ± 0,03 | 82 ^a ± 1 |

*średnie oznaczone różnymi literami w tej samej kolumnie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

** barwa ogółem: X = 1000 * (A₄₄₂ + A₆₆₈)

Wartość liczby p-anizydynowej (LA), która jest miarą ilości wtórnych produktów utleniania lipidów, była niska i wahała się w zakresie od 0,34 dla oleju lnianego L2 do 1,28 dla oleju lnianego L5, co zgodnie z wytycznymi zaproponowanymi przez Subramanian i in. [2000] oznacza oleje dobrej jakości (LA≤2). W badaniach prowadzonych przez Choo, Birch i Dufour [2007] LA olejów lnianych wahała się w nieco węższym zakresie od 0,36 do 0,74. Z kolei, zgodnie z wynikami zaprezentowanymi przez Rudzińską, Kazuś i Wąsowicza [2001] oznaczona zawartość związków karbonylowych (wyrażonych jako LA) była wyższa w przypadku oleju rzepakowego (4,04) oraz oleju słonecznikowego (1,53), natomiast dla oleju lnianego wyniosła 0,50.

W celu określenia stopnia hydrolizy olejów roślinnych tłoczonych na zimno oznaczono zawartość wolnych kwasów tłuszczowych wyrażoną jako liczba kwasowa (LK). Badane oleje lniane osiągnęły zróżnicowane zawartości wolnych kwasów tłuszczowych. Oleje L1, L2, L4 wykazały niewielką zawartość LK na statystycznie tożsamym poziomie (α=0,05), który był zbliżony do wartości liczby kwasowej dla oleju lnianego oznaczonej w badaniach Popa i in. [2012] (0,80 mg KOH/g oleju). Zawartość wolnych kwasów

tłuszczowych w olejach lnianych L5 i L6 była na nieco wyższym poziomie. Z kolei olej lniany L3 charakteryzował się zdecydowanie wyższą zawartością na poziomie 3,13 mg KOH/g dla oleju. Stopień hydrolizy tłuszczu olejów lnianych z Nowej Zelandii wynosił od 0,50 do 2,50 mg KOH/g dla oleju. Zgodnie z Kodeksem Żywnościowym [Codex Standard 19-1981 2013; Codex Standard 210-1999 2013] liczba kwasowa olejów i tłuszczów tłoczonych na zimno nie powinna przekraczać 4,0 mg KOH/g tłuszczu lub oleju. Jedynie w przypadku próbki oleju słonecznikowego wartość liczby kwasowej przekroczyła graniczny limit, co może być związane ze specyfiką surowca lub sposobem przetworzenia nasion.

Barwa olejów lnianych oznaczona metodą spektrofotometryczną kształtowała się na umiarkowanym poziomie od 255 dla próbki L2 do 483 dla próbki oleju lnianego L3. Maniak, Zdybel i Bogdanowicz [2012] oznaczyli barwę w olejach lnianych produkowanych tradycyjnie na Lubelszczyźnie na istotnie wyższym poziomie (735 i 881), co może być spowodowane inną odmianą lub pochodzeniem nasion lnu. Spośród badanych próbek olejów, olej słonecznikowy wykazał istotnie najniższe wartości barwy, podczas gdy olej z pestek dyni znacząco najwyższe. Również w wynikach badań opublikowanych przez Wroniak, Kwiatkowską i Krygiera [2006] stwierdzono, że najjaśniejszą barwę posiadał olej słonecznikowy, a najciemniejszą olej z pestek dyni. Barwa olejów tłoczonych na zimno uwarunkowana była surowcem, z którego uzyskano olej.

Ocena sensoryczna badanych olejów roślinnych tłoczonych na zimno

Próbki olejów lnianych (L1-L6), które stanowiły główny przedmiot badań, poddano ocenie sensorycznej z wykorzystaniem metody profilowania smakowości (QDA). 11-osobowy przeszkolony panel sensoryczny oceniał intensywność nuty orzechowej, utlenionej (jełkiej), trawiastej oraz smaku gorzkiego z wykorzystaniem 10-centymetrowej skali liniowej. Ponadto dokonano oceny ogólnej próbek stosując 10-centymetrową skalę liniową.

Świeże oleje lniane charakteryzowały się zróżnicowanym profilem smakowości, co zostało zaprezentowane w tabeli 26 i w celu lepszej wizualizacji na wykres 8.

Tabela 26. Profil smakowości świeżych olejów lnianych tłoczonych na zimno

| | L1 | L2 | L3 | L4 | L5 | L6 |
|----------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| nuta orzechowa | 2,1 ^a | 1,8 ^a | 7,0 ^c | 2,3 ^a | 4,1 ^b | 4,0 ^b |
| nuta utleniona | 1,2 ^a | 0,9 ^a | 1,7 ^a | 0,9 ^a | 0,7 ^a | 1,1 ^a |
| nuta trawiasta | 4,5 ^{ab} | 4,9 ^b | 1,7 ^a | 4,0 ^{ab} | 2,3 ^{ab} | 3,3 ^{ab} |
| smak gorzki | 1,9 ^{ab} | 2,8 ^{bc} | 2,0 ^{abc} | 3,4 ^c | 2,6 ^{bc} | 1,1 ^a |
| ocena ogólna | 3,9 ^{ab} | 2,9 ^a | 6,2 ^c | 4,5 ^{abc} | 4,4 ^{abc} | 5,2 ^{bc} |

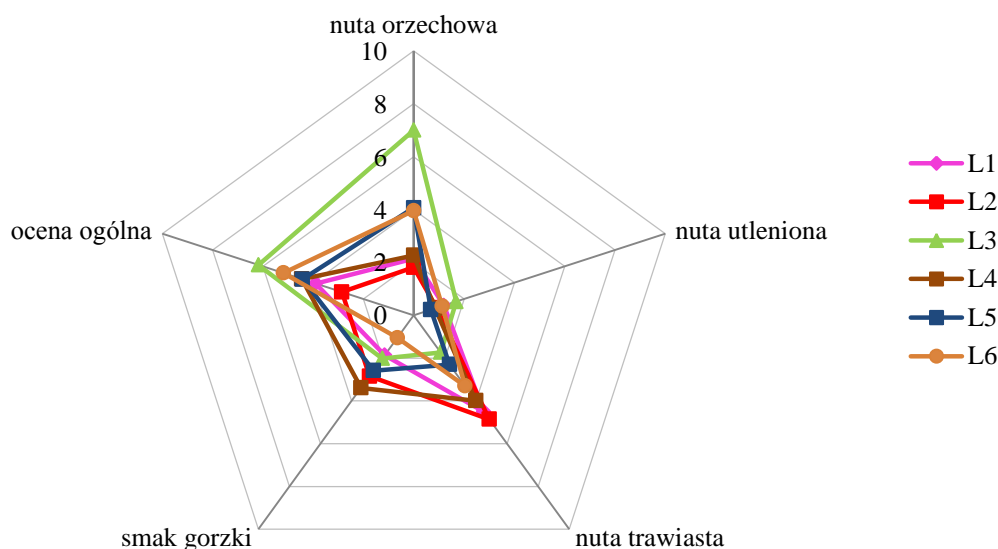
* średnie oznaczone różnymi literami w tym samym rzędzie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

Intensywność nuty orzechowej kształtowała się w szerokim zakresie od 1,8 dla próbki oleju lnianego L2 do 7,0 dla próbki L3. Z kolei intensywność nuty trawiastej wynosiła od 1,7 dla oleju L3 do 4,9 dla oleju L2. Analiza korelacji między tymi dwiema nutami wykazała silnie ujemną korelację ($r=-0,928$), co oznacza, że im bardziej intensywną nutą orzechową charakteryzował się dany olej, tym mniej wyczuwalna była nuta trawiasta.

Intensywności nuty utlenionej (jełkiej) badanych próbek były niskie (nie przekroczyły 1,7 jednostek umownych skali linowej), a różnice pomiędzy intensywnościami próbek nieistotne statystycznie. Natomiast intensywność smaku gorzkiego była umiarkowana, zróżnicowana i wahała się od 1,1 dla oleju L6 do 3,4 dla oleju L4. Zgodnie z badaniami Brühla i in. [2007] świeżo wytłoczone oleje lniane charakteryzują się delikatnie orzechową, łagodnie paloną nutą, ale smak gorzki pojawia się już po 1 dniu przechowywania. Dlatego też, mimo że badane oleje otrzymano bezpośrednio od producenta, stwierdzono smak gorzki na wyczuwalnym poziomie.

Ocena ogólna olejów lnianych osiągnęła wartość od 2,9 dla próbki L2 do 6,1 jednostek dla próbki L3 w skali od 1 do 10. Silnie dodatnio z oceną ogólną była skorelowana nuta orzechowa ($r=0,891$). Jednocześnie nuta trawiasta była silnie ujemnie skorelowana z oceną ogólną oleju ($r=-0,841$).

Wykres 8. Profil smakowitości świeżych olejów lnianych tłoczonych na zimno



Oleje lniane charakteryzowały się zróżnicowanym profilem smakowitości, jednakże nie zaobserwowano istotnego wpływu odmiany nasion lnu na postrzegane cechy organoleptyczne. Próbka oleju o niskiej zawartości kwasu α -linolenowego (L6)

charakteryzowała się niskim poziomem wyczuwalnego smaku gorzkiego, jednak był on statystycznie tożsamy z intensywnością smaku gorzkiego w próbkach L1 i L3 dla $\alpha=0,05$.

W próbce L2 wyczuwalny był także posmak kminku, jednakże z uwagi na fakt, że nie wykryto go w żadnej innej próbce, nie monitorowano zmian jego intensywności.

Mając na uwadze powyższe wyniki stwierdzono, że badane oleje lniane wykazały odpowiednią jakość pod względem cech organoleptycznych i kontynuowano badania z wykorzystaniem wszystkich olejów.

7.1.2. Zmiany cech fizykochemicznych i organoleptycznych próbek olejów przechowywanych w warunkach półki sklepowej

Wpływ przechowywania olejów w warunkach półki sklepowej na cechy fizykochemiczne

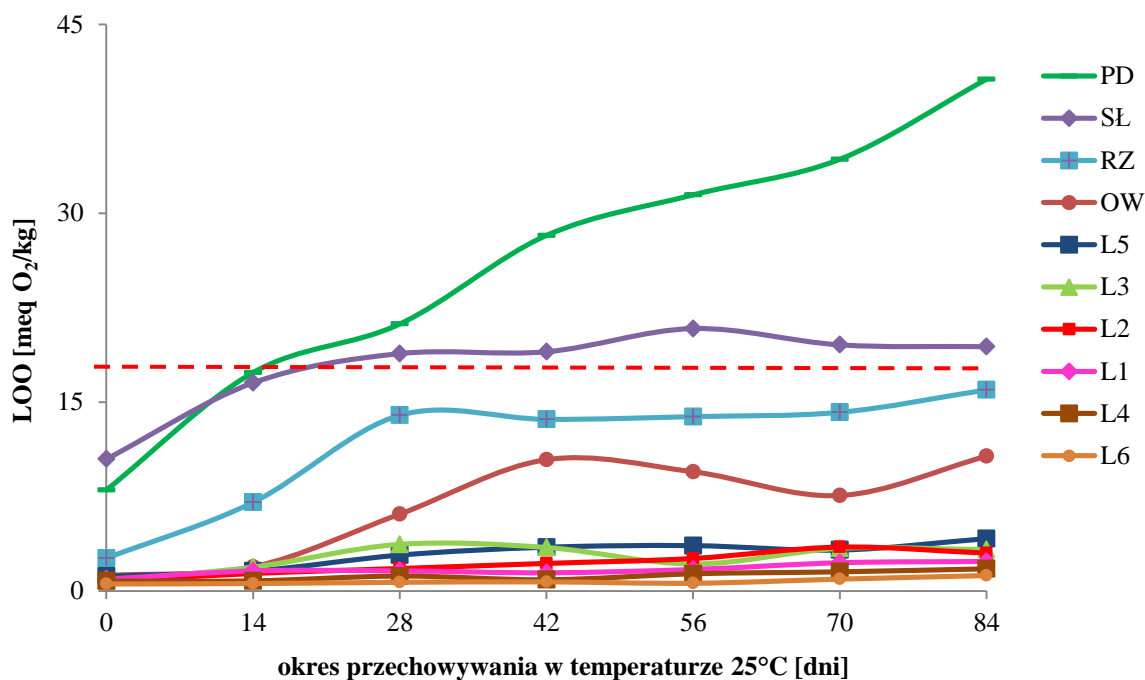
W celu oceny trwałości olejów roślinnych tłoczonych na zimno dostępnych na polskim rynku badaniom poddano równoległe 6 olejów lnianych oraz oleje: rzepakowy, z orzecha włoskiego, pestek dyni oraz słonecznikowy. Próbki przechowywano w warunkach, w jakich oleje są najczęściej składowane w punktach sprzedaży (warunki półki sklepowej). Oleje w zamkniętych butelkach ustawiono na półce laboratoryjnej w temperaturze kontrolowanej za pomocą czujników połączonych z siecią komputerową ($25\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Badania prowadzono przez 84 dni. Monitorowano zawartość pierwotnych produktów utleniania oznaczając liczbę nadtlenkową (LOO) co 14 dni, zawartość wtórnych produktów utleniania oznaczając liczbę anizydynową (LA) co 28 dni oraz zawartość wolnych kwasów tłuszczowych oznaczając liczbę kwasową co 14 dni. Częstotliwość pomiarów dobrano na podstawie wstępnych badań. Otrzymane wyniki zaprezentowano w tabeli 27. Natomiast w celu lepszego zobrazowania zachodzących zmian wybrane wyniki zaprezentowano na wykresach 9-11.

W przeprowadzonym doświadczeniu obserwowano wzrost zawartości nadtlenków w próbkach olejów, przy czym intensywności zmian były uwarunkowane rodzajem oleju (wykres 9). Zawartość pierwotnych produktów oksydacji w olejach lnianych kształtowała się na niskim poziomie przez cały okres przechowywania, a maksymalny poziom wyniósł $4,16 \pm 0,09$ meq O_2/kg dla oleju L5 po 84 dniach przechowywania. Podobnie w badaniach przeprowadzonych przez Rudnik i in. [2001] nastąpił wzrost zawartości nadtlenków w oleju lnianym jedynie z 2,00 do 2,70 meq O_2/kg podczas 3 miesięcy składowania w temperaturze pokojowej.

Tabela 27. Wpływ przechowywania w warunkach półki sklepowej (25°C) na wartości liczby nadtlenkowej, liczby anizydynowej, wskaźnika TOTOX oraz liczby kwasowej w próbkach olejów roślinnych tłoczonych na zimno [średnia ± odchylenie standardowe]

| oleje tłoczone na zimno | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Wyróżnik | czas [dni] | L1 | L2 | L3 | L4 | L5 | L6 | RZ | OW | PD | SL |
| LOO [meq O ₂ /kg] | 0 | 0,95 ± 0,03 | 0,77 ± 0,00 | 0,79 ± 0,01 | 0,79 ± 0,02 | 1,17 ± 0,00 | 0,56 ± 0,02 | 2,61 ± 0,39 | 1,23 ± 0,06 | 8,02 ± 0,00 | 10,48 ± 0,67 |
| | 14 | 1,59 ± 0,02 | 1,39 ± 0,01 | 1,90 ± 0,11 | 0,80 ± 0,00 | 1,58 ± 0,05 | 0,59 ± 0,00 | 7,04 ± 0,16 | 1,92 ± 0,11 | 17,35 ± 0,00 | 16,53 ± 0,08 |
| | 28 | 1,60 ± 0,00 | 1,79 ± 0,01 | 3,70 ± 0,01 | 1,19 ± 0,02 | 2,85 ± 0,11 | 0,69 ± 0,00 | 13,96 ± 0,06 | 6,11 ± 0,02 | 21,20 ± 1,32 | 18,85 ± 0,15 |
| | 42 | 1,45 ± 0,06 | 2,19 ± 0,17 | 3,46 ± 0,04 | 0,89 ± 0,04 | 3,48 ± 0,15 | 0,73 ± 0,04 | 13,63 ± 0,14 | 10,43 ± 0,05 | 28,24 ± 0,00 | 19,00 ± 0,00 |
| | 56 | 1,71 ± 0,21 | 2,58 ± 0,05 | 2,15 ± 0,22 | 1,37 ± 0,00 | 3,60 ± 0,23 | 0,62 ± 0,06 | 13,85 ± 0,07 | 9,47 ± 0,18 | 31,46 ± 1,05 | 20,84 ± 0,28 |
| | 70 | 2,25 ± 0,11 | 3,49 ± 0,18 | 3,39 ± 0,08 | 1,52 ± 0,03 | 3,25 ± 0,01 | 0,94 ± 0,00 | 14,19 ± 0,13 | 7,58 ± 0,02 | 34,29 ± 1,12 | 19,55 ± 0,00 |
| | 84 | 2,34 ± 0,00 | 3,01 ± 0,03 | 3,29 ± 0,01 | 1,76 ± 0,25 | 4,16 ± 0,09 | 1,23 ± 0,07 | 15,97 ± 0,05 | 10,70 ± 0,05 | 40,64 ± 0,00 | 19,41 ± 0,29 |
| LA | 0 | 0,60 ± 0,01 | 0,34 ± 0,01 | 0,72 ± 0,04 | 0,62 ± 0,02 | 1,28 ± 0,08 | 0,67 ± 0,00 | 0,70 ± 0,01 | 0,38 ± 0,03 | 1,24 ± 0,09 | 0,44 ± 0,02 |
| | 28 | 0,39 ± 0,03 | 0,42 ± 0,03 | 0,72 ± 0,08 | 0,87 ± 0,11 | 1,30 ± 0,01 | 0,57 ± 0,01 | 1,19 ± 0,04 | 0,52 ± 0,00 | 1,24 ± 0,00 | 0,65 ± 0,00 |
| | 56 | 0,41 ± 0,00 | 0,67 ± 0,02 | 0,92 ± 0,06 | 0,78 ± 0,04 | 1,63 ± 0,00 | 0,27 ± 0,02 | 1,21 ± 0,05 | 0,74 ± 0,00 | 1,17 ± 0,07 | 0,67 ± 0,05 |
| | 84 | 0,49 ± 0,00 | 0,73 ± 0,05 | 1,01 ± 0,05 | 0,68 ± 0,03 | 1,82 ± 0,01 | 0,24 ± 0,01 | 1,27 ± 0,02 | 0,99 ± 0,07 | 1,32 ± 0,00 | 0,76 ± 0,02 |
| TOTOX | 0 | 2,49 | 1,88 | 2,31 | 2,21 | 3,62 | 1,79 | 5,91 | 2,84 | 17,28 | 21,39 |
| | 28 | 3,59 | 3,99 | 8,13 | 3,25 | 7,00 | 1,96 | 29,10 | 12,73 | 43,65 | 38,35 |
| | 56 | 3,84 | 5,83 | 5,22 | 3,52 | 8,83 | 1,51 | 28,91 | 19,68 | 64,08 | 42,35 |
| | 84 | 5,18 | 6,74 | 7,58 | 4,20 | 10,13 | 2,70 | 33,21 | 22,40 | 82,61 | 39,57 |
| LK [mg KOH/ g oleju] | 0 | 0,72 ± 0,00 | 0,76 ± 0,01 | 3,13 ± 0,02 | 0,58 ± 0,02 | 1,39 ± 0,15 | 1,51 ± 0,01 | 0,67 ± 0,01 | 2,07 ± 0,05 | 0,73 ± 0,01 | 4,24 ± 0,03 |
| | 14 | 0,75 ± 0,02 | 0,77 ± 0,04 | 3,38 ± 0,03 | 0,72 ± 0,03 | 1,39 ± 0,01 | 1,71 ± 0,04 | 0,81 ± 0,01 | 2,07 ± 0,01 | 0,87 ± 0,03 | 4,26 ± 0,04 |
| | 28 | 0,74 ± 0,08 | 0,77 ± 0,00 | 3,37 ± 0,03 | 0,83 ± 0,01 | 1,44 ± 0,00 | 1,75 ± 0,06 | 0,82 ± 0,03 | 2,14 ± 0,08 | 0,86 ± 0,01 | 4,27 ± 0,05 |
| | 42 | 0,79 ± 0,01 | 0,74 ± 0,02 | 3,26 ± 0,05 | 0,96 ± 0,00 | 1,49 ± 0,01 | 1,77 ± 0,05 | 0,82 ± 0,11 | 2,18 ± 0,09 | 0,86 ± 0,02 | 4,25 ± 0,03 |
| | 56 | 0,79 ± 0,00 | 0,89 ± 0,01 | 3,30 ± 0,03 | 1,00 ± 0,06 | 1,47 ± 0,00 | 1,81 ± 0,00 | 0,84 ± 0,00 | 2,18 ± 0,01 | 1,07 ± 0,03 | 4,27 ± 0,04 |
| | 70 | 0,88 ± 0,00 | 0,85 ± 0,02 | 3,35 ± 0,04 | 1,01 ± 0,03 | 1,44 ± 0,03 | 1,81 ± 0,04 | 0,87 ± 0,02 | 2,11 ± 0,02 | 1,02 ± 0,00 | 4,26 ± 0,01 |
| | 84 | 0,91 ± 0,05 | 0,95 ± 0,03 | 3,34 ± 0,04 | 0,95 ± 0,05 | 1,42 ± 0,04 | 1,88 ± 0,05 | 1,06 ± 0,04 | 2,13 ± 0,02 | 1,05 ± 0,05 | 4,31 ± 0,09 |

Wykres 9. Wpływ przechowywania w warunkach półki sklepowej na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w olejach roślinnych tłoczonych na zimno



Oznaczona niska zawartość nadtlenków w przechowywanych olejach lnianych może być związana z ich właściwościami schnącymi [Jhala i Hall 2010; Juita i in. 2012]. Podczas gdy olej lniany jest narażony na działanie powietrza, podwójne wiązania nienasyconych kwasów tłuszczowych reagują z tlenem i tworzy się polimeryczna sieć, która w efekcie zamienia się w stosunkowo miękką, ale trwałą warstwę (film) na powierzchni oleju. Twardnienie warstwy jest wynikiem autooksydacji, po której następuje polimeryzacja polegająca na międzycząsteczkowym łączeniu rodników pochodzących z rozpadu relatywnie nietrwałych grup nadtlenkowych. Utwardzanie filmu może trwać przez kilka lat [Lazzari i Chiantore 1999; Juita i in. 2012].

W przeprowadzonym eksperymencie butelki z olejem pozostawały zamknięte do czasu analizy, co ograniczało kontakt próbki z powietrzem. Jednakże znaczenie mogła mieć początkowa zawartość tlenu w oleju, a także faza powietrza nad olejem utworzona w momencie napełniania butelek, co spowodowało formowanie filmu na powierzchni oleju, ograniczającego przebieg autooksydacji. W badaniach Aladedunye, Sosińskiej i Przybylskiego [2013] zastosowano zamknięcie butelek z olejem lnianym przy użyciu argonu, by wyeliminować powietrze z fazy nad olejem. Podczas inkubacji w temperaturze 65°C przez 30 dni nastąpił również nieznaczny wzrost zawartości nadtlenków (max. 5 meq

O₂/kg oleju) i liczby anizydynowej (max. 1,8), co potwierdza znaczenie początkowej zawartości tlenu w próbce oraz tworzenie się warstwy ochronnej na powierzchni.

Z kolei w olejach innych niż lnianych zauważyć można intensywny wzrost zawartości nadtlenków i wodoronadtlenków. Po 84 dniach przechowywania najwyższy poziom LOO zaobserwowano w przypadku oleju z pestek dyni, który wyniósł $40,64 \pm 0,00$ meq O₂/kg oleju. Ponadto wysoki poziom pierwotnych produktów utleniania został oznaczony dla oleju słonecznikowego i rzepakowego, odpowiednio $19,41 \pm 0,29$ oraz $15,97 \pm 0,05$ meq O₂/kg oleju po 84 dniach prowadzenia eksperymentu.

Analizując tempo przyrostu pierwotnych produktów utleniania zauważyć można istotne różnice w zależności od rodzaju oleju. W przypadku oleju z orzecha włoskiego i rzepakowego stwierdzono, że po 84 dniach inkubacji zawartość LOO wzrosła odpowiednio blisko 8 i 5 krotnie w stosunku do zawartości LOO w olejach świeżych. Z kolei dla oleju słonecznikowego przyrost był najniższy. Dla olejów lnianych tempo zmian zawartości produktów utleniania było umiarkowane i nastąpił 1-3-krotny wzrost ich zawartości. Jednakże z uwagi na stosunkowo niskie początkowe zawartości nadtlenków w próbach L1-L6, ich końcowa zawartość nadal była niewielka i wielokrotnie niższa od pozostałych olejów.

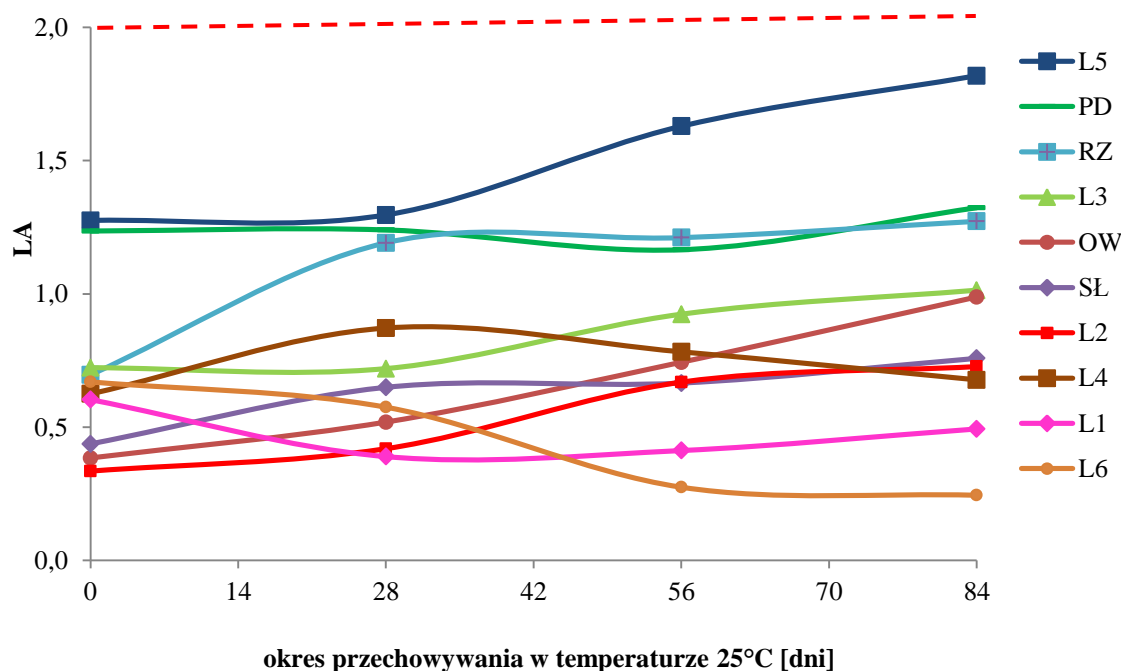
Biorąc pod uwagę dopuszczalną wartość liczby nadtlenkowej (15 meq O₂/kg oleju) [Codex Standard 19-1981 2013; Codex Standard 210-1999 2013] stwierdzono, że olej z pestek dyni oraz przekroczył określony limit po około 11 dniach, natomiast olej rzepakowy po 77 dniach przechowywania w warunkach temperatury pokojowej. Wartość LOO dla próbki oleju z orzecha włoskiego oscylowała na poziomie 8-10 meq O₂/kg oleju w drugiej połowie eksperymentu. Natomiast zawartość pierwotnych produktów utleniania badanych olejów lnianych nie zbliżyła się do normowanego poziomu. Co ciekawe, oleje inne niż lniane zgodnie z deklaracją producenta mają 9-miesięczny termin przydatności do spożycia, który zgodnie z otrzymanymi wynikami powinien zostać zweryfikowany.

W drugim etapie oksydacji lipidów następuje dekompozycja pierwotnych produktów utleniania, w wyniku której tworzą się związki karbonylowe odpowiedzialne za niepożądane zmiany sensoryczne tłuszczów. Wtórne produkty utleniania mogą być mierzone za pomocą oznaczenia liczby p-anizydynowej (LA).

Analizowane oleje wykazały niski poziom liczby p-anizydynowej podczas 84 dni przechowywania (wykres 10). Część olejów charakteryzowała się statystycznie niezmiennym poziomem LA przez cały okres przechowywania (m.in. olej lniany L4). W pozostałych olejach stwierdzono niewielkie zmiany, przy czym maksymalnie osiągnięty poziom LA dla wszystkich olejów wynosił 1,82 (oznaczony dla oleju L5 po 84 dniach przechowywania).

Po 84 dniach inkubacji w temperaturze 25°C olej z pestek dyni i rzepakowy uzyskały statystycznie tożsame poziom, odpowiednio $1,32 \pm 0,00$ i $1,27 \pm 0,02$. Najniższą zawartość wtórnych produktów utleniania zaobserwowano dla oleju lnianego L6 po 84 dniach przechowywania ($0,24 \pm 0,06$).

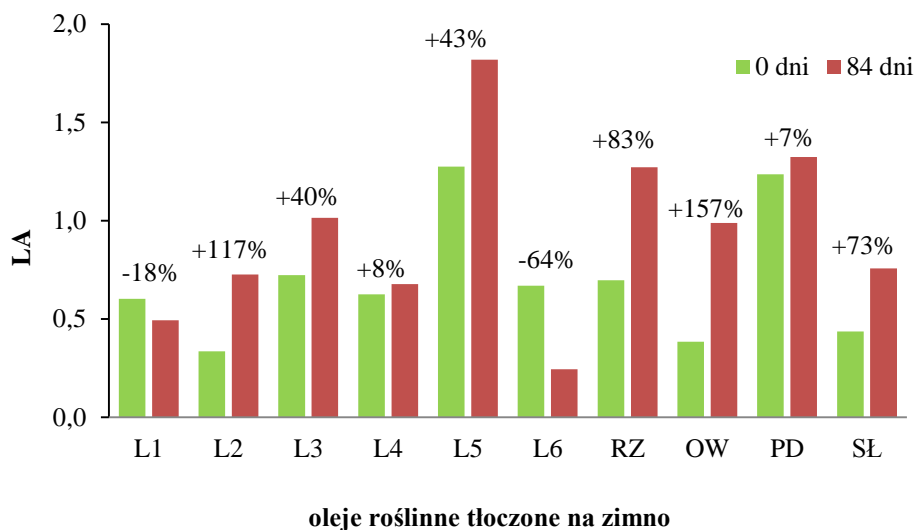
Wykres 10. Wpływ przechowywania w warunkach półki sklepowej na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w olejach roślinnych tłoczonych na zimno



Wykres 11 uwypukla procentową zmianę zawartości wtórnych produktów oksydacji mierzonych jako liczba anizydynowa po 84 dniach przechowywania w warunkach półki sklepowej w porównaniu do wartości wyjściowych. Najintensywniejszy wzrost zawartości związków karbonylowych stwierdzono w przypadku oleju z orzecha włoskiego na poziomie 157% porównując moment rozpoczęcia i zakończenia badań. Nieco niższe stwierdzono w przypadku oleju lnianego L2 (117%), oleju rzepakowego (83%) i słonecznikowego (73%).

Niska zawartość wtórnych produktów utleniania w olejach lnianych, potwierdzona także w badaniach Aladedunye, Sosińskiej i Przybylskiego [2013], jest zapewne bezpośrednio związana z niskimi zawartościami nadtlenczków, które są prekursorami wtórnych produktów utleniania. Również w badaniach Mińkowskiego [2005] olej lniany przechowywany w temperaturze pokojowej wykazał niewielką zmianę liczby anizydynowej z 0,45 na 0,95 po 90 dniach przechowywania.

Wykres 11. Zawartość liczby anizydynowej na początku i na końcu okresu przechowywania w warunkach półki sklepowej w badanych próbkach olejów



Na podstawie otrzymanych wartości liczby nadtlenkowej i p-anizydynowej wyliczono wskaźnik TOTOX ($2*LOO+LA$) dla każdego punktu pomiarowego. Wyniki zaprezentowano w tabeli 27. Wartości wskaźnika wzrastały w trakcie przechowywania we wszystkich olejach, jednakże zasięg zmian był uwarunkowany rodzajem oleju. W przypadku olejów lnianych i oleju ze słonecznika zaobserwowano stosunkowo niewielki przyrost - 1 lub 2 - krotny, co sugeruje, że przemiany oksydacyjne zachodziły w ograniczonym zakresie. Z kolei w próbkach olejów z orzecha włoskiego, rzepakowego i z pestek dyni wskaźnik po 84 dniach przechowywania był kilkukrotnie wyższy (ok. 4-7), co oznacza intensywniejszy przebieg procesu oksydacji.

Biorąc pod uwagę zdanie niektórych autorów [Wroniak, Kwiatkowska i Krygier 2006] wartość wskaźnika TOTOX na poziomie 10 stanowi graniczny poziom wyznaczający akceptowalną jakość olejów jadalnych. W tej sytuacji próbki oleju z pestek dyni i słonecznikowy zaraz po otwarciu przekroczyły ustaloną wartość, natomiast olej rzepakowy i z orzecha włoskiego przed upływem 28 dni. Z kolei oleje lniane (L1-L6) nie przekroczyły granicznej wartości przez cały okres przechowywania, co mogłoby sugerować zachowanie dobrej jakości biorąc pod uwagę wskaźniki fizykochemiczne.

Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych nie jest miarą zasięgu oksydacji, co stanowi główny przedmiot zainteresowania w niniejszej pracy, ale oznaczono ten wyróżnik z uwagi na wyższą podatność WKT na utlenianie. Ponadto, obecność wolnych kwasów tłuszczowych stanowi istotny wskaźnik jęlczenia produktów spożywczych [Frega, Mozzon i Lercker 1999]. W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano niewielkie fluktuacje

wartości liczby kwasowej podczas przechowywania (tabela 27). Zdecydowanie najniższą wartość liczby kwasowej podczas całego okresu przechowywania wykazał olej lniany L1 (0,72-0,91 mg KOH/g oleju), olej lniany L2 (0,74-0,95 mg KOH/g oleju), olej lniany L4 (0,58-1,01 mg KOH/g oleju), olej rzepakowy (0,67-1,06 mg KOH/g oleju) oraz z pestek dyni (0,73-1,07 mg KOH/g oleju), a najwyższą olej słonecznikowy (4,24-4,31 mg KOH/g oleju).

Największy wzrost wartości liczby kwasowej wykryto w przypadku oleju lnianego L4 (74% w 70 dniu przechowywania), rzepakowego (58% w 84 dniu inkubacji), pestek dyni (47% w 56 dniu przechowywania) w stosunku do wartości oznaczonej na początku eksperymentu. Jednakże żaden z powyższych olejów nie przekroczył dopuszczalnej zawartości 4,0 mg KOH/g tłuszczu lub oleju [Codex Standard 19-1981 2013; Codex Standard 210-1999 2013]. Jedynie olej słonecznikowy wykazywał przekroczoną zawartość, jednakże utrzymywała się ona na stabilnym poziomie przez cały okres przechowywania.

Wpływ przechowywania olejów lnianych w warunkach półki sklepowej na cechy organoleptyczne

Próbki olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej poddano ocenie sensorycznej przez przeszkolony zespół oceniający. Określano intensywności poszczególnych nut smakowych oraz ocenę ogólną przechowywanych próbek w odstępach 14 dniowych (wykres 12-16). Ponadto oceniającym każdorazowo zadawano pytanie, czy wyczuwalny poziom gorzkości stanowi podstawę do odrzucenia próbki. Na podstawie uzyskanych informacji (wykres 17) podejmowano decyzję o usunięciu próbki z dalszych badań sensorycznych. Dzięki temu uniknięto efektu przeniesienia gorzkości z jednej próbki na inną oraz zmęczenia sensorycznego. Po 84 dniach przechowywania panel zdecydował o odrzuceniu ostatniej próbki oleju i zakończono zarówno badania sensoryczne, jak i fizykochemiczne.

Przeprowadzona analiza sensoryczna 6 próbek olejów lnianych wykazała, że w warunkach temperatury pokojowej następują istotne statystycznie zmiany na poziomie ufności $\alpha=0,05$ w intensywności smaku gorzkiego oraz ocenie ogólnej wszystkich badanych olejów (tabela 28).

W przypadku nuty orzechowej istotne zmiany między poszczególnymi ocenami stwierdzono dla oleju L3 i L4, a w obrębie nuty jełkiej dla próbki L2, L3 i L5, przy czym próbki L4 i L6 prezentowały poziom istotności bliski granicznemu. Średnie intensywności nuty trawiastej w kolejnych badaniach nie różniły się istotnie statystycznie, co mogło być

spowodowane większym zróżnicowaniem odpowiedzi oceniających wynikającym z trudności jednoznacznej oceny tej nuty lub niewielkim wpływem czasu inkubacji na ten deskryptor.

Tabela 28. Istotność zmian intensywności poszczególnych deskryptorów olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej - jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA)

| wyróżnik | próbka | statystyka F | df ₁ | df ₂ | istotność |
|----------------|--------|--------------|-----------------|-----------------|--------------|
| nuta orzechowa | L1 | 0,50 | 49 | 5 | 0,772 |
| | L2 | 1,79 | 58 | 6 | 0,117 |
| | L3 | 9,08 | 31 | 2 | 0,001 |
| | L4 | 2,38 | 57 | 7 | 0,033 |
| | L5 | 1,86 | 39 | 3 | 0,153 |
| | L6 | 0,96 | 59 | 7 | 0,467 |
| nuta utleniona | L1 | 1,78 | 49 | 5 | 0,135 |
| | L2 | 2,52 | 58 | 6 | 0,031 |
| | L3 | 5,18 | 31 | 2 | 0,011 |
| | L4 | 1,95 | 58 | 7 | 0,078 |
| | L5 | 6,50 | 38 | 3 | 0,001 |
| | L6 | 2,05 | 59 | 7 | 0,064 |
| nuta trawiasta | L1 | 1,33 | 50 | 5 | 0,268 |
| | L2 | 0,88 | 57 | 6 | 0,517 |
| | L3 | 0,04 | 31 | 2 | 0,958 |
| | L4 | 0,38 | 57 | 7 | 0,910 |
| | L5 | 1,41 | 38 | 3 | 0,255 |
| | L6 | 1,66 | 59 | 7 | 0,136 |
| smak gorzki | L1 | 14,05 | 48 | 5 | 0,000 |
| | L2 | 8,15 | 58 | 6 | 0,000 |
| | L3 | 49,28 | 31 | 2 | 0,000 |
| | L4 | 8,47 | 58 | 7 | 0,000 |
| | L5 | 17,91 | 39 | 3 | 0,000 |
| | L6 | 7,69 | 59 | 7 | 0,000 |
| ocena ogólna | L1 | 7,69 | 48 | 5 | 0,000 |
| | L2 | 4,63 | 58 | 6 | 0,001 |
| | L3 | 98,55 | 28 | 2 | 0,000 |
| | L4 | 11,67 | 56 | 7 | 0,000 |
| | L5 | 10,55 | 39 | 3 | 0,000 |
| | L6 | 2,85 | 57 | 7 | 0,013 |

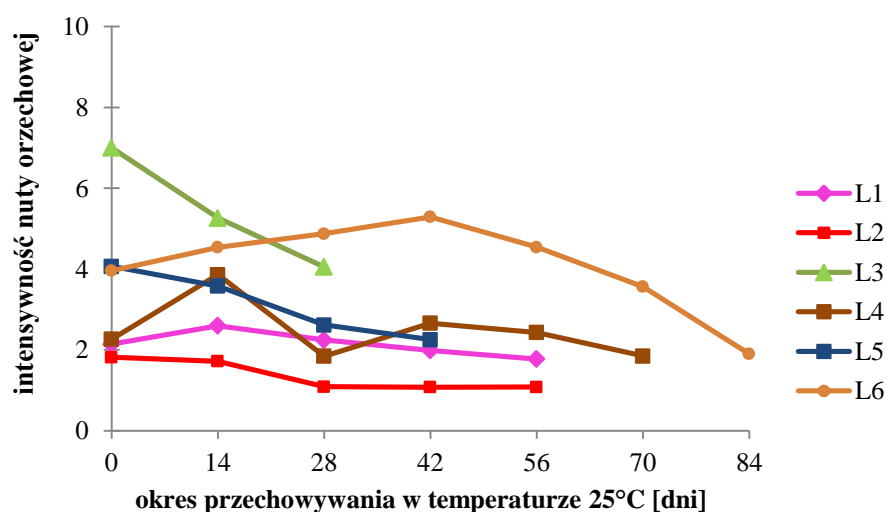
pogrubiono istotności <0,05; zmiana istotnie statystyczna

Intensywność nuty orzechowej badanych olejów w warunkach półki sklepowej uległa obniżeniu w przypadku próbki L2, L3 i L5 podczas całego okresu składowania (wykres 12). Największy spadek jednostkowy zaobserwowano w przypadku próbki L3. Po 28 dniach przechowywania intensywność nuty orzechowej spadła o 2,9 jednostek (o 42,1% w stosunku

do początkowej intensywności). Po 28 dniach przechowywania intensywny spadek zaobserwowano także w przypadku próbek L2 (o 39,9%) oraz L5 (o 35,6%).

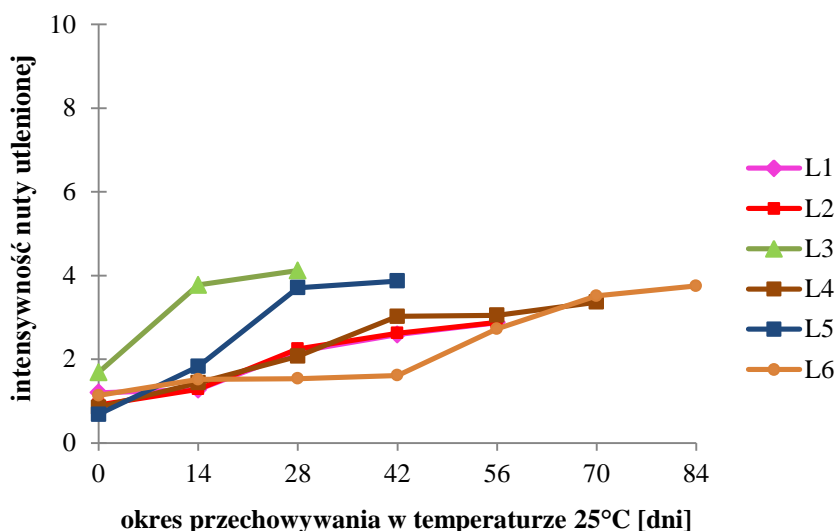
Z kolei w próbkach L1, L4 i L6 stwierdzono niejednokierunkowe zmiany intensywności nuty orzechowej, przy czym dominującym kierunkiem był spadek. Zaobserwowano okresowy wzrost intensywności nuty, po czym następował jej spadek. W przypadku próbki L4 faza wzrostu i spadku nastąpiła dwukrotnie. Zmienność intensywności była wynikiem zmian pozostałych wyróżników profilu smaku, przy czym zmiany kształtowały się indywidualnie dla każdego oleju. W przypadku oleju L4 stwierdzono, że w ciągu pierwszych 14 dni przechowywania rośnie intensywność nuty orzechowej i jednocześnie delikatnie spada wyczuwalność nuty trawiastej (ujemna korelacja tych dwóch wyróżników została oznaczona w badaniach na świeżych olejach). W kolejnych tygodniach nastąpił spadek intensywności obydwu nut. Od 42 dnia przechowywania zaobserwowano spadek odczuwanej nuty orzechowej i równocześnie intensywny wzrost gorzkości.

Wykres 12. Intensywność nuty orzechowej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej



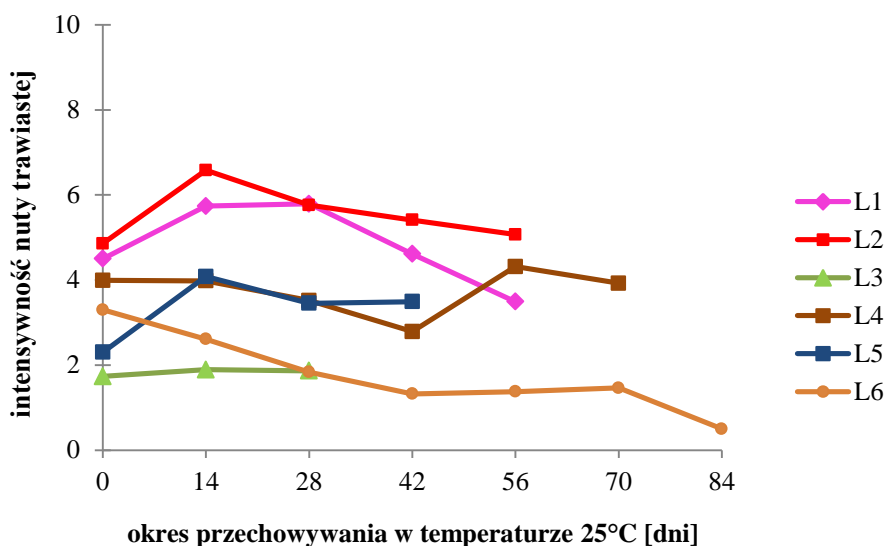
Intensywność nuty utlenionej (jelkiej) badanych próbek rosła w trakcie przechowywania w temperaturze pokojowej (tabela 28). Największy wzrost zaobserwowano dla próbki L5 (blisko 5-krotny porównując oznaczenie początkowe i końcowe) oraz dla próbki L4 (3-krotny). Wysoki procentowy wzrost wynika przede wszystkim z niskiego poziomu początkowego intensywności nuty utlenionej. W trakcie przechowywania żadna z próbek nie przekroczyła poziomu 4,1 jednostek w skali 0-10 (wykres 13).

Wykres 13. Intensywność nuty utlenionej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej



Intensywność nuty trawistej badanych olejów lnianych była zróżnicowana między próbkami i zmieniała się w trakcie przechowywania w różnym stopniu i kierunku w zależności od próbki (wykres 14). Na końcu okresu przechowywania intensywność wahała się od 1,5 dla oleju L6 do 5,1 dla oleju L2.

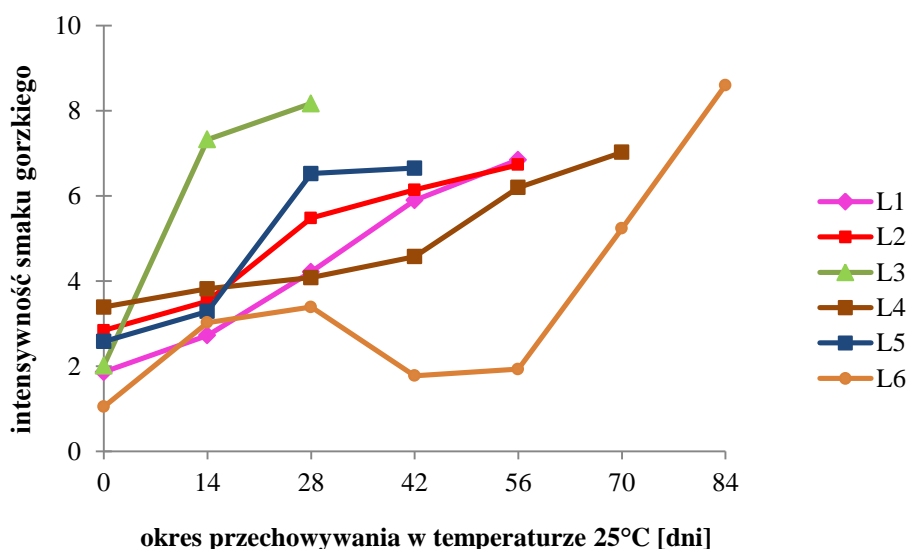
Wykres 14. Intensywność nuty trawistej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej



Intensywność smaku gorzkiego olejów lnianych uległa najsilniejszym zmianom w porównaniu z innymi badanymi deskryptorami podczas przechowywania w temperaturze pokojowej (wykres 15). W próbkach olejów wysokolinolenowych (L1-L5) stwierdzono

wzrost gorzkości przez cały okres składowania. Najsilniejsze tempo zmian zaobserwowano w przypadku oleju L3. W ciągu 28 dni inkubacji tej próbki intensywność smaku gorzkiego wzrosła o 6,2 jednostki (3-krotnie w stosunku do pomiaru początkowego).

Wykres 15. Intensywność smaku gorzkiego w olejach lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej



Przebieg zmian intensywności smaku gorzkiego badanych olejów lnianych był zróżnicowany. Próbka L1 charakteryzowała się proporcjonalnymi przyrostami intensywności smaku gorzkiego w całym okresie przechowywania. W próbce L2 stwierdzono najmniejszą zmianę gorzkości (po 56 dniach inkubacji wzrost o 3,9 jednostki). Z kolei w próbce L4 zaobserwowano wolniejszy przyrost wyczuwalnej gorzkości w pierwszych 42 dniach, po czym nastąpiły intensywniejsze zmiany, by po 70 dniach osiągnąć średni poziom 7,0 jednostek. W oleju L5 zaobserwowano największy przyrost gorzkości między 14 a 28 dniem inkubacji.

Intensywność smaku gorzkiego w oleju niskolinolenowym (L6) uległa niejednokierunkowym zmianom, lecz dominował jej wzrost. Podczas pierwszych 28 dni przechowywania wyczuwalna gorzkość wzrasta, następnie nastąpił jest spadek, który mógł być powiązany ze wzrostem intensywności nuty orzechowej i delikatnym spadkiem intensywności nuty trawiastej (i w efekcie nastąpił wzrost oceny ogólnej). W 56 dniu składowania tempo wzrostu gorzkości zdecydowanie zwiększyło się, by po 84 dniach osiągnąć poziom 8,6 jednostek.

Przeprowadzona analiza regresji wykazała, że w przypadku próbek L1, L3 i L5 zmiany smaku gorzkiego próbek można opisać równaniem regresji liniowej, które ukazuje istotną

liniową zależność między intensywnością tego deskryptora i czasu składowania (tabela 29). Równania regresji ($y=0,09x+1,70$ dla próbki L1; $y=0,22x+2,71$ dla próbki L3 oraz $y=0,11x+2,44$ dla próbki L5) opisują ponad połowę zmienności ($R^2 > 0,500$), co warunkuje ich dobre dopasowanie. Zastosowana analiza mogłaby posłużyć do określania intensywności wyróżników sensorycznych, o ile zmiany ich intensywności następują liniowo.

Tabela 29. Zależność między intensywnością smaku gorzkiego a czasem inkubacji w dniach (istotność regresji) dla olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej

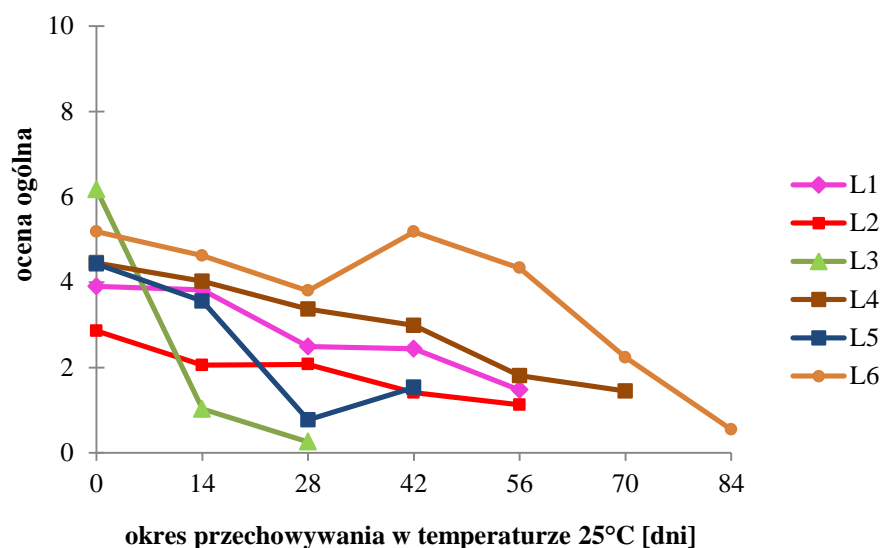
| próbka | wartość współczynnika kierunkowego (a)* | wartość wyrazu wolnego (b)* | statystyka F | współczynnik determinacji R^2 | istotność równania regresji |
|--------|---|-----------------------------|--------------|---------------------------------|-----------------------------|
| L1 | 0,09 | 1,70 | 74,20 | 0,588 | 0,000 |
| L2 | 0,07 | 2,98 | 47,90 | 0,432 | 0,000 |
| L3 | 0,22 | 2,71 | 59,93 | 0,652 | 0,000 |
| L4 | 0,06 | 3,00 | 53,92 | 0,457 | 0,000 |
| L5 | 0,11 | 2,44 | 42,38 | 0,508 | 0,000 |
| L6 | 0,04 | 1,46 | 15,01 | 0,188 | 0,000 |

*intensywność smaku gorzkiego = a*czas przechowywania (dni) + b
pogrubiono $R^2 > 0,500$, co oznacza dobre dopasowanie modelu

Podczas przechowywania w temperaturze pokojowej stwierdzono istotne zmiany w ocenie ogólnej próbek (tabela 28; istotności $< 0,05$). Najsilniejszy spadek oceny ogólnej zaobserwowano w przypadku próbki L3, w której to z początkowej oceny na poziomie 6,2, najwyższej spośród wszystkich olejów, nastąpiło obniżenie do 0,3 jednostek w trakcie jedynie 28 dni przechowywania. Równie mocny spadek ogólnej smakowitości stwierdzono w przypadku próbki L5 (obniżenie o 3,7 punktów po 28 dniach składowania). Co ciekawe, podczas kolejnych 14 dni nastąpił jej niewielki wzrost, który mógł być wynikiem stosunkowo stabilnego poziomu odczuwanej gorzkości i nuty trawiastej tego oleju dla tle innych olejów lnianych, w których te parametry wzrastały.

W przypadku oleju L6 (niskolinolenowego) ocena ogólna była wyższa od innych olejów lnianych, jednakże po 84 dniach przechowywania również obniżyła się i osiągnęła poziom 0,6 jednostek (wykres 16).

Wykres 16. Ocena ogólna olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej



Przeprowadzona analiza korelacji pozwoliła stwierdzić, w jaki sposób powiązane są ze sobą badane wyróżniki organoleptyczne (tabela 30). Zaobserwowano bardzo silną ujemną korelację między intensywnością smaku gorzkiego i oceną ogólną podczas całego okresu przechowywania ($r=-0,917$). Oznacza to, że wraz ze wzrostem odczuwalnej gorzkości, malała ocena smakowitości oleju. Silną dodatnią korelację ($r=0,844$) wykazała intensywność nuty jełkiej i smaku gorzkiego. Z kolei intensywność nuty jełkiej i oceny ogólnej były ujemnie skorelowane ($r=-0,777$).

Z kolei nuta orzechowa, która mogłaby być uznana za pożądaną nutę, nie wykazała silnej korelacji z oceną ogólną ($r=0,569$). Ogólnie można stwierdzić, że na ocenę ogólną olejów miały mocniejszy wpływ niepożądane wyróżniki, takie jak smak gorzki i nuta jełka.

Tabela 30. Analiza korelacji między badanymi wyróżnikami organoleptycznymi olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej

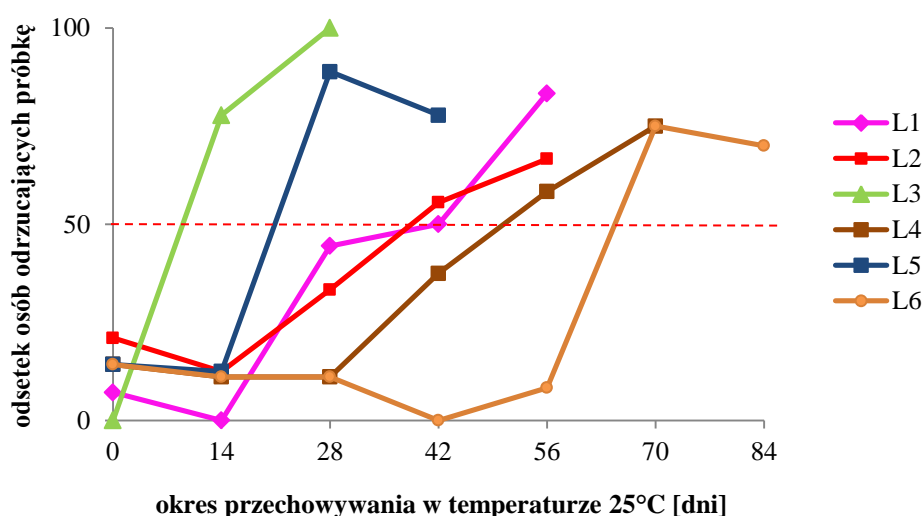
| | nuta orzechowa | nuta jełka | nuta trawiasta | smak gorzki | ocena ogólna |
|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|--------------|
| nuta orzechowa | 1 | | | | |
| nuta jełka | -0,137 | 1 | | | |
| nuta trawiasta | -0,679 | -0,299 | 1 | | |
| smak gorzki | -0,411 | 0,844 | -0,060 | 1 | |
| ocena ogólna | 0,569 | -0,777 | -0,162 | -0,917 | 1 |

pogrubiono wartości $r^2 > 0,700$

Badane oleje lniane wykazywały mocno zróżnicowane profile smakowitości na początku, jak i w trakcie przechowywania. Co więcej, maksimum intensywności smaku gorzkiego, które bezpośrednio wpływało na ocenę ogólną, następowało w różnym momencie

dla poszczególnych próbek. Mając na uwadze powyższe, przy każdym badaniu zespół oceniający wskazywał, czy wyczuwalny poziom gorzkości w danej próbce stanowi podstawę do jej odrzucenia. W sytuacji, kiedy podczas dwóch następujących po sobie sesjach ponad 50% oceniających dało odpowiedź pozytywną, usuwano dany olej z dalszych badań sensorycznych. Na tej podstawie wykreślono krzywe zależności odsetku oceniających odrzucających próbkę ze względu na gorzkość od czasu jej przechowywania (wykres 17).

Wykres 17. Odsetek osób w zespole oceniającym odrzucających próbki oleju lnianego ze względu na gorzkość (warunki półki sklepowej)



Wykorzystując gorzkość jako kluczowy wyróżnik w kształtowaniu jakości olejów lnianych, będący najsilniej skorelowany z oceną ogólną olejów, wyznaczono okres trwałości próbek w warunkach półki sklepowej. Najkrótszym okresem trwałości charakteryzował się olej lniany L3 (28 dni), a kolejno olej L5 (42 dni) < olej L1 (56 dni) = olej L2 (56 dni) < olej L4 (70 dni) < olej L6 (84 dni). Najdłuższą trwałość wykazał olej lniany o niskiej zawartości kwasu α -linolenowego.

Podsumowując, przechowywanie olejów lnianych w warunkach półki sklepowej (w temperaturze pokojowej przed pierwszym otwarciem) wpłynęło w zróżnicowany sposób na zasięg zmian jakościowych. Ocena zmian fizykochemicznych ukazała, że zawartość pierwotnych, jak i wtórnych produktów utleniania w olejach lnianych kształtowała się na niskim poziomie, a próbki spełniały wymagania w zakresie liczby nadtlenkowej i liczby kwasowej określone w Kodeksie Żywnościowym [Codex Standard 19-1981 2013] przez cały okres przechowywania. Z kolei ocena profilu smakowitości oraz oceny ogólnej olejów

lnianych wykazała zmiany intensywności deskryptorów (nuty orzechowej, jełkiej, trawiastej, smaku gorzkiego oraz oceny ogólnej). Stwierdzono spadek intensywności nuty orzechowej i oceny ogólnej we wszystkich badanych próbkach. Jednocześnie zanotowano wzrost intensywności smaku gorzkiego i nuty jełkiej we wszystkich próbkach, przy czym wyczuwalność smaku gorzkiego ulegała najintensywniejszym zmianom w porównaniu z innymi wyróżnikami. Natomiast intensywność nuty trawiastej zmieniała się w trakcie przechowywania w różnym stopniu i kierunku w zależności od próbki. Smak gorzki był najsilniej ujemnie skorelowany z oceną ogólną olejów.

Na podstawie powyższych wyników można stwierdzić, że analiza sensoryczna w przypadku olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej, zdaje się być niezbędna do oceny trwałości próbek.

7.1.3. Zmiany cech fizykochemicznych i organoleptycznych próbek olejów przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania

Wpływ przechowywania olejów lnianych w warunkach konsumenckiego użytkowania na cechy fizykochemiczne

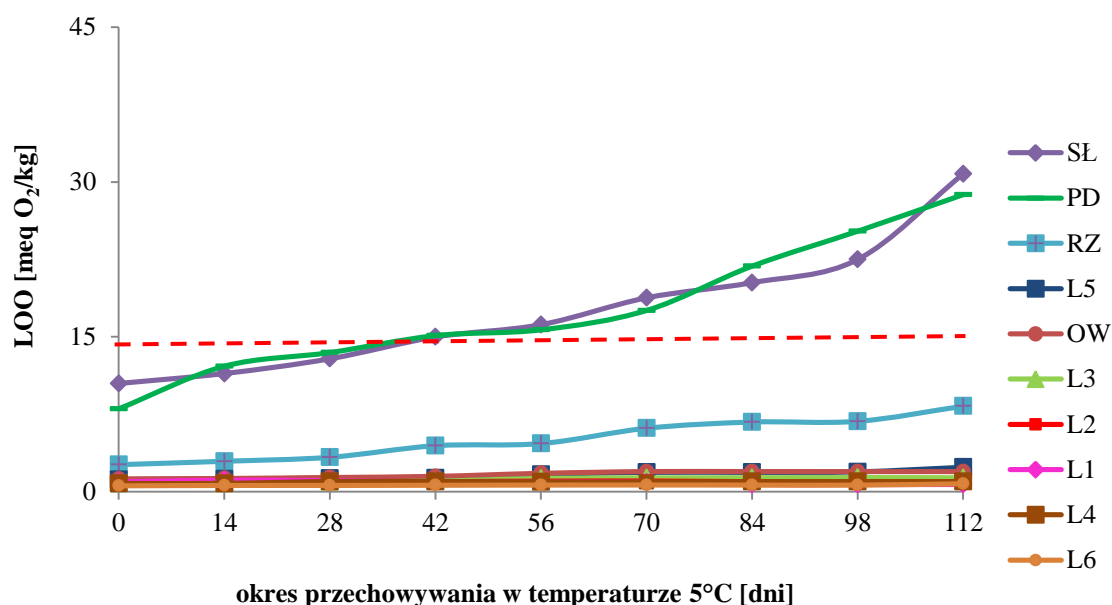
Te same próbki olejów roślinnych tłoczonych na zimno (6 olejów lnianych oraz oleje: rzepakowy, z orzecha włoskiego, pestek dyni oraz słonecznikowy) poddano przechowywaniu w warunkach, w jakich oleje są najczęściej użytkowane przez konsumentów po pierwszym Typowe warunki konsumenckiego użytkowania osiągnięto regularnie wyjmując butelki z lodówki, utrzymując je przez 15 minut w temperaturze pokojowej i wylewając 5 cm³. Badania prowadzono przez 112 dni. Monitorowano zawartość pierwotnych produktów utleniania oznaczając liczbę nadtlenkową (LOO) co 14 dni, zawartość wtórnych produktów utleniania oznaczając liczbę anizydynową (LA) co 28 dni oraz zawartość wolnych kwasów tłuszczowych oznaczając liczbę kwasową co 14 dni. Częstotliwość pomiarów dobrano na podstawie wstępnych badań. Otrzymane wyniki zaprezentowano w tabeli 31. Natomiast w celu lepszego zobrazowania zachodzących zmian wybrane wyniki zaprezentowano na wykresach 18 i 19.

Tabela 31. Wpływ przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania (5°C) na wartości liczby nadtlenkowej, liczby anizydynowej, wskaźnika TOTOX oraz liczby kwasowej w próbkach olejów tłoczonych na zimno [średnia ± odchylenie standardowe]

| | | oleje tłoczone na zimno | | | | | | | | | | |
|------------------------------|-----------|-------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--|
| Wyróżnik | czas[dni] | L1 | L2 | L3 | L4 | L5 | L6 | RZ | OW | PD | SŁ | |
| LOO [meq O ₂ /kg] | 0 | 0,95 ± 0,03 | 0,77 ± 0,00 | 0,79 ± 0,01 | 0,79 ± 0,02 | 1,17 ± 0,00 | 0,56 ± 0,02 | 2,61 ± 0,39 | 1,23 ± 0,06 | 8,02 ± 0,00 | 10,48 ± 0,67 | |
| | 14 | 1,10 ± 0,01 | 0,80 ± 0,01 | 0,80 ± 0,00 | 0,80 ± 0,01 | 1,23 ± 0,06 | 0,60 ± 0,01 | 2,94 ± 0,02 | 1,27 ± 0,07 | 12,15 ± 0,88 | 11,44 ± 0,02 | |
| | 28 | 1,06 ± 0,01 | 0,88 ± 0,01 | 0,93 ± 0,01 | 0,98 ± 0,01 | 1,29 ± 0,01 | 0,60 ± 0,02 | 3,33 ± 0,13 | 1,37 ± 0,06 | 13,47 ± 0,07 | 12,87 ± 0,16 | |
| | 42 | 0,94 ± 0,08 | 0,96 ± 0,00 | 1,02 ± 0,04 | 0,99 ± 0,02 | 1,33 ± 0,02 | 0,61 ± 0,05 | 4,45 ± 0,07 | 1,48 ± 0,03 | 15,12 ± 0,07 | 14,99 ± 0,28 | |
| | 56 | 0,92 ± 0,01 | 1,01 ± 0,05 | 1,27 ± 0,01 | 0,94 ± 0,03 | 1,66 ± 0,09 | 0,63 ± 0,07 | 4,65 ± 0,13 | 1,77 ± 0,03 | 15,68 ± 0,69 | 16,18 ± 0,02 | |
| | 70 | 0,91 ± 0,03 | 1,02 ± 0,11 | 1,33 ± 0,00 | 0,94 ± 0,04 | 1,87 ± 0,12 | 0,64 ± 0,06 | 6,14 ± 0,18 | 1,94 ± 0,08 | 17,55 ± 1,40 | 18,78 ± 0,28 | |
| | 84 | 0,68 ± 0,01 | 0,96 ± 0,02 | 1,35 ± 0,03 | 0,97 ± 0,01 | 1,86 ± 0,09 | 0,63 ± 0,03 | 6,74 ± 0,00 | 1,94 ± 0,02 | 21,85 ± 0,22 | 20,25 ± 0,43 | |
| | 98 | 0,69 ± 0,02 | 0,94 ± 0,00 | 1,36 ± 0,03 | 0,97 ± 0,02 | 1,91 ± 0,05 | 0,63 ± 0,07 | 6,81 ± 0,02 | 1,93 ± 0,04 | 25,23 ± 0,54 | 22,49 ± 0,32 | |
| | 112 | 0,69 ± 0,01 | 0,95 ± 0,01 | 1,34 ± 0,01 | 0,96 ± 0,00 | 2,36 ± 0,01 | 0,76 ± 0,00 | 8,28 ± 0,02 | 1,94 ± 0,01 | 28,78 ± 0,98 | 30,79 ± 1,76 | |
| LA | 0 | 0,60 ± 0,01 | 0,34 ± 0,01 | 0,72 ± 0,04 | 0,62 ± 0,02 | 1,28 ± 0,08 | 0,67 ± 0,00 | 0,70 ± 0,01 | 0,38 ± 0,03 | 1,24 ± 0,09 | 0,44 ± 0,02 | |
| | 28 | 0,49 ± 0,09 | 0,41 ± 0,04 | 0,72 ± 0,01 | 0,53 ± 0,04 | 1,43 ± 0,01 | 0,57 ± 0,01 | 0,72 ± 0,40 | 0,36 ± 0,03 | 1,51 ± 0,20 | 0,41 ± 0,01 | |
| | 56 | 0,59 ± 0,12 | 0,48 ± 0,03 | 0,71 ± 0,01 | 0,50 ± 0,04 | 1,16 ± 0,00 | 0,57 ± 0,04 | 0,69 ± 0,02 | 0,32 ± 0,01 | 1,83 ± 0,10 | 0,43 ± 0,01 | |
| | 84 | 0,59 ± 0,05 | 0,53 ± 0,01 | 0,77 ± 0,08 | 0,55 ± 0,05 | 1,19 ± 0,04 | 0,46 ± 0,03 | 0,69 ± 0,02 | 0,35 ± 0,03 | 1,91 ± 0,02 | 0,43 ± 0,01 | |
| | 112 | 0,60 ± 0,02 | 0,63 ± 0,02 | 0,82 ± 0,01 | 0,67 ± 0,06 | 1,18 ± 0,04 | 0,52 ± 0,00 | 0,73 ± 0,03 | 0,48 ± 0,00 | 2,21 ± 0,08 | 0,54 ± 0,04 | |
| TOTOX | 0 | 2,49 | 1,88 | 2,31 | 2,21 | 3,62 | 1,79 | 5,91 | 2,84 | 17,28 | 21,39 | |
| | 28 | 2,60 | 2,17 | 2,57 | 2,49 | 4,01 | 1,76 | 7,37 | 3,09 | 28,45 | 26,15 | |
| | 56 | 2,43 | 2,51 | 3,26 | 2,38 | 4,48 | 1,83 | 10,00 | 3,86 | 33,18 | 32,79 | |
| | 84 | 1,96 | 2,46 | 3,47 | 2,49 | 4,91 | 1,72 | 14,17 | 4,23 | 45,60 | 40,94 | |
| | 112 | 1,97 | 2,54 | 3,50 | 2,59 | 5,89 | 2,04 | 17,29 | 4,35 | 59,77 | 61,32 | |
| LK [mg KOH/g oleju] | 0 | 0,72 ± 0,00 | 0,76 ± 0,01 | 3,13 ± 0,02 | 0,58 ± 0,02 | 1,39 ± 0,15 | 1,51 ± 0,01 | 0,67 ± 0,01 | 2,07 ± 0,05 | 0,73 ± 0,01 | 4,24 ± 0,03 | |
| | 14 | 0,75 ± 0,04 | 0,86 ± 0,05 | 3,15 ± 0,05 | 0,66 ± 0,01 | 1,39 ± 0,07 | 2,57 ± 0,06 | 0,72 ± 0,01 | 2,11 ± 0,02 | 0,73 ± 0,03 | 4,26 ± 0,01 | |
| | 28 | 0,79 ± 0,00 | 0,87 ± 0,00 | 3,15 ± 0,06 | 0,72 ± 0,00 | 1,37 ± 0,01 | 2,56 ± 0,03 | 0,82 ± 0,08 | 2,11 ± 0,07 | 0,92 ± 0,03 | 4,39 ± 0,01 | |
| | 42 | 0,80 ± 0,00 | 0,87 ± 0,00 | 3,13 ± 0,02 | 0,77 ± 0,01 | 1,38 ± 0,01 | 2,71 ± 0,01 | 0,87 ± 0,03 | 2,13 ± 0,02 | 1,04 ± 0,03 | 4,53 ± 0,01 | |
| | 56 | 0,82 ± 0,02 | 0,87 ± 0,01 | 3,22 ± 0,04 | 0,81 ± 0,01 | 1,39 ± 0,01 | 2,73 ± 0,10 | 0,88 ± 0,02 | 2,22 ± 0,03 | 1,05 ± 0,06 | 4,54 ± 0,04 | |
| | 70 | 0,84 ± 0,01 | 0,87 ± 0,01 | 3,26 ± 0,01 | 0,83 ± 0,01 | 1,49 ± 0,03 | 2,79 ± 0,06 | 0,90 ± 0,03 | 2,21 ± 0,01 | 1,06 ± 0,00 | 4,51 ± 0,00 | |
| | 84 | 0,90 ± 0,01 | 0,89 ± 0,00 | 3,32 ± 0,01 | 0,91 ± 0,05 | 1,52 ± 0,01 | 2,91 ± 0,06 | 0,91 ± 0,04 | 2,22 ± 0,01 | 1,06 ± 0,03 | 4,50 ± 0,02 | |
| | 98 | 1,10 ± 0,00 | 0,91 ± 0,00 | 3,36 ± 0,01 | 1,08 ± 0,04 | 1,55 ± 0,00 | 2,96 ± 0,04 | 1,01 ± 0,04 | 2,32 ± 0,01 | 1,11 ± 0,03 | 4,56 ± 0,01 | |
| | 112 | 1,16 ± 0,07 | 0,93 ± 0,09 | 3,40 ± 0,03 | 1,27 ± 0,09 | 1,61 ± 0,03 | 3,02 ± 0,14 | 1,17 ± 0,03 | 2,45 ± 0,05 | 1,15 ± 0,06 | 4,58 ± 0,02 | |

Przeprowadzone badania wykazały zróżnicowaną zawartość pierwotnych produktów w próbkach olejów przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania (wykres 18).

Wykres 18. Wpływ przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w olejach roślinnych tłoczonych na zimno



Oleje lniane charakteryzowały się znaczną stabilnością oksydacyjną w warunkach konsumenckiego użytkowania. Tempo zmian zawartości pierwotnych produktów utleniania było niskie, mimo iż oleje były regularnie otwierane i miały kontakt z powietrzem oraz proporcja objętości fazy nad olejem do zawartości oleju w butelce zwiększała się. Po 112 dniach przechowywania oleje te wykazały statystycznie tożsamy niski poziom zawartości nadtlenków w zakresie od $0,69 \pm 0,01$ (L1) do $2,36 \pm 0,01$ meq O_2 /kg oleju (L5), biorąc pod uwagę wszystkie próbki olejów ($p < 0,05$). Równie niskie zawartości nadtlenków otrzymano w badaniach prowadzonych przez Wiesenborn i in. [2005], w których po 15 tygodniach przechowywania oleju lnianego w temperaturze $4^\circ C$ zawartość nadtlenków kształtowała się na poziomie $2,2$ meq O_2 /kg oleju oraz w badaniach Mińkowskiego [2005], w których nastąpił niewielki wzrost liczby nadtlenkowej z $0,7$ do $1,15$ meq O_2 /kg oleju po 120 dniach przechowywania w warunkach chłodniczych. W badaniach tych jednak nie symulowano warunków konsumenckiego użytkowania.

Z kolei 3 spośród badanych olejów, innych niż lniane, wykazały intensywny wzrost zawartości pierwotnych produktów utleniania w trakcie składowania. Po 112 dniach przechowywania najwyższy poziom LOO zaobserwowano w przypadku oleju

słonecznikowego ($30,79 \pm 1,76$ meq O_2 /kg oleju) oraz z pestek dyni ($28,78 \pm 0,98$ meq O_2 /kg oleju). Umiarkowany poziom pierwotnych produktów utleniania został oznaczony dla oleju rzepakowego ($8,28 \pm 0,02$ meq O_2 /kg oleju).

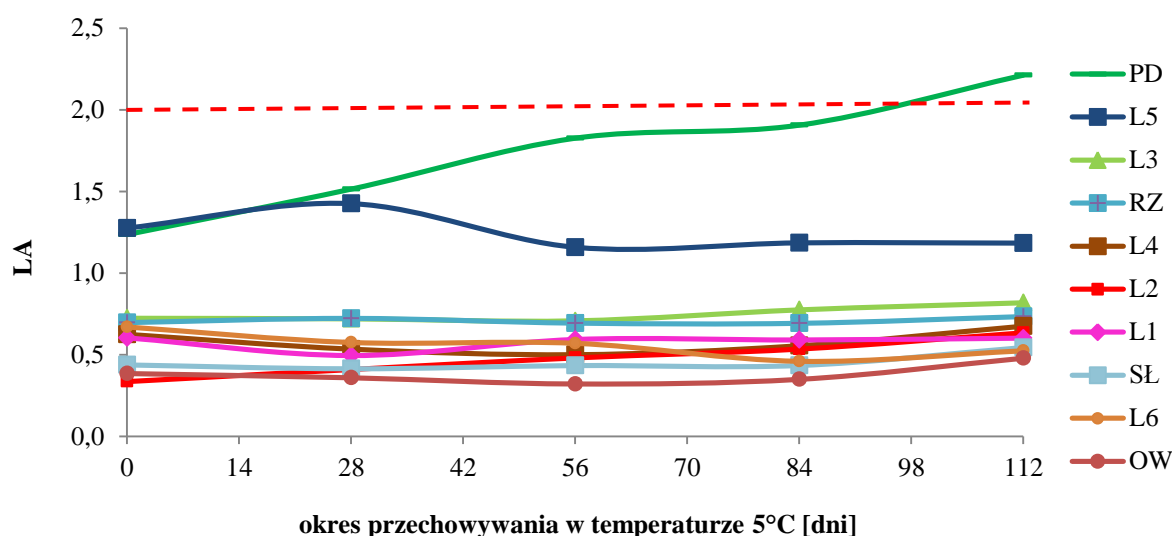
Tempo przyrostu pierwotnych produktów utleniania w olejach przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania było zróżnicowane dla poszczególnych próbek, a przy tym dużo niższe niż w tych samych olejach inkubowanych w warunkach półki sklepowej. Po 112 dniach przechowywania największy wzrost zawartości nadtlenków stwierdzono w przypadku oleju z pestek dyni, rzepakowego oraz słonecznikowego i wyniósł on odpowiednio 259%, 217% oraz 194% w stosunku do wyjściowych wartości. Podczas składowania w warunkach temperatury pokojowej również olej z pestek dyni wykazał najintensywniejszy wzrost poziomu nadtlenków, przy czym był on ponad 2 razy większy niż w warunkach konsumenckiego użytkowania. Olej z orzecha włoskiego, którego LOO podczas przechowywania w warunkach półki sklepowej wzrosła blisko 8 krotnie po 84 dniach badań, w warunkach chłodniczych po 112 dniach przechowywania osiągnął poziom nadtlenków jedynie o 58% wyższy niż w momencie rozpoczęcia eksperymentu. Świadczy to o możliwości zachowania dłuższego terminu przydatności do spożycia poprzez odpowiednie warunki przechowywania. Wcześniej przeprowadzone badania, z wykorzystaniem oleju z lnianki, ostropestu, pestek dyni, rzepakowego, słonecznikowego oraz lnianego, również wykazały, że przechowywanie w warunkach chłodniczych może zachować właściwości fizykochemiczne olejów tłoczonych na zimno przez co najmniej 12 tygodni [Sielicka, Pacholek i Gierszewski 2012].

Biorąc pod uwagę dopuszczalną wartość liczby nadtlenkowej (15 meq O_2 /kg oleju) określoną w Kodeksie Żywnościowym [Codex Standard 19-1981 2013; Codex Standard 210-1999 2013] stwierdzono, że badane oleje z pestek dyni oraz słonecznikowy przekroczyły określony limit po 42 dniach przechowywania w warunkach temperatury chłodniczej. Wartość LOO dla RZ stale wzrastała, jednakże osiągnęła jedynie poziom $8,28 \pm 0,02$ meq O_2 /kg oleju po 112 dniach. W badaniach Osek [2000] olej rzepakowy przechowywany przez 4 miesiące w lodówce (bez regularnego otwierania) wykazał podobny wzrost z $3,43 \pm 0,23$ do $12,42 \pm 0,27$ meq O_2 /kg (wzrost o 262%), a dopiero po 8 miesiącach przechowywania przekroczył dopuszczalną wartość.

Analizowane oleje wykazały zróżnicowany poziom liczby p-anizydynowej podczas 112 dni przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania (wykres 19). Zawartość wtórnych produktów utleniania olejów lnianych (L1, L2, L3, L4, L6) była niska i wahała się od 0,32 do 0,82 przez cały okres przechowywania. Porównując otrzymane wyniki

z wartościami uzyskanymi przez Mińkowskiego [2005], gdzie liczba anizydynowa wyniosła początkowo 0,45 a po 120 dniach inkubacji w warunkach chłodniczych 0,9, można stwierdzić duże podobieństwo w przebiegu wtórnych zmian oksydacyjnych. Z kolei próbka oleju lnianego L5 charakteryzowała się istotnie wyższą zawartością wtórnych produktów utleniania (1,16-1,42) w porównaniu z innymi olejami lnianymi.

Wykres 19. Wpływ przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w olejach roślinnych tłoczonych na zimno



Najwyższą zawartość wtórnych produktów utleniania oraz najintensywniejsze tempo zmian stwierdzono w przypadku oleju z pestek dyni. Po 112 dniach przechowywania w temperaturze 5°C zawartość związków karbonylowych wyniosła $2,21 \pm 0,08$. Zgodnie z wytycznymi zaproponowanymi przez Subramanian i in. [2000] liczba anizydynowa w oleju o dobrej jakości kształtuje się na poziomie poniżej 2. Olej z pestek dyni przekroczył dopuszczalny poziom LA około 98 dnia przechowywania. Ponadto, wzrost zawartości wtórnych produktów oksydacji w próbce PD inkubowanej w warunkach chłodniczych był o wiele większy niż w warunkach pokojowych. Istotne znaczenie dla zmian oksydacyjnych tego oleju mógł mieć regularny dostęp tlenu.

Oznaczenie LOO i LA umożliwiło wyliczenie wskaźnika TOTOX, który w sposób umowny wyraża ogólny stopień utlenienia olejów (tabela 31). Zmiany wartości TOTOX niektórych próbek olejów lnianych przebiegały niejednokierunkowo. W trakcie przechowywania olejów L1, L2, L4, L6 następowały fazy wzrostu i spadku wartości wskaźnika. Wahania wskaźnika TOTOX mogą znaleźć wytłumaczenie, gdy weźmiemy pod uwagę właściwości schnące oleju lnianego. Zastosowane warunki konsumenckiego

użytkowania zapewniały olejom regularne mieszanie, a co za tym idzie niszczenie warstwy polimerycznej tworzącej się na powierzchni oleju. Umożliwiało to tworzenie się nadtlenków. Z kolei otwieranie olejów warunkowało regularny dostęp tlenu do próbek, co w efekcie mogło wpływać na przyspieszanie tworzenia się warstwy filmu i opóźnienie tworzenia się nadtlenków. Wszystkie te zabiegi mogły powodować okresowe zmiany LOO i LA.

Największy wzrost wskaźnika TOTOX stwierdzono w przypadku oleju z pestek dyni (wzrost o 246%) w stosunku do początkowej wartości. Nieco niższym wzrostem charakteryzowały się próbki: RZ (wzrost o 193%) oraz SŁ (wzrost o 187%). Próbki oleju z pestek dyni i słonecznikowy osiągnęły graniczną wartość TOTOX na poziomie 10 jednostek [Wroniak, Kwiatkowska i Krygier 2006] zaraz po otwarciu, natomiast olej rzepakowy po 56 dniach przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania. W pozostałych olejach (lniane oraz z orzecha włoskiego) wartości TOTOX nie przekroczyły dopuszczalnego poziomu, co sugeruje ich stabilność oksydacyjną podczas eksperymentu.

W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano niewielki wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych (tabela 31). Zdecydowanie najniższymi wartościami liczby kwasowej podczas całego okresu przechowywania charakteryzował się olej lniany L1 (0,72-1,16 mg KOH/g oleju), olej lniany L2 (0,74-0,93 mg KOH/g oleju), olej rzepakowy (0,67-1,17 mg KOH/g oleju) oraz z pestek dyni (0,73-1,15 mg KOH/g oleju), a najwyższymi wykazał się olej słonecznikowy (4,24-4,58 mg KOH/g oleju),

Największy wzrost wartości liczby kwasowej stwierdzono w przypadku oleju lnianego L4 (119% w 112 dniu przechowywania), oleju lnianego L6 (100% w 112 dniu przechowywania) oraz rzepakowego (75% w 112 dniu inkubacji) w stosunku do wartości oznaczonej na początku eksperymentu. Jednakże żaden z powyższych olejów nie przekroczył dopuszczalnej zawartości 4,0 mg KOH/g tłuszczu lub oleju. Tylko olej słonecznikowy wykazywał przekroczoną zawartość już od początku badania, ale przy tym wzrost LK podczas całego okresu przechowywania był znikomy i wyniósł jedynie 8%.

Wyniki przeprowadzonych badań w warunkach konsumenckiego użytkowania nie potwierdzają wniosków prezentowanych przez Rotkiewicz i Konopkę [1998], które stwierdziły, że oleje ulegały hydrolizie tym szybszej, im więcej wolnych kwasów tłuszczowych posiadały tuż po wydobyciu. Początkowe wartości LK dla oleju słonecznikowego, lnianego L3 czy z orzecha włoskiego były stosunkowo wysokie na tle innych olejów, a z kolei przyrost wolnych kwasów tłuszczowych w tych próbkach podczas prowadzonych badań był najmniejszy.

Wpływ przechowywania olejów lnianych w warunkach konsumenckiego użytkowania na cechy organoleptyczne

Ocenę zmian intensywności poszczególnych nut smakowych (orzechowej, utlenionej, trawiastej), smaku gorzkiego oraz oceny ogólnej olejów lnianych przechowywanych w temperaturze chłodniczej (5°C) wykonywano co 14 dni (wykres 20-24). Badania zrealizowano z udziałem przeszkolonego zespołu oceniającego do momentu odrzucenia przez panel ostatniej próbki, t.j. przez 112 dni (wykres 25).

Tabela 32. Istotność zmian intensywności poszczególnych deskryptorów olejów lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania - jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA)

| wyróżnik | próbka | statystyka F | df1 | df2 | istotność |
|----------------|--------|--------------|-----|-----|--------------|
| nuta orzechowa | L1 | 2,75 | 91 | 8 | 0,009 |
| | L2 | 1,00 | 93 | 8 | 0,442 |
| | L3 | 13,75 | 43 | 3 | 0,000 |
| | L4 | 3,98 | 92 | 8 | 0,000 |
| | L5 | 9,43 | 62 | 5 | 0,000 |
| | L6 | 2,68 | 86 | 8 | 0,011 |
| nuta utleniona | L1 | 7,85 | 92 | 8 | 0,000 |
| | L2 | 2,54 | 92 | 8 | 0,015 |
| | L3 | 7,46 | 40 | 3 | 0,000 |
| | L4 | 2,98 | 91 | 8 | 0,005 |
| | L5 | 8,40 | 59 | 5 | 0,000 |
| | L6 | 3,06 | 89 | 8 | 0,004 |
| nuta trawiasta | L1 | 1,68 | 89 | 8 | 0,114 |
| | L2 | 0,92 | 87 | 8 | 0,504 |
| | L3 | 9,06 | 41 | 3 | 0,000 |
| | L4 | 0,59 | 89 | 8 | 0,781 |
| | L5 | 4,26 | 61 | 5 | 0,002 |
| | L6 | 0,99 | 91 | 8 | 0,445 |
| smak gorzki | L1 | 6,55 | 90 | 8 | 0,000 |
| | L2 | 1,68 | 89 | 8 | 0,115 |
| | L3 | 12,85 | 41 | 3 | 0,000 |
| | L4 | 4,79 | 88 | 8 | 0,000 |
| | L5 | 7,85 | 59 | 5 | 0,000 |
| | L6 | 21,62 | 86 | 8 | 0,000 |
| ocena ogólna | L1 | 9,38 | 89 | 8 | 0,000 |
| | L2 | 2,29 | 91 | 8 | 0,028 |
| | L3 | 39,94 | 43 | 3 | 0,000 |
| | L4 | 3,39 | 89 | 8 | 0,002 |
| | L5 | 6,29 | 62 | 5 | 0,000 |
| | L6 | 3,58 | 90 | 8 | 0,001 |

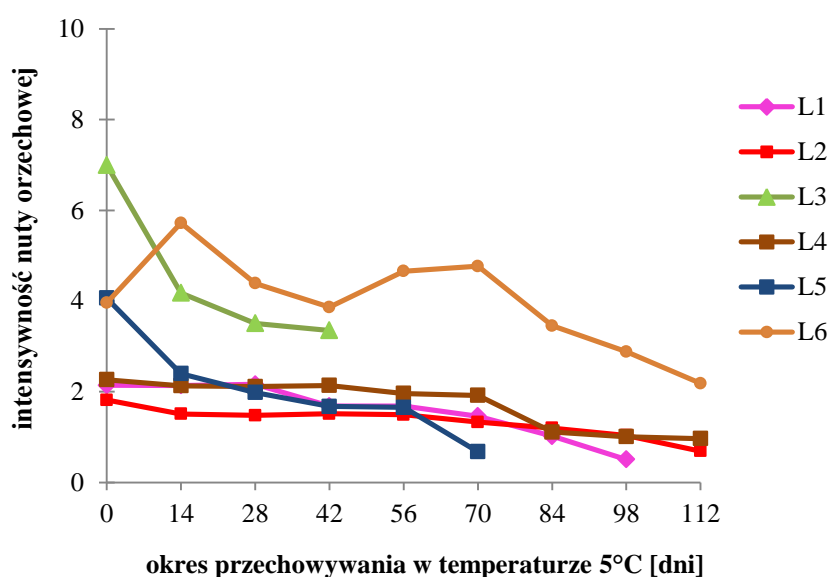
pogrubiono istotności < 0,05, co oznacza odrzucenie hipotezy zerowej na rzecz przyjęcia hipotezy alternatywnej

Przeprowadzona jednoczynnikowa analiza wariancji pozwoliła stwierdzić, czy następowały istotne statystycznie ($p < 0,05$) różnice między średnimi intensywnościami deskryptorów badanych próbek podczas przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania (tabela 32).

W przypadku oleju L3 i L5 zaobserwowano istotne statystyczne zmiany na poziomie ufności $\alpha = 0,05$ w intensywności wszystkich badanych wyróżników, co oznacza, że średnia intensywność badanych wyróżników zmieniła się istotnie przynajmniej raz w trakcie przechowywania. Jedynym olejem, dla którego nuta orzechowa oraz smak gorzki nie uległy istotnej zmianie, była próbka L2. Z kolei w obrębie nuty trawiastej nie zaobserwowano istotnych zmian dla olejów L1, L2, L4 oraz L6, co spójne jest z wynikami dla olejów przechowywanych w warunkach półki sklepowej (brak istotnej zmienności nuty trawiastej we wszystkich badanych olejach).

Biorąc pod uwagę cały okres przechowywania intensywność nuty orzechowej obniżała się w porównaniu z wartością początkową we wszystkich próbkach (wykres 20). Największy spadek jednostkowy zaobserwowano w przypadku próbki L3. Po 42 dniach przechowywania intensywność nuty orzechowej zmniejszyła się o 3,6 jednostek i została odrzucona przez zespół oceniających. Na końcu okresu przechowywania próbki L5, czyli po 70 dniach inkubacji, zaobserwowano również duży spadek intensywności nuty orzechowej (o 3,4 jednostki), co stanowi obniżenie o 83,3% w stosunku do poziomu wyjściowego.

Wykres 20. Intensywność nuty orzechowej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania

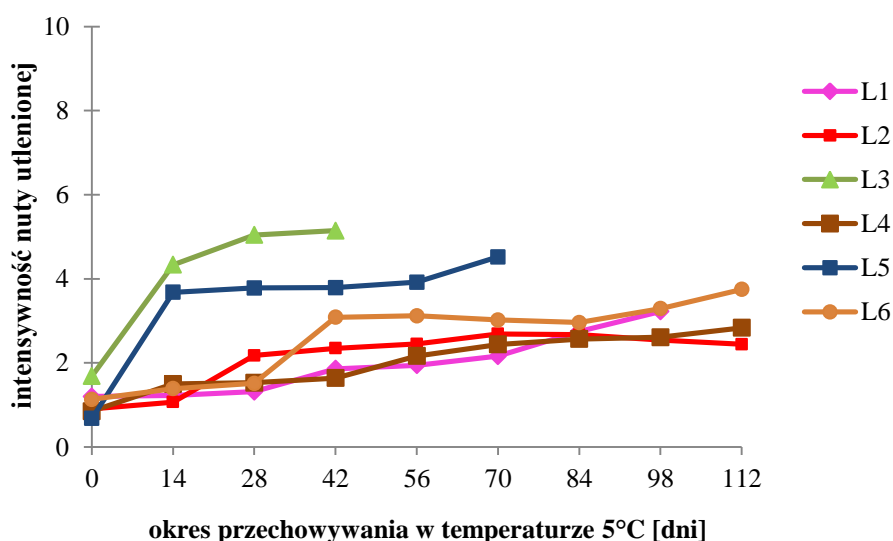


Próbka L6 wykazała zróżnicowany kierunek zmian intensywności nuty orzechowej, przy czym dominującym trendem był spadek. W pierwszym okresie przechowywania (14 dni) odczuwalność nuty rosła, bo czym następował jej spadek. Po 42 dniach inkubacji nastąpiła kolejna faza wzrostu intensywności nuty orzechowej, a potem powolne zmniejszenie. Wyczuwalny poziom nuty orzechowej próbki L6 był wysoko skorelowany z oceną ogólną ($r=0,788$). Jednakże nagłe zwiększenie intensywności nuty orzechowej po 14 dniach inkubacji nie przełożyło się na wyraźną zmianę któregośkolwiek ocenianego wyróżnika. Wpływ mógł mieć dobór próbek do poszczególnych sesji i zestawienie oleju L6 z olejami o niskiej intensywności nuty orzechowej.

Intensywność nuty utlenionej (jełkiej) badanych próbek olejów lnianych istotnie rosła podczas składowania w warunkach konsumenckiego użytkowania. Największy wzrost, tak jak w warunkach półki sklepowej, zaobserwowano dla próbki L5 (blisko 6-krotny) porównując intensywność początkową i końcową. Dwukrotny wzrost intensywności nuty jełkiej podczas całego okresu przechowywania stwierdzono w próbkach oleju L3, L4 oraz L6, przy czym wielkość wzrostu jednostkowego zależała od początkowego poziomu. Żaden z olejów nie przekroczył poziomu 3,8 jednostek intensywności w skali liniowej od 0 do 10 (wykres 21).

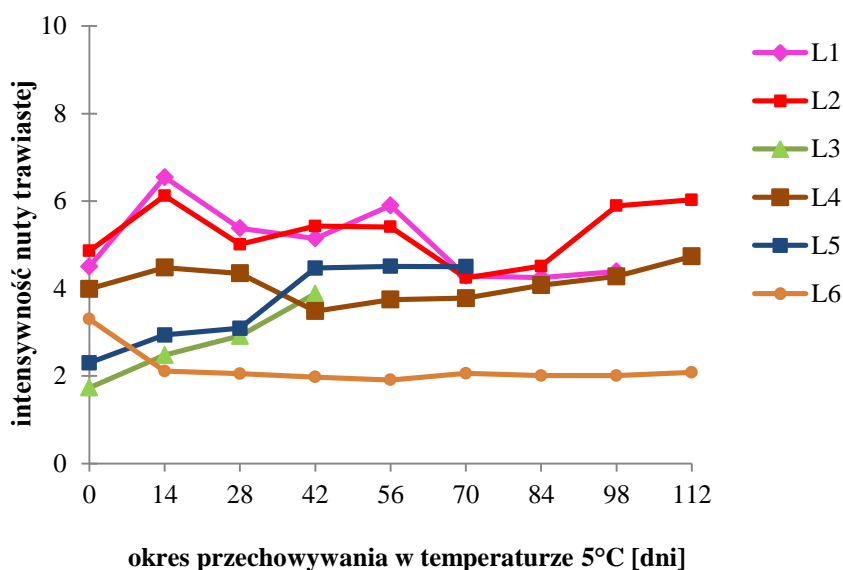
Porównując intensywność nuty utlenionej olejów przechowywanych w temperaturze pokojowej i chłodniczej można stwierdzić podobną dynamikę zmian dla olejów L1, L2, L4 oraz L6. Z kolei składowanie próbek L3 i L5 w warunkach chłodniczych spowodowało wyższą intensywność tej nuty niż w trakcie przechowywania w warunkach temperatury pokojowej.

Wykres 21. Intensywność nuty utlenionej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania



Intensywność nuty trawiastej zmieniała się w trakcie przechowywania w różnym stopniu i kierunku w zależności od próbki (wykres 22). Na końcu okresu przechowywania intensywność tej nuty wahała się od 2,1 dla oleju L6 do 6,0 dla oleju L2, czyli w nieco szerszym zakresie niż podczas przechowywania w temperaturze 25°C. Próbkę L3 i L5 wykazały istotny wzrost intensywności nuty trawiastej podczas przechowywania, który wyniósł 2,2 jednostki porównując początkową i końcową wartość.

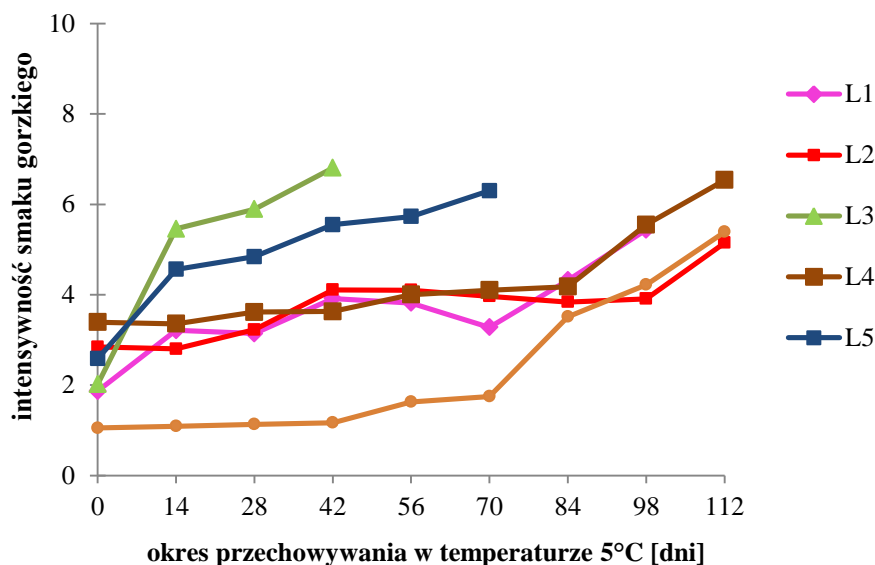
Wykres 22. Intensywność nuty trawiastej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania



W trakcie przechowywania w temperaturze chłodniczej intensywność smaku gorzkiego uległa najsilniejszemu wzrostowi w porównaniu z innymi badanymi wyróżnikami organoleptycznymi. Największą dynamikę zmian zaobserwowano w przypadku oleju L3 (wykres 23). W ciągu 42 dni inkubacji tej próbki intensywność smaku gorzkiego wzrosła o 4,8 jednostki. W porównaniu z olejem L3 przechowywanym w temperaturze pokojowej tempo zmian było jednak 2 razy niższe.

Krzywe zależności intensywności smaku gorzkiego od czasu przechowywania były zróżnicowane dla badanych próbek. Olej L5 wykazał wysoki wzrost gorzkości i po 70 dniach przechowywania osiągnął poziom 6,7 jednostek. Z kolei, próbki L1, L2 i L4 charakteryzowały się podobnym przebiegiem zmienności intensywności, przy czym był on mniej intensywny niż w próbkach L3 i L5. Najmniejszy całkowity przyrost gorzkości oznaczono dla próbki L2 (o 2,3 jednostki).

Wykres 23. Intensywność smaku gorzkiego w olejach lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania



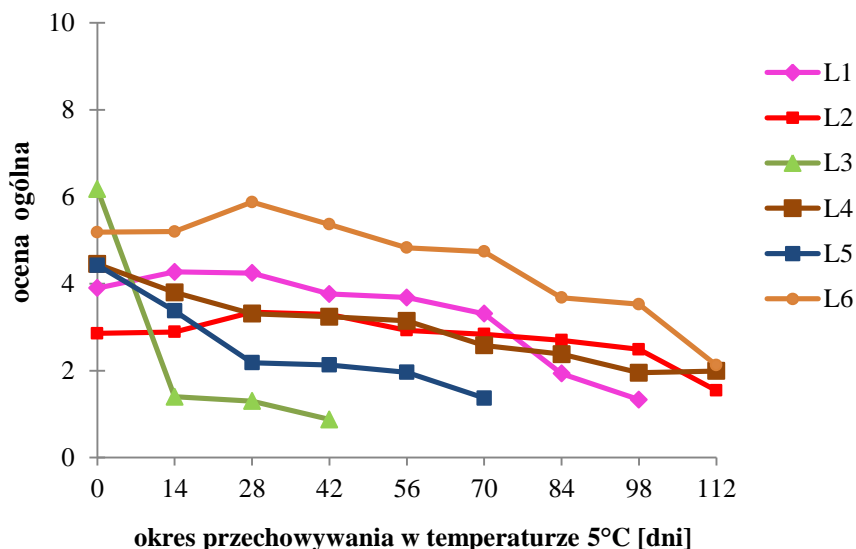
Zupełnie odmienny przebieg zmian intensywności smaku gorzkiego zaobserwowano dla próbki oleju niskolinolowego (L6). Przez pierwsze 42 dni eksperymentu poziom smaku gorzkiego utrzymywał się na stałym poziomie 1,1-1,2 jednostek, istotnie niższym niż pozostałe próbki ($\alpha=0,05$). Następnie stwierdzono nieznaczny wzrost wyczuwanej gorzkości, a po 70 dniach inkubacji tempo zmian zwiększyło się. Po 112 dniach gorzkość oleju L6 osiągnęła poziom 5,4 jednostek, zbliżony do poziomu oleju L1 i L2.

Podczas przechowywania olejów lnianych w temperaturze chłodniczej stwierdzono istotny spadek ich oceny ogólnej (tabela 32 oraz wykres 24). Najsilniejszy spadek zaobserwowano w przypadku próbki L3, w której to z początkowej oceny ogólnej na poziomie 6,2, najwyższej spośród wszystkich olejów, nastąpił spadek do 0,9 jednostek w trakcie jedynie 42 dni przechowywania. Równie znaczny spadek oceny ogólnej stwierdzono w przypadku próbki L1 i L5, dla której ocena zmniejszyła się o 3,1 punktów na koniec okresu przechowywania.

Jak w przypadku innych wyróżników organoleptycznych, ocena ogólna olejów L2 i L4 była zbliżona podczas całego okresu przechowywania. Podobieństwa sensorycznego nie można wytłumaczyć ani tą samą odmianą nasion lnu (olej L2 otrzymano z odmiany lnu Szafir, a olej L4 z odmiany lnu Oliwin) ani tożsamą zawartością kwasów linolowego i α -linolenowego.

W przypadku oleju L6 (niskolinolenowego) ocena ogólna była wyższa od innych olejów lnianych przez cały okres przechowywania, ale również istotnie zmniejszała się, by w efekcie osiągnąć poziom 2,1 jednostek.

Wykres 24. Ocena ogólna olejów lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania



Przeprowadzona analiza korelacji pozwoliła określić, w jakim zakresie powiązane są ze sobą badane deskryptory organoleptyczne (tabela 33). Zaobserwowano bardzo silną ujemną korelację między intensywnością smaku gorzkiego i oceną ogólną podczas całego okresu przechowywania ($r=-0,904$). Ta zależność była również najbardziej widoczna w badaniach prowadzonych w warunkach półki sklepowej. Istotną ujemną korelację ($r=-0,765$) stwierdzono między nutą orzechową i trawiastą.

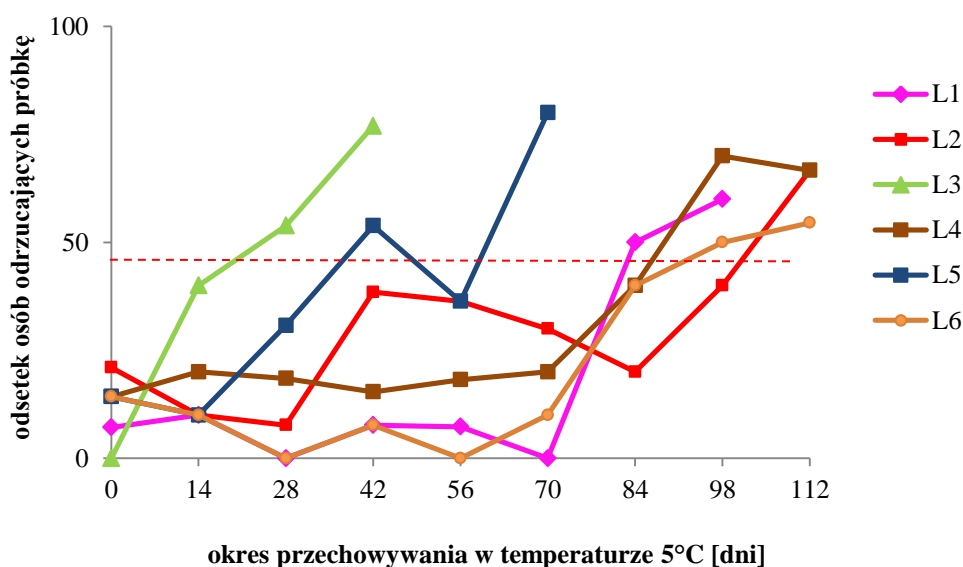
Ocena ogólna była także ujemnie skorelowana ($r=-0,627$) z nutą jełką, natomiast dodatnio ($r=0,661$) z nutą orzechową, silniej niż dla olejów przechowywanych w temperaturze pokojowej. W badaniach prowadzonych przez Wiesenborn i in. [2005] stwierdzono ujemną korelację między nutą orzechową a oceną ogólną dla oleju lnianego przechowywanego w temperaturze chłodniczej. Może to wynikać z faktu, że w swoich badaniach autor wyliczył korelację dla tych wyróżników biorąc pod uwagę jedynie wartości uzyskane po 15 tygodniach przechowywania (ocena przeprowadzana przez 11 panelistów dla 5 olejów). W niniejszej pracy korelację obliczono na podstawie intensywności deskryptorów w każdym punkcie pomiarowym, biorąc pod uwagę wszystkie oleje.

Tabela 33. Analiza korelacji między badanymi wyróżnikami organoleptycznymi olejów lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania

| | nuta orzechowa | nuta utleniona | nuta trawiasta | smak gorzki | ocena ogólna |
|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|--------------|
| nuta orzechowa | 1 | | | | |
| nuta utleniona | -0,070 | 1 | | | |
| nuta trawiasta | -0,765 | -0,229 | 1 | | |
| smak gorzki | -0,566 | 0,683 | 0,302 | 1 | |
| ocena ogólna | 0,661 | -0,627 | -0,384 | -0,904 | 1 |

pogrubiono wartości $r^2 > 0,700$

Wykres 25. Odsetek osób w zespole oceniającym odrzucających próbki oleju lnianego ze względu na gorzkość (warunki konsumenckiego użytkowania)



Z uwagi na wyraźnie zróżnicowane profilów smakowitości próbek olejów lnianych oraz odmienne tempo i kierunek zmian intensywności poszczególnych wyróżników sensorycznych, tak jak w przypadku badań prowadzonych w warunkach półki sklepowej, na każdej sesji zespół oceniający był proszony o odpowiedź na pytanie, czy wyczuwalny poziom gorzkości w danej próbce stanowi podstawę do jej odrzucenia. W sytuacji, kiedy podczas dwóch sesji ponad 50% oceniających odpowiedziało pozytywnie, zdecydowano się na usunięcie próbki z dalszych badań. Na tej podstawie wykreślono krzywe zależności odsetku oceniających odrzucających próbki ze względu na gorzkość od czasu przechowywania (wykres 25).

Na podstawie uzyskanych wyników wnioskowano o trwałości olejów lnianych przechowywanych w warunkach temperatury chłodniczej po otwarciu oleju biorąc pod uwagę gorzkość jako kluczowy wyróżnik w ocenie jakości olejów lnianych. Próbki olejów wykazały

zróżnicowaną trwałość, która kształtowała się następująco: olej lniany L3 (42 dni) < olej L5 (70 dni) < olej L1 (98 dni) < olej L2 (112 dni) = olej L4 (112 dni) = olej L6 (112 dni).

Podsumowując, przechowywanie olejów lnianych w warunkach konsumenckiego użytkowania (w temperaturze 5°C po pierwszym otwarciu, z regularnym otwieraniem i wylewaniem) wpłynęło w zróżnicowany sposób na zasięg zmian jakościowych próbek. Zawartość pierwotnych i wtórnych produktów oksydacji kształtowała się na niskim poziomie. Stwierdzono istotny wpływ warunków prowadzenia eksperymentu na tempo przyrostu pierwotnych produktów utleniania w olejach, które w warunkach konsumenckiego użytkowania było dużo niższe niż w olejach składowanych w warunkach półki sklepowej. Ocena profilu smakowitości oraz oceny ogólnej olejów lnianych w trakcie przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania ukazała ich istotne niekorzystne zmiany sensoryczne. Stwierdzono spadek intensywności nuty orzechowej i oceny ogólnej oraz zanotowano wzrost intensywności smaku gorzkiego i nuty jełkiej w próbkach olejów. Natomiast intensywność nuty trawiastej zmieniała się w trakcie przechowywania w różnym stopniu i kierunku w zależności od próbki. Podobne trendy zmian otrzymano przechowując próbki w temperaturze pokojowej.

Najintensywniejszym zmianom w porównaniu z innymi badanymi wyróżnikami ulegał smak gorzki, który był najsilniej ujemnie skorelowany z oceną ogólną olejów. Biorąc pod uwagę gorzkość jako kluczowy wyróżnik w ocenie jakości olejów lnianych próbki wykazały zróżnicowaną trwałość wynoszącą od 42 dni do 112 dni. Przechowywanie olejów w warunkach chłodniczych pozwoliło opóźnić niekorzystne zmiany smakowitości olejów w porównaniu z przechowywaniem w temperaturze pokojowej.

W przeprowadzonym doświadczeniu wzrost gorzkości w próbkach olejów o wysokiej zawartości kwasu α -linolenowego (L1-L5) nastąpił znacznie wcześniej niż w oleju niskolinolenowym (L6) (dopiero po 56 dniach inkubacji w temperaturze pokojowej i po 70 dniach w temperaturze chłodniczej). Zgodnie z teorią Brühla i in. [2008] gorzknienie oleju lnianego uwarunkowane jest procesami oksydacyjnymi, głównie metioniny zawartej w cyklolinopeptydzie E. Kwas α -linolenowy jest podatny na zmiany oksydacyjne i utlenia się 20-40 razy szybciej niż kwas oleinowy i 2-4 razy szybciej niż kwas linolowy [Frankel 2005]. Oleje L1-L5 zawierają znaczne ilości kwasu α -linolenowego przez co utlenianie zachodzi szybciej niż w oleju L6. Powyższe wyniki mogą sugerować, że niekorzystne zmiany cech organoleptycznych są związane z wysoką zawartością kwasu α -linolenowego, chociaż nie zaobserwowano w próbkach nagromadzenia się pierwotnych ani wtórnych produktów utleniania. Z uwagi na właściwości schnące olejów lnianych zasięg zmian oksydacyjnych nie

ujawnia się w oznaczanych parametrach fizykochemicznych (LOO, LA). Dlatego też jednym ze sposobów zniwelowania lub opóźnienia powstawania gorzkości mogłoby być zastosowanie przeciwutleniacza, który zapobiegałby oksydacji kwasów tłuszczowych, a co za tym idzie utlenianiu cyklolinopeptydów.

Próbie dodatku przeciwutleniacza do oleju lnianego i śledzenia zmian cech organoleptycznych podczas przechowywania podjął w swoich badaniach Mińkowski [2005; 2008]. Dodatek mieszaniny α - tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej w ilości 150 mg/kg przedłużył termin przydatności do spożycia w warunkach temperatury pokojowej o 1 miesiąc, a w warunkach chłodniczych o 2 miesiące [Mińkowski 2005]. Wnioskowanie odbyło się na podstawie sensorycznej oceny ogólnej, jednakże nie podano dopuszczanego poziomu oceny ani jak kształtowały się poszczególne nuty smakowitości próbek podczas przechowywania. Z kolei w publikacji z 2008 roku [Mińkowski 2008] Autor podsumował, że olej z dodatkiem przeciwutleniacza zachowywał się pod względem zmian intensywności i pożądalności poszczególnych nut smakowych w sposób zbliżony do próby kontrolnej. Niejednoznaczność wyników, zaobserwowane wyraźne zmiany cech organoleptycznych badanych olejów lnianych, przy jednoczesnym braku intensywnych zmian cech fizykochemicznych i stabilności oksydatywnej stwarzają podstawę do podjęcia dalszych badań w tym obszarze.

7.2. Wpływ substancji o właściwościach przeciwutleniających na zasięg zmian oksydacyjnych oleju lnianego tłoczonego na zimno przechowywanego w warunkach przyspieszonego starzenia

Stabilność oksydacyjna olejów roślinnych, które stanowią kompleksową mieszaninę triacylogliceroli i związków nieglicerydowych, jest ważnym aspektem z uwagi na utrzymujące się wysokie zainteresowanie tłuszczami roślinnymi. Wiele prac poświęconych jest utlenianiu kwasów tłuszczowych oraz sposobom ochrony labilnych odżywczych składników olejów. Poszukuje się substancji o właściwościach przeciwutleniających, które mogłyby opóźnić procesy oksydacyjne i zabezpieczyć żywność przed niekorzystnymi zmianami organoleptycznymi oraz spadkiem wartości odżywczej. Szczególnie popularne zdaje się być wykorzystywanie naturalnych związków przedłużających trwałość. Zjawisko to związane jest z proekologicznym i prozdrowotnym trendem, które są wynikiem obaw konsumentów przed ujemnymi skutkami stosowania dodatków syntetycznych i nadmiernej chemizacji życia [Małecka 1996].

Zgodnie z raportem opublikowanym przez FEDIOL (The EU Vegetable Oil & Proteinmeal Industry) [2011] jednym z obecnie obserwowanych trendów żywieniowych jest mieszanie różnego typu olejów. Powszechnie uważa się, że jest to jeden z ekonomicznie opłacalnych sposobów modyfikowania właściwości fizykochemicznych olejów oraz poprawy ich stabilności oksydacyjnej [Hoffmann i in. 2002; Anwar i in. 2007; Bhatnagar i in. 2009; Ramadan i Wahdan 2012; Ramadan 2013]. Poprzez dobór odpowiednich olejów zmianie ulega przede wszystkim profil kwasów tłuszczowych oleju, na rzecz zmniejszenia zawartości kwasów wielonienasyconych. W efekcie ogranicza się potrzebę przeprowadzania uwodornienia nienasyconych kwasów tłuszczowych, eliminując w ten sposób prawdopodobieństwo powstawania szkodliwych izomerów *trans* kwasów tłuszczowych. Ponadto w wyniku mieszania olejów można wpłynąć na zawartość związków o właściwościach przeciwutleniających w końcowym produkcie, dlatego poszukuje się olejów o potwierdzonej wysokiej pojemności antyoksydacyjnej.

Cennym surowcem, będącym źródłem naturalnych związków o właściwościach odżywczych i funkcjonalnych, wydają się być pozostałości poprodukcyjne przetwórstwa roślin oleistych. Są one głównie wykorzystywane jako dodatki do pasz. Jednakże od kilku lat podejmowane są próby ich dodatku do żywności, w celu wzbogacenia wartości żywieniowej i przedłużenia trwałości żywności (rozdział 2.3.4).

W niniejszej pracy podjęto próbę przedłużenia trwałości oleju lnianego poprzez dodatek naturalnych substancji:

- olejów o wysokiej aktywności przeciwutleniającej,
- ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych,
- ekstraktu z rozmarynu.

Substancje te zostały wybrane na podstawie przeprowadzonych badań aktywności przeciwutleniającej opisanych w kolejnym rozdziale (7.2.1).

Dla porównania zastosowano dodatek przeciwutleniacza syntetycznego - BHT. Wielkość poszczególnych dodatków przeciwutleniaczy do oleju lnianego ustalono na podstawie wstępnych badań oraz danych literaturowych [Niklová i in. 2001; Samotyja i Małecka 2007; Ramadan i Wahdan 2012].

7.2.1. Aktywność przeciwutleniająca olejów, ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych oraz ekstraktu z rozmarynu

Ocena właściwości przeciwutleniających wybranych olejów roślinnych tłoczonych na zimno

Oceniono aktywność przeciwutleniającą wybranych olejów roślinnych tłoczonych na zimno, w tym oleju rzepakowego, z pestek dyni, z orzecha włoskiego, z wiesiołka, z czarnuszki siewnej oraz lnianego o oznaczonym składzie kwasów tłuszczowych (tabela 24). Ważnym aspektem przy porównaniu właściwości przeciwutleniających olejów jest rodzaj frakcji, w jakiej wykonane zostało oznaczenie. W prezentowanych badaniach dokonano pomiaru aktywności przeciwutleniającej olejów we frakcji polarnej (ekstrakt metanolowy) oraz frakcji apolarnej (pozostałość po ekstrakcji oleju metanolem rozpuszczona w octanie etylu). W literaturze odnaleźć można odmienne doniesienia na temat, która z faz (polarna, apolarna lub cały olej bez uprzedniej ekstrakcji przeciwutleniaczy) posiada najwyższe właściwości przeciwutleniające [Espin, Soler-Rivas i Wichers 2000; Papadopoulos i in. 2003; Valavanidis i in. 2004; Pérez-Jiménez i in. 2008].

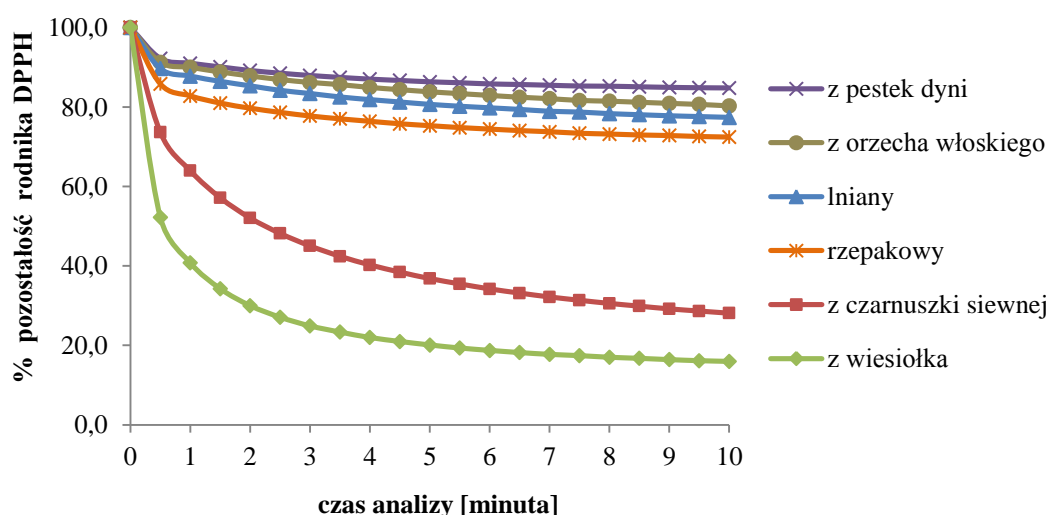
W celu otrzymania wiarygodnego obrazu aktywności przeciwutleniającej, biorąc pod uwagę mocne i słabe strony danej metody oraz ich możliwości aplikacyjne, zaleca się stosowanie co najmniej dwóch metod [Pérez-Jiménez i in. 2008]. Ocenę aktywności przeciwutleniającej frakcji polarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno dokonano za pomocą metody z rodnikiem DPPH (rozpuszczonym w metanolu) oraz oznaczono siłę redukującą w teście FRAP. Zastosowanie metody FRAP do oceny aktywności przeciwutleniającej frakcji apolarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno było

niemożliwe, gdyż frakcja oleju rozpuszczona w octanie etylu nie mieszała się z fazą wodną mieszaniny reakcyjnej FRAP. Dlatego też do oceny pojemności antyoksydacyjnej frakcji apolarnej olejów roślinnych wykorzystano metodę z rodnikiem DPPH (rozpuszczonym w octanie etylu) oraz pomiar fotochemiluminescencji [Sielicka, Małecka i Purlan 2014].

Aktywność przeciwutleniająca frakcji polarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno

Ocenę aktywności antyrodnikowych frakcji polarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno dokonano testem z rodnikiem DPPH rozpuszczonym w metanolu (wykres 26). Próbkę inkubowano z rodnikiem DPPH przez 10 minut i mierzono absorbancję co 30 sekund. Najwyższą zdolność wygaszania rodnika wykazał metanolowy ekstrakt z oleju z czarnuszki siewnej (stężenie ekstraktu w mieszaninie reakcyjnej dwa razy niższe niż innych ekstraktów) oraz ekstrakt z oleju z wiesiołka. Pozostałe ekstrakty zredukowały rodnik w istotnie mniejszym stopniu, na poziomie 15,2% (ekstrakt z oleju z pestek dyni) - 27,5% (ekstrakt z oleju rzepakowego). Wysoka zdolność metanolowego ekstraktu z oleju z czarnuszki siewnej do wygaszania rodnika na poziomie 76,4-83,5 μmol DPPH przy początkowej zawartości 100 μmol DPPH została stwierdzona także w badaniach prowadzonych przez Lutterodt i in. [2010].

Wykres 26. Wygaszanie rodnika DPPH (rozpuszczonego w metanolu) przez frakcję polarną olejów roślinnych tłoczonych na zimno[§]



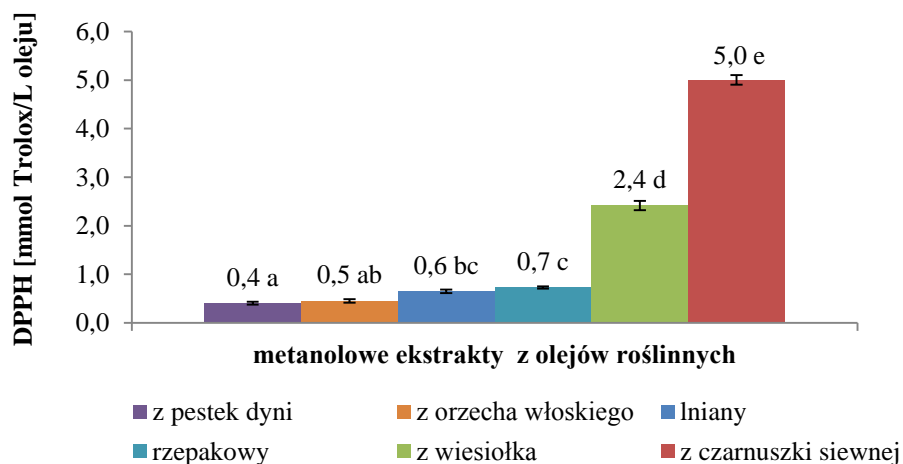
[§]ilość pobranej próby w przypadku ekstraktu z oleju z czarnuszki siewnej była 2 razy mniejsza niż pozostałych ekstraktów

Uwzględniając rozcieńczenia i naważki prób, wyniki testu z rodnikiem DPPH po 10 minutach inkubacji próbki z rodnikiem wyrażono w mmol Troloxu na 1 litr oleju. Wyrażanie

aktywności przeciwutleniającej w odniesieniu do Troloxu stwarza możliwość porównania uzyskanych wyników z doniesieniami innych autorów.

Istotnie najwyższą aktywnością przeciwrodnikową charakteryzował się metanолоwy ekstrakt z oleju z czarnuszki siewnej (wykres 27).

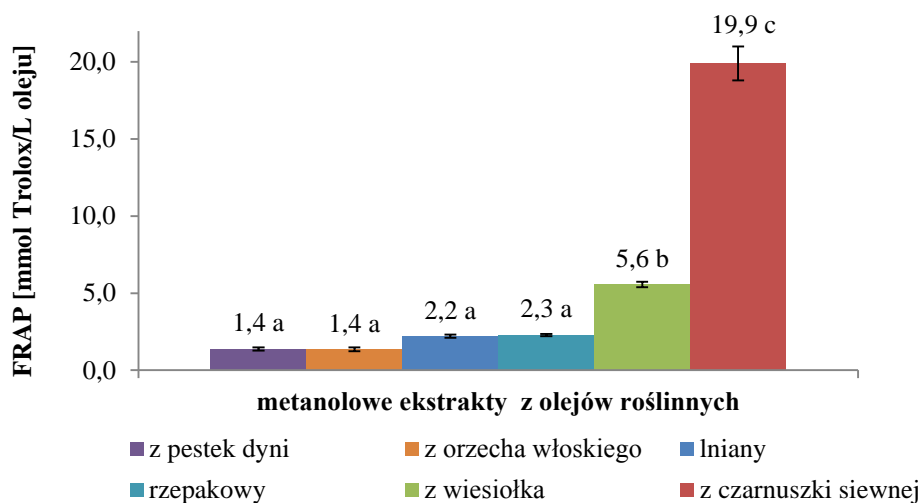
Wykres 27. Aktywność przeciwrodnikowa frakcji polarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno po 10 minutach inkubacji próbki z rodnikiem



*średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)

Badania wykazały, że wartości testu FRAP różnią się w sposób istotny statystyczny między ekstraktami (wykres 28).

Wykres 28. Siła redukująca frakcji polarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno (test FRAP)



*średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)

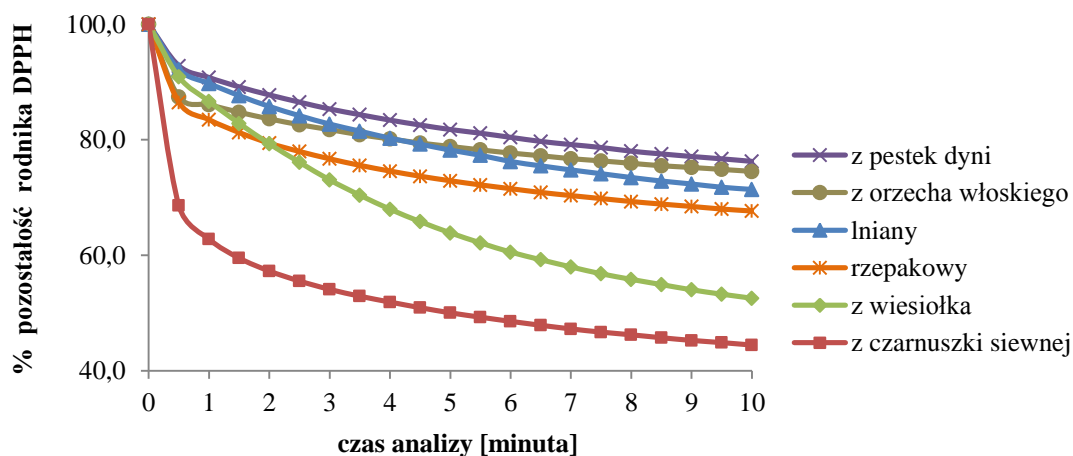
Zdecydowanie największą zdolność redukcji jonów Fe^{3+} wykazał ekstrakt z oleju z czarnuszki siewnej (19,9 mmol Troloxu/g s.m. ekstraktu). Ponad trzykrotnie niższą siłą redukującą charakteryzował się ekstrakt z oleju z wiesiołka (5,6 mmol Troloxu/g s.m. ekstraktu). W przypadku pozostałych metanолоwych ekstraktów stwierdzono siłę redukującą na poziomie 1,4-2,3 mmol Troloxu na 1 gram suchej masy ekstraktu.

Brak istotnych statystycznie różnic w potencjale przeciwutleniającym frakcji polarnej oleju rzepakowego i lnianego potwierdził również Kruszewski i in. [2013] stosując metodę ORAC.

Aktywność przeciwutleniająca frakcji apolarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno

Zdolność frakcji apolarnej, otrzymanej w wyniku ekstrakcji olejów metanolem i rozpuszczeniu pozostałości w octanie etylu, do zmiatania wolnych rodników oceniono w teście z rodnikiem DPPH rozpuszczonym w octanie etylu. Zaobserwowano spadek absorbancji, przy czym krzywe kinetyczne reakcji były zróżnicowane dla poszczególnych olejów. Z danych przedstawionych na wykresie 29 można zauważyć, że najmniejszy procent niezredukowanego rodnika DPPH po 10 minut inkubacji próbki z rodnikiem pozostał w przypadku frakcji apolarnej ekstraktu z oleju z czarnuszki siewnej oraz wiesiołka, co wskazuje na ich najwyższą aktywność antyrodnikową spośród badanych ekstraktów. Nieco niższymi właściwościami przeciwrodnikowymi charakteryzował się ekstrakt z oleju rzepakowego. 73,7-76,3 % niezredukowanego DPPH• po 10-minutowej inkubacji z frakcją niepolarną olejów zaobserwowano w przypadku ekstraktu z oleju lnianego, z orzecha włoskiego oraz pestek dyni.

Wykres 29. Wygaszanie rodnika DPPH (rozpuszczonego w octanie etylu) przez frakcję apolarną olejów roślinnych tłoczonych na zimno



Uzyskane wyniki wyrażono także w mmol Troloxu na litr oleju (tabela 34). Dokonano porównania otrzymanych wartości z wynikami prac innych autorów, którzy stosowali tę samą metodę do oznaczania aktywności przeciwutleniającej frakcji apolarnej olejów, przy czym rodnik DPPH rozpuszczony był w octanie etylu [Espin, Soler-Rivas i Wichers 2000; Tuberoso i in. 2007; Prevc i in. 2013]. Według Tuberoso i in. [2007] pojemność przeciwutleniająca frakcji niepolarniej w oleju lnianym, z pestek dyni oraz rzepakowym tłoczonych na zimno wynosiła odpowiednio 0,9; 0,75 i 0,65 mmol/L oleju, co stanowi wynik zbliżony do oznaczonego w ramach niniejszej pracy.

Tabela 34. Aktywność przeciwutleniająca frakcji apolarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno [mmol Trolox/L oleju]

| metoda | ekstrakt z oleju roślinnego | | | | | |
|--------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | z pestek dyni | z orzecha włoskiego | lniany | rzepakowy | z wiesiołka | z czarnuszki siewnej |
| DPPH | 0,5 ^a ± 0,0 | 0,5 ^a ± 0,0 | 0,6 ^{ab} ± 0,0 | 0,7 ^b ± 0,1 | 1,0 ^c ± 0,0 | 1,2 ^c ± 0,0 |
| PCL | 1,3 ^d ± 0,0 | 1,1 ^b ± 0,0 | 1,0 ^a ± 0,0 | 1,2 ^c ± 0,0 | 3,5 ^e ± 0,0 | 7,7 ^f ± 0,0 |

*średnie oznaczone różnymi literami w tym samym rzędzie różnią się statystycznie istotnie (p<0,05)

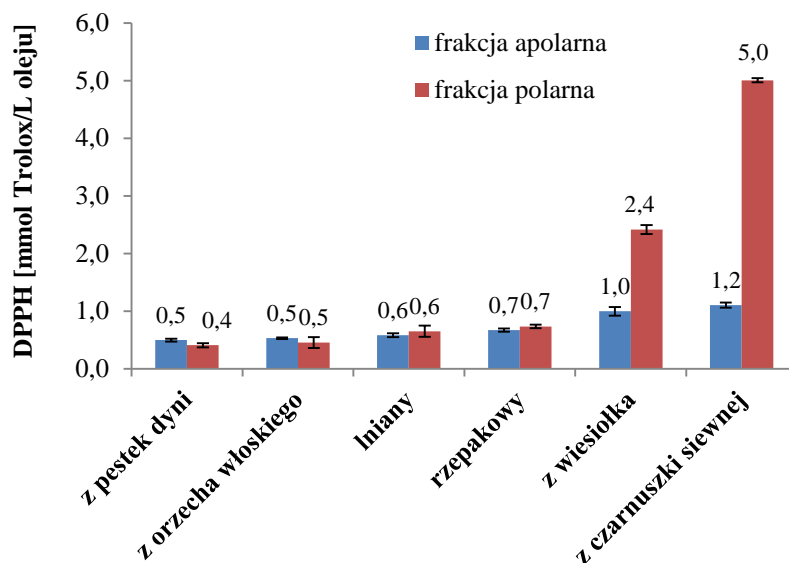
Oznaczenie fotochemiluminescencji frakcji apolarnej przeprowadzano bezpośrednio w próbkach oleju rozcieńczonych w heksanie, a pojemność antyoksydacyjną wyrażono jako mmol Trolox na litr oleju. Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą związków lipofilowych charakteryzowały się ekstrakty z oleju z czarnuszki siewnej (7,7 mmol Trolox/L oleju) oraz oleju z wiesiołka (3,5 mmol Trolox/L oleju). Pojemność antyoksydacyjna pozostałych olejów była niższa i wahała się od 1,0 mmol Troloxu/L oleju dla oleju lnianego do 1,3 mmol Troloxu/L oleju dla oleju z pestek dyni (tabela 34). Niewielkie różnice w aktywności przeciwutleniającej frakcji apolarnej olejów z nasion lnu, pestek dyni oraz rzepaku można wytłumaczyć zawartością tokoferoli na zbliżonym poziomie (odpowiednio 588,5; 508,1; 624,6 mg/kg) [Tuberoso i in. 2007].

Według Matthäus i Özcan [2011] olej z czarnuszki siewnej zawiera dużą ilość β -tokotrienoli i steroli, w tym Δ -5 awenasterolu, które to wykazują silne właściwości przeciwutleniające [Gordon i Magos 1983; Małecka 2002]. Badanie przeprowadzone przez Lutterodt i in. [2010] wykazało wysoką stabilność oksydacyjną oleju z czarnuszki siewnej. Elektronowy rezonans spinowy (ESR) wykazał, że olej ten zawiera naturalne przeciwutleniacze i był w stanie ograniczyć utlenianie oleju rybiego inicjowanego wolnymi rodnikami.

Zaobserwowano silną dodatnią korelację ($r=0,910$) pomiędzy pojemnością przeciwutleniającą związków lipofilowych oznaczoną testem z rodnikiem DPPH i za pomocą fotochemiluminescencji (PCL). Obie metody podobnie zróżnicowały analizowane oleje tłoczone na zimno pod względem ich aktywności przeciwutleniającej, ale uzyskane wartości różniły, co może być uwarunkowane odmiennymi zasadami oznaczenia [Schlesier i in. 2002]. W metodzie PCL optyczne pobudzenie fotosensybilizatora powoduje tworzenie się rodników ponadtlenkowych, a następnie mierzona jest zdolność wygaszenia rodników przez przeciwutleniacze zawarte w próbce na podstawie chemiluminescencji. W przypadku metody z rodnikiem DPPH mierzony jest spadek absorbancji jako wynik redukcji stabilnego rodnika. Inną możliwą przyczyną otrzymania niższych wartości w teście z DPPH• jest zastosowanie octanu etylu jako rozpuszczalnika ekstrakcyjnego. Rodzaj i skład rozpuszczalnika może mieć znaczący wpływ na szybkość reakcji utleniania [Dawidowicz i Olszowy 2013]. Próbkę olejów z pestek dyni, sezamowego, rzepakowego, lnianego rozpuszczone w octanie etylu wykazywały znacznie niższą aktywność przeciwutleniającą w teście z rodnikiem DPPH niż po rozpuszczeniu tych samych olejów w innych rozpuszczalnikach (m.in. metanolu: propan-2-olu stosunku 1:1 (V/V) [Prevc i in. 2013]. Ponadto, metoda PCL przeprowadzona została bezpośrednio w oleju bez frakcjonowania, a test z rodnikiem DPPH wymagał przygotowania ekstraktu, co mogło przyczynić się do strat niektórych lipofilowych przeciwutleniaczy.

Na poniższym wykresie (wykres 30) zestawiono wyniki aktywności przeciwrodnikowej badanych frakcji olejów roślinnych tłoczonych oznaczonej w teście z rodnikiem DPPH. Bezpośrednie porównanie wartości nie byłoby właściwe z uwagi na użycie innego rozpuszczalnika do przygotowania ekstraktu oraz rodnika DPPH rozpuszczonego w metanolu i octanie etylu, odpowiednio dla frakcji polarnej i apolarnej. Analizując wyniki badania przeprowadzonego przez Arranz, Perez-Jimenez i Saura-Calixto [2008] aktywność przeciwutleniająca frakcji polarnej przewyższyła aktywność przeciwutleniającą frakcji apolarnej tego samego oleju, co zostało zaobserwowane w przypadku większości badanych olejów. Z kolei w oleju z pestek dyni zaobserwowano odwrotną zależność, zgodną z wynikami innych autorów [Espin, Soler-Rivas i Wichers 2000; Valavanidis i in. 2004; Tuberoso i in. 2007; Nikokavoura i in. 2011]. Odmiennosc wyników prac różnych autorów dotyczących tego samego oleju może być uwarunkowana różnym pochodzeniem i odmianą surowców, z których wytłoczono olej. Zróżnicowanie w zakresie składu ilościowego i jakościowego tokoferoli oraz frakcji niezmydlającej oleju, a w szczególności cech strukturalnych związków fenolowych, ich interakcje z innymi składnikami oleju oraz kinetyki reakcji utleniania bezpośrednio wpływają na pojemność przeciwutleniającą olejów.

Wykres 30. Aktywność przeciwrodnikowa badanych frakcji olejów roślinnych tłoczonych na zimno po 10 minutach inkubacji próbki z rodnikiem



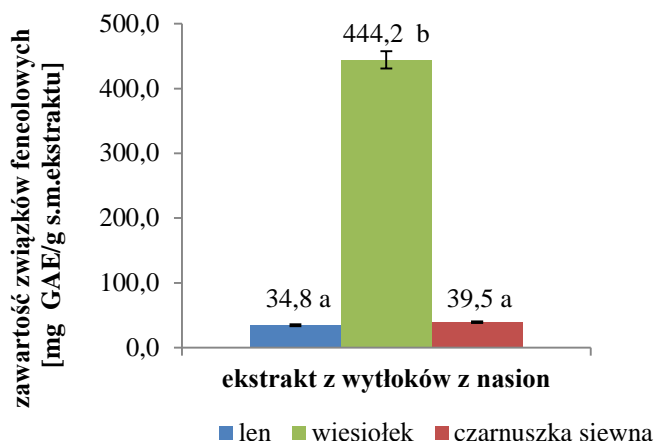
Otrzymane wyniki pozwalają wnioskować o wysokich właściwościach przeciwutleniających oleju z czarnuszki siewnej i wiesiołka oraz umiarkowanych właściwościach pozostałych olejów: z pestek dyni, orzecha włoskiego, rzepakowego i lnianego. Ramadan i Moersel [2006] oznaczyli aktywność przeciwrodnikową olejów rozpuszczonych w toluenie, która kształtowała się od najwyższej: olej z kolendry > z czarnuszki siewnej > z nasion bawełny > z orzecha arachidowego > słonecznikowy > z orzecha włoskiego > konopny > lniany > z oliwy oliwek > z kminku. Z kolei wysokie właściwości antyrodnikowe oleju z wiesiołka potwierdził Ramadan, Asker i Tadros [2012] w teście z rodnikiem DPPH rozpuszczonym w toluenie.

Na podstawie wyników oceny aktywności przeciwutleniającej wytypowano do dalszych badań oleje z wiesiołka i czarnuszki siewnej jako dodatek mogący przedłużyć trwałość oleju lnianego tłoczonego na zimno.

Ocena aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z wytłoków nasion roślin oleistych

Uzyskane etanolowe ekstrakty z odolejonych wytłoków nasion lnu, wiesiołka oraz czarnuszki siewnej (zgodnie z procedurą opisaną w rozdziale 6.1.3) poddano badaniom mającym na celu oznaczenie zawartości związków fenolowych oraz określenie ich pojemności antyoksydacyjnej. Zawartość związków fenolowych ogółem w uzyskanych ekstraktach oznaczono metodą spektrofotometryczną, a wyniki zaprezentowano na wykresie 31.

Wykres 31. Zawartość związków fenolowych w ekstraktach z wytlóków nasion roślin oleistych



*średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)

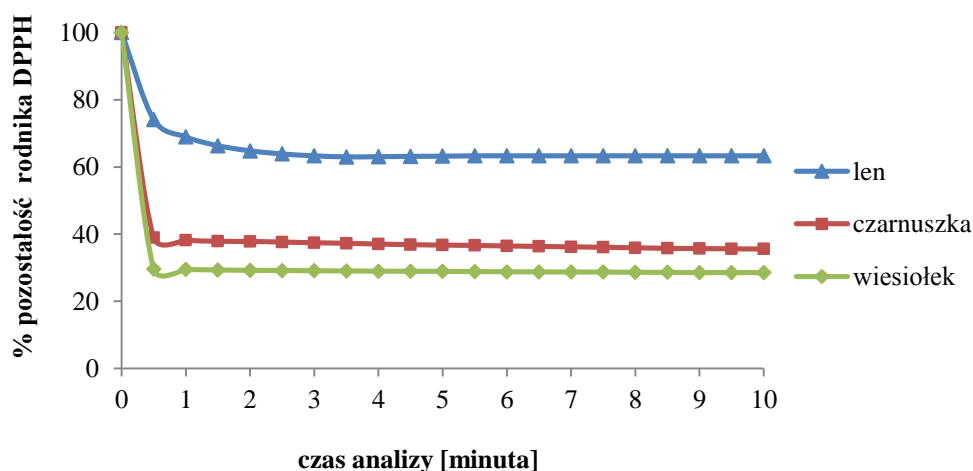
Na podstawie przeprowadzonej jednoczynnikowej analizy wariancji stwierdzono występowanie statystycznie istotnych różnic ($p < 0,05$) w obrębie zawartości związków fenolowych w ekstraktach. Największą ilość związków fenolowych, w przeliczeniu na kwas galusowy, zawierał ekstrakt z wytlóków nasion wiesiołka (444,2 mg GAE/g s.m. ekstraktu). Ponad 10-krotnie niższą zawartość wykazały ekstrakty z wytlóków nasion lnu oraz czarnuszki siewnej (odpowiednio 34,8 oraz 39,5 mg GAE/g s.m. ekstraktu).

Równie wysoką zawartość związków fenolowych w wytlókach nasion wiesiołka wykazali w swoich badaniach Peschel i in. [2007]. W ekstraktach przygotowanych przy użyciu 75%-ego etanolu zawartość kształtowała się na poziomie 520-659 mg kwasu galusowego/g s.m. ekstraktu, przy czym zawartość związków fenolowych w etanolowych ekstraktach z innych surowców była znacznie niższa; z sezamu - 27 mg, czarnej porzeczki - 97 mg, łopianu - 243 mg GAE/g s.m. ekstraktu. Wysoką zawartość związków fenolowych oraz wysoką aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z wytlóków nasion wiesiołka potwierdzili Shahihdi i in. [1997] oraz Nogala-Kałużka i in. [2010]. W wytlókach z nasion wiesiołka zidentyfikowano substancje o właściwościach przeciwutleniających, m.in. izoflawony, proantocyjanidyny oraz pochodne kwasu galusowego [Shahidi i in. 1997].

Z kolei Anwar i Przybylski [2012] oznaczali zawartość związków fenolowych w różnych ekstraktach z wytlóków lnianych. Najwyższą ilość otrzymali w przypadku ekstraktu przygotowanego przy użyciu 80%-ego etanolu ($32,6 \pm 1,1$ mg kwasu galusowego/g s.m. ekstraktu), co stanowi wynik porównywalny do otrzymanego w przeprowadzonych badaniach.

Aktywność przeciwrodnikową otrzymanych ekstraktów z wytlóków nasion roślin oleistych oceniono w teście z rodnikiem DPPH, w którym śledzono spadek absorbancji etanolowego roztworu DPPH, zachodzący w wyniku wygaszania rodnika przez aktywne składniki ekstraktu. Przebieg spadku absorbancji w układach z dodatkiem badanych ekstraktów z wytlóków nasion zilustrowano na wykresie 32. Siła spadku absorbancji zależała od ilości wygaszonego rodnika DPPH, na którą z kolei wpływał rodzaj zastosowanego ekstraktu.

Wykres 32. Wygaszanie rodnika DPPH przez ekstrakty z wytlóków nasion roślin oleistych



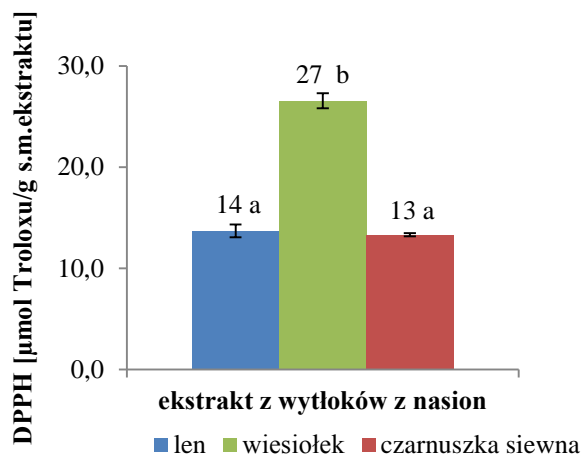
Test z zastosowaniem rodnika DPPH wykazał, że najsilniejszymi właściwościami przeciwrodnikowymi charakteryzował się etanolowy ekstrakt z wytloku nasion wiesiołka, który zredukował 71,4% rodnika DPPH po 10 min inkubacji. Nieco niższe właściwości stwierdzono w przypadku ekstraktu z wytloku nasion czarnuszki siewnej (64,6% redukcji rodnika) a o blisko połowę mniejsze wygaszenie (36,7%) zaobserwowano w przypadku ekstraktu z wytlóków lnianych.

Biorąc pod uwagę zawartość suchej masy w ekstrakcie wyrażono aktywność przeciwrodnikową ekstraktów w $\mu\text{mol Trolox}$ na 1 gram suchej masy ekstraktu. Zdolność ekstraktów z wytlóków nasion lnu i czarnuszki siewnej do wygaszania rodnika DPPH stanowiły połowę aktywności ekstraktu z odtłuszczonych nasion wiesiołka w tym zakresie (wykres 33).

Wysokie właściwości antyrodnikowe ekstraktów z pozostałości po wytlóczeniu oleju z nasion wiesiołka potwierdził Peschel i in. [2007] porównując otrzymane wartości z oznaczonymi dla komercyjnie dostępnych ekstraktów z zielonej herbaty oraz z winogron. W badaniach prowadzonych przez Nogalę-Kałużką i in. [2010] oznaczono aktywność

przeciwrodnikową metanolowego ekstraktu z odolejonych nasion wiesiołka na poziomie istotnie wyższym niż ekstraktów z odolejonych nasion czarnuszki siewnej, a także nasion ogórecznika, szafranu, rokitnika, pigwy, róży.

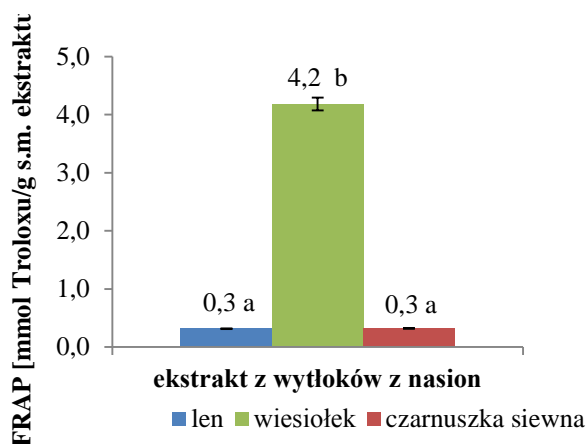
Wykres 33. Aktywność przeciwrodnikowa ekstraktów z wycieków nasion roślin oleistych po 10 minutach inkubacji próbki z rodnikiem



*średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)

Badane ekstrakty z wycieków charakteryzowały się zróżnicowaną siłą redukującą zmierzoną w teście FRAP (wykres 34). Zdecydowanie największą zdolność redukcji jonów Fe^{3+} wykazał ekstrakt z wycieków nasion wiesiołka (4,2 mmol Troloxu/g s.m. ekstraktu). W przypadku pozostałych dwóch ekstraktów stwierdzono siłę redukującą na blisko 13-krotnie niższym poziomie (0,3 mmol Troloxu/g s.m. ekstraktu). Zdolność redukcji jonów metali jest jednym z mechanizmów działania przeciwutleniaczy, typowym głównie dla przeciwutleniaczy wtórnych [Frankel 2005].

Wykres 34. Siła redukująca ekstraktów z wycieków nasion roślin oleistych (test FRAP)



*średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$)

Względnie wysoką aktywność przeciwutleniającą mierzoną testem z rodnikiem ABTS i siłą redukującą FRAP oraz słabe zdolności do chelatowania jonów Fe^{2+} ekstraktów z nasion lnu z polskich odmian: Szafir, Oliwin i Jantarol wykazały w swoich badaniach Waszkowiak, Gliszczyńska-Świgło i Skęty [2012]. Właściwości przeciwutleniające ekstraktów były silnie skorelowane z odmianą lnu (najwyższe właściwości posiadał ekstrakt z brązowych nasion - odmiana Szafir) oraz rozpuszczalnikiem użytym do ekstrakcji (zaobserwowano 10-krotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą przy zastosowaniu alkoholu etylowego w porównaniu z wodą), co z kolei było związane z zawartością związków fenolowych w poszczególnych ekstraktach.

W przeprowadzonych w niniejszej pracy badaniach stwierdzono dodatnią korelację między aktywnością przeciwutleniającą ekstraktów z wycisków nasion roślin oleistych wyrażoną procentem wygaszonego rodnika DPPH i siłą redukującą FRAP a zawartością związków fenolowych ogółem. Zależność ta może świadczyć o wpływie związków fenolowych na właściwości przeciwutleniające ekstraktów. Kluczową rolę odgrywa skład ilościowo-jakościowy związków o właściwościach przeciwutleniających oraz interakcje oparte na działaniu synergistycznym lub antagonistycznym.

Ocena aktywności przeciwutleniającej ekstraktu z rozmarynu

Biorąc pod uwagę właściwości ekstraktu z rozmarynu wykorzystywanego w badaniach (ekstrakt rozpuszczalny w tłuszczach), ocenę aktywności przeciwutleniającej przeprowadzono zgodnie z metodyką zastosowaną do oceny aktywności przeciwutleniającej frakcji apolarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno. Wykonano test z rodnikiem DPPH (rozpuszczonym w octanie etylu) oraz pomiar fotochemiluminescencji.

Tabela 35. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktu z rozmarynu [mmol Trolox/L ekstraktu]

| metoda | ekstrakt z rozmarynu |
|---------------|-----------------------------|
| DPPH | 138,7 ± 5,7 |
| PCL | 542,2 ± 19,9 |

Na podstawie przeprowadzonych testów możemy wnioskować o bardzo wysokiej aktywności przeciwutleniającej ekstraktu z rozmarynu (tabela 35). Aktywność przeciwrodnikowa po 10 minutach inkubacji próbki z rodnikiem wynosiła 138,7 mmol Troloxu na litr ekstraktu, natomiast pojemność przeciwutleniająca mierzona metodą fotochemiluminescencji osiągnęła poziom 542,2 mmol Troloxu na litr ekstraktu. Wysokie

właściwości antyoksydacyjne ekstraktu z rozmarynu zostały szeroko omówione w literaturze [Samotyja i Urbanowicz 2005; Erkan, Ayranci i Ayranci 2008; Terpinic, Bezjak i Abramovic 2009]. Niejednokrotnie wykazano, że dodatek niewielkich ilości ekstraktu z rozmarynu istotnie zwiększa szybkość procesu wygaszania rodnika DPPH w układach modelowych [Woźniak i in. 2009]. Ponadto dodatek ekstraktu z rozmarynu istotnie ograniczył proces utleniania stigmasterolu w triacyloglicerolach oleju słonecznikowego [Rudzińska i in. 2004] oraz powstawania produktów oksydacji fitosteroli w oleju rzepakowym podczas ogrzewania [Kmieciak i in. 2009].

7.2.2. Ocena stabilności oksydatywnej mieszanek olejowych

W celu przedłużenia stabilności oksydatywnej oleju lnianego i poprawy cech organoleptycznych sporządzono mieszanki oleju lnianego z dodatkiem olejów o potwierdzonej we wcześniejszych badaniach wysokiej aktywności przeciwutleniającej (olej z wiesiołka oraz z czarnuszki siewnej tłoczone na zimno). Badania prezentowane w literaturze [Ramadan i Wahdan 2012; Ramadan 2013] wskazują, że mieszanki z olejem z czarnuszki siewnej znacząco poprawiły stabilność oksydacyjną oleju kukurydzianego i oleju słonecznikowego. Jednakże dotychczas nie opisano badań wykorzystujących dodatek oleju z czarnuszki siewnej do oleju lnianego.

Przygotowano 6 modelowych mieszanek olejowych w proporcjach:

- olej lniany 90% : olej z wiesiołka 10% (L90:W10),
- olej lniany 70% : olej z wiesiołka 30% (L70:W30),
- olej lniany 50% : olej z wiesiołka 50% (L50:W50),
- olej lniany 70% : olej z wiesiołka 29%: olej z czarnuszki siewnej 1% (L70:W29:CZ1),
- olej lniany 70% : olej z wiesiołka 28%: olej z czarnuszki siewnej 2% (L70:W28:CZ2),
- olej lniany 70% : olej z wiesiołka 25%: olej z czarnuszki siewnej 5% (L70:W25:CZ5).

Skład mieszanek został ustalony eksperymentalnie, biorąc pod uwagę, oprócz danych literaturowych, cechy organoleptyczne poszczególnych olejów.

Mieszanki olejowe charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością poszczególnych kwasów tłuszczowych, co uwarunkowane było składem kompozycji (tabela 36). Spośród nich największą zawartością kwasu oleinowego (17,2%) i α -linolenowego (48,6%) wykazała się mieszanka L90:W10. Z kolei największą procentową zawartość kwasu linolowego (47,3%) i γ -linolenowego (4,8%) stwierdzono w mieszance L50:W50. Kwas γ -linolenowego (18:3 n-6) oznaczono w oleju z wiesiołka i mieszankach oleju lnianego z olejem z wiesiołka.

W oleju z wiesiołka stanowił on 9,6% całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych, a w mieszankach proporcjonalnie do udziału tego oleju w kompozycji.

Tabela 36. Skład kwasów tłuszczowych badanych olejów i eksperymentalnych mieszanek olejowych [%]

| próbka | C16:0 | C18:0 | C18:1 | C18:2 (n-6) | C18:3 (n-3) | C18:3 (n-6) | C20:0 | C20:1 | Σ NKT | Σ JNKT | Σ WNKT | n- 6/n-3 |
|-------------|-------|-------|-------|----------------|----------------|----------------|-------|-------|----------|-----------|-----------|-------------|
| L | 6,1 | 3,6 | 18,5 | 17,6 | 54,0 | n.w. | 0,1 | 0,1 | 9,8 | 18,6 | 71,6 | 0,3 |
| W | 5,9 | 1,6 | 5,5 | 76,9 | 0,2 | 9,6 | 0,2 | 0,1 | 7,7 | 5,6 | 86,7 | 432,7 |
| CZ | 12,8 | 2,5 | 19,0 | 64,8 | 0,4 | n.w. | 0,2 | 0,3 | 15,5 | 19,3 | 65,3 | 159,0 |
| L90:W10 | 6,1 | 3,4 | 17,2 | 23,5 | 48,6 | 1,0 | 0,1 | 0,1 | 9,6 | 17,3 | 73,1 | 0,5 |
| L70:W30 | 6,1 | 3,0 | 14,6 | 35,4 | 37,9 | 2,9 | 0,1 | 0,1 | 9,2 | 14,7 | 76,1 | 1,0 |
| L50:W50 | 6,0 | 2,6 | 12,0 | 47,3 | 27,1 | 4,8 | 0,2 | 0,1 | 8,8 | 12,1 | 79,2 | 1,9 |
| L70:W29:CZ1 | 6,1 | 3,0 | 14,7 | 35,3 | 37,9 | 2,8 | 0,1 | 0,1 | 9,3 | 14,8 | 75,9 | 1,0 |
| L70:W28:CZ2 | 6,2 | 3,0 | 14,9 | 35,2 | 37,9 | 2,7 | 0,1 | 0,1 | 9,3 | 15,0 | 75,7 | 1,0 |
| L70:W25:CZ5 | 6,4 | 3,0 | 15,3 | 34,8 | 37,9 | 2,4 | 0,1 | 0,1 | 9,6 | 15,4 | 75,1 | 1,0 |

n.w. - nie wykryto; <0,1%; dane stanowią wartość średnią z 3 oznaczeń

Σ NKT– suma nasyconych kwasów tłuszczowych

Σ JNKT– suma jednonienasyconych kwasów tłuszczowych

Σ WNKT– suma wielonienasyconych kwasów tłuszczowych

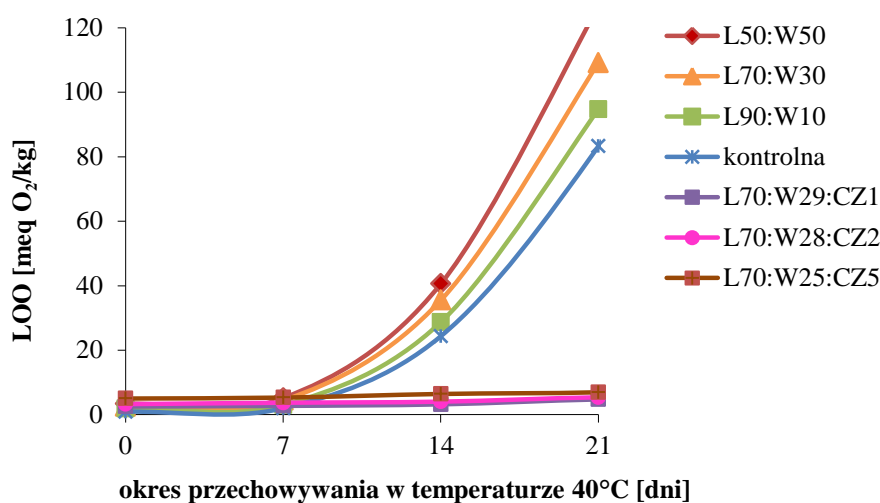
W celu określenia wpływu dodatku oleju z wiesiołka oraz czarnuszki siewnej na trwałość oleju lnianego sporządzone mieszanki olejowe poddano testom przyspieszonego starzenia w temperaturze 40°C. O zasięgu pierwotnych zmian oksydacyjnych wnioskowano na podstawie liczby nadtlenkowej, natomiast o wtórnych produktach utleniania na podstawie liczby anizydynowej. Wyznaczono także ogólny stopień utlenienia po 21 dniach inkubacji w 40°C prób oleju lnianego z przeciwutleniaczami na podstawie wskaźnika TOTOX. Otrzymane wyniki zaprezentowano w tabeli 37 oraz na wykresach 35-38.

Dodatek oleju z wiesiołka do oleju lnianego spowodował znaczący wzrost zawartości nadtlenczków w stosunku do próby kontrolnej w całym okresie przechowywania, co przekłada się na spadek stabilności oksydatywnej oleju lnianego. Stwierdzono pozytywną korelację między zawartością oleju z wiesiołka w mieszaninie a zawartością nadtlenczków w mieszance (wykres 35).

Tabela 37. Zmiany oksydacyjne oleju lnianego oraz mieszanek oleju lnianego z olejem z wiesiolka oraz olejem z czarnuszki siewnej podczas przechowywania w temperaturze 40°C [średnia ± odchylenie standardowe]

| Wyróżnik | Czas [dni] | kontrolna | olej lniany 90%: olej z wiesiolka 10% | olej lniany 70%: olej z wiesiolka 30% | olej lniany 50%: olej z wiesiolka 50% | olej lniany 70%: olej z wiesiolka 29%: olej z czarnuszki siewnej 1% | olej lniany 70%: olej z wiesiolka 28%: olej z czarnuszki siewnej 2% | olej lniany 70%: olej z wiesiolka 25%: olej z czarnuszki siewnej 5% |
|---------------------------------|------------|--------------|--|--|--|--|--|--|
| | | | L90:W10 | L70:W30 | L50:W50 | L70:W29:CZ1 | L70:W28:CZ2 | L70:W25:CZ5 |
| LOO [meq O ₂ /kg] | 0 | 0,93 ± 0,01 | 1,90 ± 0,01 | 2,55 ± 0,01 | 3,36 ± 0,01 | 2,55 ± 0,03 | 3,29 ± 0,02 | 5,02 ± 0,03 |
| | 7 | 2,01 ± 0,01 | 3,02 ± 0,47 | 4,45 ± 0,04 | 5,17 ± 0,23 | 2,74 ± 0,18 | 3,72 ± 0,20 | 5,31 ± 0,07 |
| | 14 | 24,34 ± 0,16 | 28,70 ± 2,35 | 35,50 ± 0,85 | 40,58 ± 1,69 | 3,21 ± 0,33 | 4,05 ± 0,10 | 6,44 ± 0,15 |
| | 21 | 83,27 ± 0,53 | 94,71 ± 0,06 | 109,15 ± 1,13 | 126,74 ± 1,83 | 3,74 ± 0,10 | 4,41 ± 0,10 | 6,96 ± 0,29 |
| LA | 0 | 0,24 ± 0,00 | 0,23 ± 0,00 | 0,21 ± 0,00 | 0,20 ± 0,00 | 0,66 ± 0,02 | 0,60 ± 0,04 | 0,80 ± 0,03 |
| | 7 | 1,12 ± 0,01 | 1,29 ± 0,11 | 2,83 ± 0,19 | 2,79 ± 0,17 | 0,68 ± 0,00 | 0,60 ± 0,04 | 0,90 ± 0,02 |
| | 14 | 5,51 ± 0,25 | 9,70 ± 0,00 | 10,84 ± 0,38 | 10,70 ± 0,09 | 0,70 ± 0,00 | 0,70 ± 0,03 | 1,00 ± 0,04 |
| | 21 | 15,11 ± 0,57 | 14,83 ± 0,05 | 16,55 ± 0,13 | 15,18 ± 0,18 | 0,80 ± 0,18 | 0,80 ± 0,04 | 1,20 ± 0,43 |
| TOTOX | 0 | 2,10 | 4,03 | 5,31 | 6,92 | 5,75 | 7,17 | 10,84 |
| | 7 | 5,15 | 7,33 | 11,73 | 13,14 | 6,15 | 8,04 | 11,53 |
| | 14 | 54,19 | 67,10 | 81,84 | 91,87 | 7,13 | 8,80 | 13,87 |
| | 21 | 181,64 | 204,26 | 234,85 | 268,66 | 8,29 | 9,61 | 15,11 |

Wykres 35. Wpływ dodatku oleju z wiesiołka i czarnuszki siewnej na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia

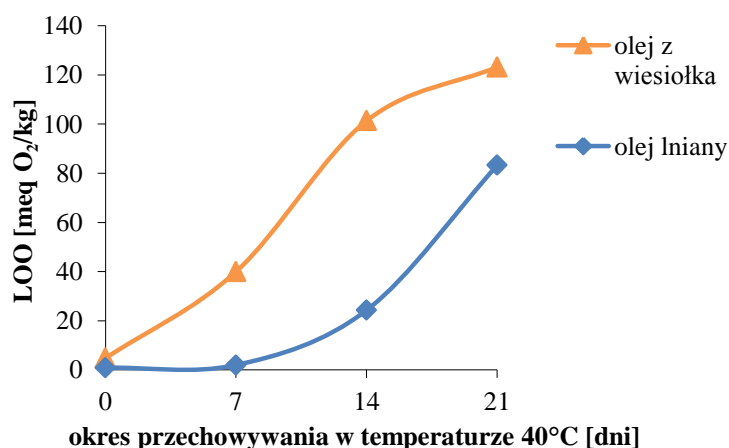


*oznaczenia jak w tabeli 37

Prześlędzono również zmiany oksydacyjne oleju z wiesiołka w porównaniu ze zmianami w oleju lnianym w temperaturze 40°C (wykres 36). Badania wykazały bardzo wysoką zawartość nadtlenków podczas inkubacji, co zgodne jest z wynikami badań prowadzonych przez Khan i Shahidi [2000].

Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu stwierdzono proutleniający efekt dodatku oleju z wiesiołka do oleju lnianego. Ponadto, oznaczona rzeczywista zawartość nadtlenków mieszanek w poszczególnych punktach pomiarowych była wyższa niż potencjalna zawartość, wyliczona matematycznie na podstawie oznaczonej zawartości nadtlenków w oleju z wiesiołka i oleju lnianym.

Wykres 36. Zawartość pierwotnych produktów utleniania w oleju z wiesiołka i oleju lnianym przechowywanych w warunkach przyspieszonego starzenia

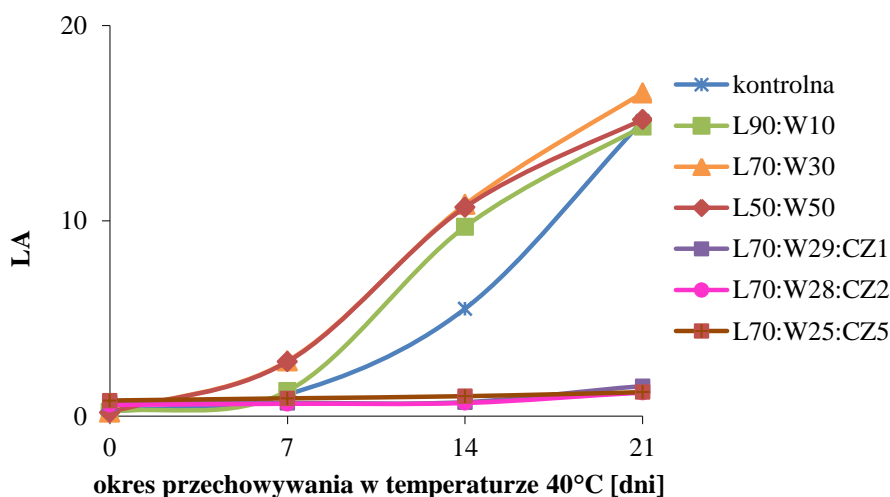


Z kolei, dodatek oleju z wiesiołka i czarnuszki siewnej do oleju lnianego spowodował istotny spadek zawartości nadtlenków w stosunku do próby kontrolnej w całym okresie przechowywania, co oznacza podwyższenie stabilności oksydatywnej oleju lnianego (wykres 35). Zawartość nadtlenków mieszanek kształtowała się na niskim poziomie nie przekraczającym 7 meq O₂/kg oleju przez 21 dni przechowywania. Dalsza inkubacja (wyniki nie prezentowane) doprowadziła do przekroczenia wartości LOO 10 meq O₂/kg oleju przez próbkę L70:W29:CZ1 dopiero po 44 dniach.

Po 21 dniach prowadzenia badań zawartość nadtlenków w badanych mieszankach wzrosła w stosunku do początkowej zawartości o 86%, 64% i 39%, odpowiednio dla L70:W29:CZ1, L70:W28:CZ2, L70:W25:CZ5. Oznacza to, że mieszanka z 5% dodatkiem oleju z czarnuszki siewnej oznaczała się najwyższą stabilnością oksydacyjną, a mieszanka z dodatkiem 1% oleju z czarnuszki siewnej najniższą spośród badanych mieszanek. Również w badaniach prowadzonych przez Ramadan i współautorów [Ramadan i Wahdan 2012; Ramadan 2013] stwierdzono, że im wyższy dodatek oleju z czarnuszki siewnej, tym oznaczona zawartość nadtlenków jest niższa.

Monitorowano zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych mieszanek olejowych (wykres 37).

Wykres 37. Wpływ dodatku oleju z wiesiołka i czarnuszki siewnej na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia



*oznaczenia jak w tabeli 37

W przypadku mieszanek oleju lnianego z olejem z wiesiołka zaobserwowano stały intensywny wzrost wtórnych produktów utleniania. Po 21 dniach przechowywania wartość

liczby anizydynowej wszystkich 3 mieszanek oraz próbki kontrolnej wyniosła od 14,8 do 16,6 przy czym wartości dla poszczególnych próbek nie różniły się statystycznie istotnie (tabela 37). W przypadku mieszanki L70:W30 oraz L50:W50 proces dekompozycji zachodził intensywnie od samego początku inkubacji. Z kolei w mieszance L90:W10 początkowo był on zbliżony do przebiegu zmian w próbce kontrolnej, a intensywny rozpad nadtlenców nastąpił po 7 dniach przechowywania. Dodatek oleju z wiesiołka do oleju lnianego nie wykazał efektu ochronnego wobec tworzenia się wtórnych produktów utleniania.

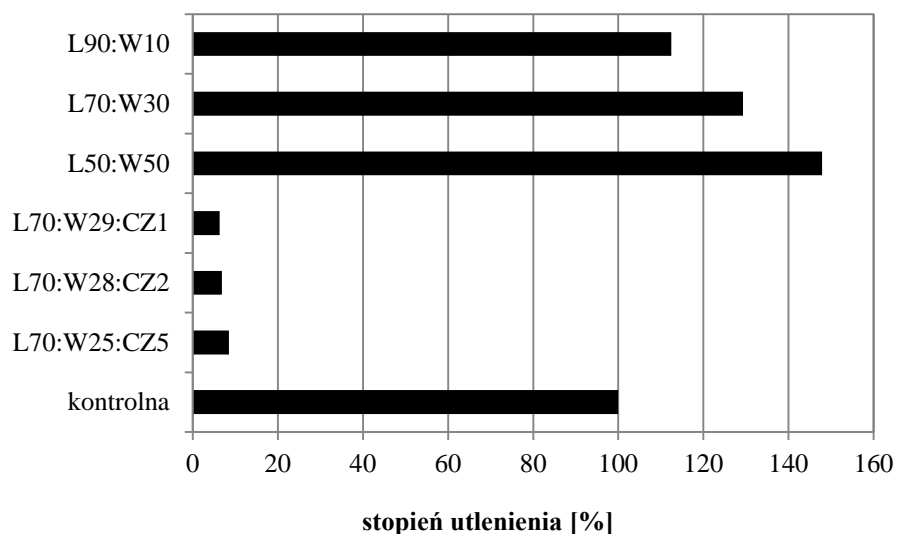
W mieszankach z dodatkiem oleju z wiesiołka i czarnuszki siewnej zanotowano brak istotnych statystycznie zmian w zawartości związków karbonylowych podczas 21 dni inkubacji w temperaturze 40°C. Jednocześnie w próbce kontrolnej, bez dodatku innych oleju, zawartość wtórnych produktów utleniania stale wzrastała i na koniec okresu osiągnęła poziom 15,1. Trójskładnikowe mieszanki (L:W:CZ) wykazały bardzo silne właściwości przeciwutleniające i skutecznie inhibitowały proces dekompozycji pierwotnych produktów utleniania.

Jednocześnie przeprowadzono ocenę zmian liczby anizydynowej oleju lnianego z 5% dodatkiem oleju z czarnuszki siewnej (wyniki nie prezentowane). Podobnie jak w przypadku wyżej opisanych mieszanek, zawartość wtórnych związków utleniania kształtowała się na niezmiennym poziomie przez cały okres trwania eksperymentu. Wyniki badania pozwalają wnioskować, że olej z czarnuszki siewnej jest czynnikiem stabilizującym powstawanie związków karbonylowych w przygotowanych mieszankach olejowych.

Otrzymane wyniki są zgodne z rezultatami prezentowanymi przez Ramadan i Mörsel [2004], którzy zaobserwowali nieznaczny wzrost liczby anizydynowej w oleju z czarnuszki siewnej podczas inkubacji w 60°C przez 21 dni. Autorzy sugerowali, że wysoka zawartość wolnych kwasów tłuszczowych stwierdzona w oleju z czarnuszki siewnej [Ramadan i Morsel 2002], może spowalniać proces tworzenia się wtórnych produktów utleniania.

W celu bezpośredniego porównania zawartości produktów oksydacji mieszanek olejowych względem oleju lnianego bez dodatków wyznaczono stopień utleniania próbek po 21 dniach inkubacji w temperaturze 40°C na podstawie wskaźnika TOTOX (wykres 38).

Wykres 38. Stopień utlenienia próbek oleju lnianego po 21 dniach inkubacji w temperaturze 40°C z dodatkiem oleju z wiesiołka oraz oleju z czarnuszki siewnej, obliczony na podstawie wartości TOTOX [%]



*oznaczenia jak w tabeli 37

Powyższy wykres jednoznacznie wskazuje, iż mieszanki oleju lnianego i oleju z wiesiołka charakteryzują się niższą stabilnością oksydacyjną niż olej lniany. Z kolei, dodatek oleju z czarnuszki siewnej w ilości 1-5% do oleju lnianego znacznie ograniczył zasięg zmian oksydacyjnych oleju. Wyższa stabilność oksydacyjna trójskładnikowych mieszanek w stosunku do oleju lnianego może być spowodowana obecnością w oleju z czarnuszki siewnej związków o działaniu przeciwutleniającym t.j. steroli, tokotrienoli (głównie α i β) oraz związków fenolowych [Ramadan 2013]. Nie stwierdzono korelacji między składem kwasów tłuszczowych mieszanek (sumą kwasów tłuszczowych nasyconych, jedno- i wielonienasyconych) a stopniem utlenienia próbek po 21 dniach inkubacji w 40°C.

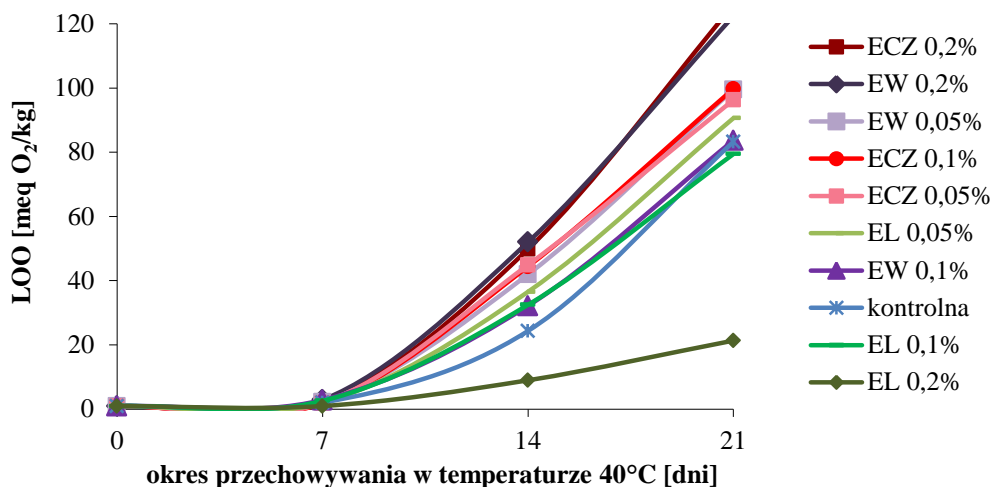
7.2.3. Ocena wpływu dodatku ekstraktu z wytlóków nasion roślin oleistych na stabilność oksydacyjną oleju lnianego

Próbki oleju lnianego z dodatkami ekstraktów z wytlóków nasion lnu, wiesiołka i czarnuszki siewnej w ilości 0,05%, 0,1% oraz 0,2% suchej masy ekstraktu w stosunku do masy oleju poddano testom przyspieszonego starzenia w temperaturze 40°C. W tabeli 38 oraz na wykresach 39-41 przedstawiono otrzymane wartości.

Tabela 38. Zmiany oksydacyjne oleju lnianego z dodatkiem ekstraktów z wytlóków nasion lnu, wiesiolka oraz czarnuszki siewnej podczas przechowywania w temperaturze 40°C [średnia ± odchylenie standardowe]

| Wyróżnik | Czas [dni] | +ekstrakt z wytlóków nasion lnu (EL) | | | +ekstrakt z wytlóków nasion wiesiolka (EW) | | | +ekstrakt z wytlóków nasion czarnuszki siewnej (ECZ) | | | |
|--|------------|--------------------------------------|--------------|--------------|--|--------------|--------------|--|--------------|--------------|---------------|
| | | kontrolna | 0,05% | 0,1% | 0,2% | 0,05% | 0,1% | 0,2% | 0,05% | 0,1% | 0,2% |
| LOO [meq O ₂ /kg oleju] | 0 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,04 |
| | 7 | 2,01 ± 0,01 | 2,03 ± 0,06 | 2,56 ± 0,00 | 0,95 ± 0,02 | 2,21 ± 0,14 | 2,83 ± 0,91 | 2,86 ± 0,25 | 1,89 ± 0,02 | 1,72 ± 0,02 | 2,28 ± 0,01 |
| | 14 | 24,34 ± 0,86 | 36,54 ± 0,11 | 32,48 ± 0,31 | 8,97 ± 0,01 | 41,97 ± 0,02 | 32,17 ± 1,50 | 52,02 ± 0,00 | 44,90 ± 0,08 | 44,42 ± 1,14 | 49,84 ± 0,10 |
| | 21 | 83,27 ± 6,28 | 90,64 ± 0,01 | 79,45 ± 0,09 | 21,34 ± 0,05 | 99,49 ± 3,92 | 83,70 ± 1,59 | 122,40 ± 0,29 | 96,32 ± 0,04 | 99,77 ± 2,78 | 125,86 ± 0,06 |
| LA | 0 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 |
| | 7 | 1,12 ± 0,01 | 0,71 ± 0,01 | 0,73 ± 0,03 | 0,80 ± 0,04 | 0,81 ± 0,06 | 0,73 ± 0,04 | 2,48 ± 0,04 | 0,73 ± 0,02 | 0,73 ± 0,06 | 1,47 ± 0,06 |
| | 14 | 5,51 ± 0,25 | 6,30 ± 0,04 | 4,17 ± 0,02 | 1,37 ± 0,04 | 6,60 ± 0,04 | 4,37 ± 0,04 | 8,09 ± 0,00 | 6,90 ± 0,03 | 7,10 ± 0,13 | 6,53 ± 0,04 |
| | 21 | 15,11 ± 0,57 | 17,71 ± 0,03 | 13,21 ± 0,01 | 2,53 ± 0,01 | 18,71 ± 0,11 | 10,21 ± 0,02 | 23,54 ± 0,13 | 18,84 ± 0,18 | 18,78 ± 0,32 | 27,22 ± 0,60 |
| TOTOX | 0 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 |
| | 7 | 5,15 | 4,77 | 5,85 | 2,70 | 5,23 | 6,39 | 8,20 | 4,50 | 4,16 | 6,03 |
| | 14 | 54,19 | 79,38 | 69,13 | 19,31 | 90,54 | 68,70 | 112,14 | 96,71 | 95,94 | 106,22 |
| | 21 | 181,64 | 198,99 | 172,11 | 45,21 | 217,68 | 177,61 | 268,34 | 211,48 | 218,32 | 278,95 |

Wykres 39. Wpływ dodatku ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia



*oznaczenia jak w tabeli 38

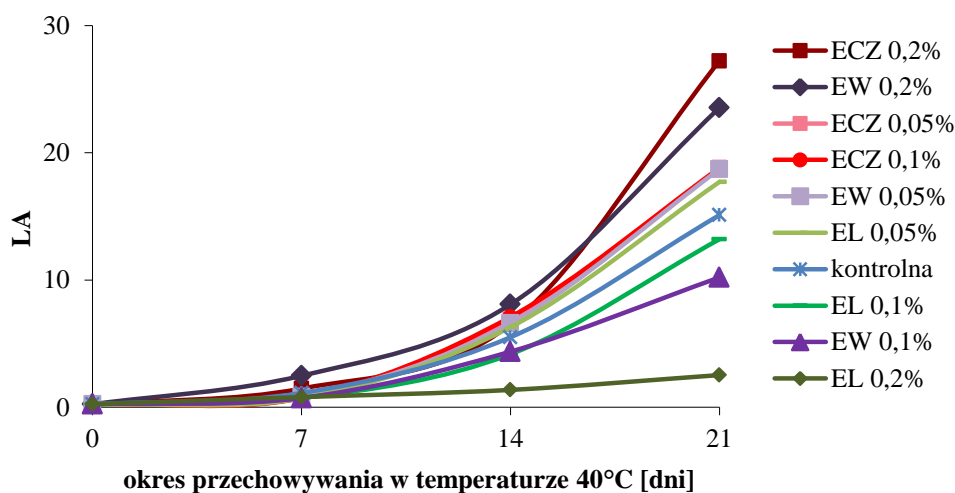
Spośród zastosowanych ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych jedynie ekstrakt z wyłoków z nasion lnu w ilości 0,2% hamował powstawanie nadtlenczków w stosunku do próby kontrolnej w całym okresie przechowywania (wykres 39). Ekstrakt z wyłoków lnianych zastosowany w ilości 0,1% wykazał nieznaczny efekt ochronny jedynie w końcowej fazie eksperymentu. Pozostałe ekstrakty wykazały prooksydacyjny charakter. Najbardziej proutleniające działanie zanotowano w próbach z najwyższym stężeniem ekstraktu z wyłoków nasion wiesiołka i czarnuszki siewnej (0,2%), które we wcześniejszych badaniach (rozdział 7.2.1) wykazały silne właściwości przeciwutleniające.

Podobne wyniki otrzymali Peschel i współautorzy [2007], którzy wykazali wysokie właściwości przeciwutleniające ekstraktu z wyłoków nasion wiesiołka testem z rodnikiem DPPH oraz wysoką zawartość związków fenolowych, natomiast w teście Rancimat stwierdzili działanie prooksydacyjne ekstraktu. Przyczyną mogła być nietrwałość związków o właściwościach przeciwutleniających zawartych w ekstrakcie z wyłoków nasion wiesiołka w warunkach podwyższonej temperatury.

Oznaczone zawartości wtórnych produktów utleniania w próbkach oleju lnianego z dodatkiem ekstraktów z wyłoków nasion roślin oleistych przedstawiono na wykresie 40. Aktywność przeciwutleniającą w zakresie hamowania powstawania związków karbonylowych wykazał ekstrakt z wyłoku lnianego dodany w ilości 0,1% oraz 0,2% oraz ekstrakt z wyłoku z nasion wiesiołka zastosowany w ilości 0,1% w stosunku do masy oleju. Najsilniejsze działanie proutleniające wykazał, tak jak w przypadku powstawania nadtlenczków, ekstrakt z wyłoków nasion wiesiołka i czarnuszki siewnej zastosowany w ilości 0,2%.

Prooksydacyjne działanie ekstraktów może być także spowodowane przekroczeniem optymalnego stężenia przeciwutleniaczy w układzie. Liczne prace naukowe dowodzą bowiem, iż przeciwutleniacze są skuteczne jedynie w określonym, charakterystycznym dla siebie zakresie stężeń [Evans, Kodali i Addis 2002].

Wykres 40. Wpływ dodatku ekstraktów z wytlóków nasion roślin oleistych na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia



*oznaczenia jak w tabeli 38

Co więcej, istotny wpływ na wynik badania może mieć temperatura prowadzenia eksperymentu. W badaniach de Leonardis, Macciola i di Rocco [2003] olej słonecznikowy tłoczony na zimno stabilizowano związkami fenolowymi wyekstrahowanymi z nasion słonecznika. W temperaturze 110°C efekt ochronny dodatku ekstraktów oceniano na poziomie 41% i 118% w stosunku do próby kontrolnej, przy czym efektywność dodatku BHA wyniosła jedynie 38%. Z kolei badanie przeprowadzone w temperaturze 30°C wykazało istotnie niższy współczynnik efektywności ochronnej obydwu ekstraktów związków fenolowych (11 i 15%) oraz BHA (1%).

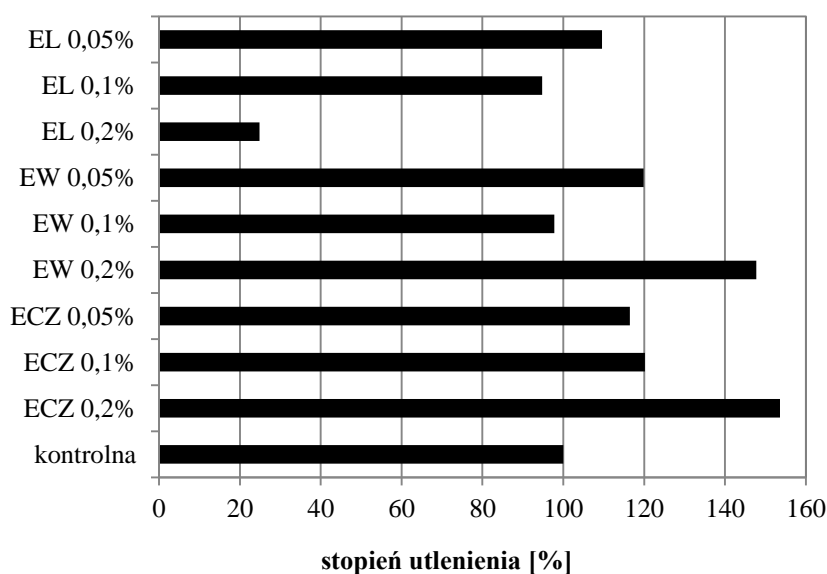
Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że aktywność przeciwutleniająca poszczególnych ekstraktów z wytlóków nasion roślin oleistych jest zbliżona w odniesieniu do pierwotnych i wtórnych produktów utleniania (tabela 38). 0,2%-owy dodatek ekstraktu z wytloku lnianego był efektywny w hamowaniu zarówno procesów utleniania, jak i rozpadu produktów oksydacji. 0,1%-owy dodatek ekstraktu z wytloku lnianego oraz 0,1%-owy dodatek ekstraktu z wytloku nasion wiesiołka był nieco bardziej skuteczny w ograniczaniu tworzenia się wtórnych związków oksydacyjnych niż pierwotnych związków. Z kolei dodatek

pozostałych ekstraktów wykazywał efekt proutleniający zarówno w stosunku do powstawania nadtlenków, jak i związków karbonylowych.

W badaniach prowadzonych przez Mińkowskiego i in. [2013] dodatek do oleju lnianego preparatów związków fenolowych o charakterze hydrofobowym wyizolowanych z wyłoków lnianych powodował wydłużenie okresu indukcji wyznaczonego testem Rancimat. Jednakże efekt ochronny był stosunkowo niewielki. Ponadto, dodatek preparatów powodował wzrost zdolności wygaszania rodnika DPPH, która była istotnie zależna od zastosowanej dawki dodatku.

Biorąc pod uwagę rodzaj nasion, z którego otrzymano ekstrakt, najniższym stopniem utlenienia po 21 dniach inkubacji w temperaturze 40°C wyliczonym na podstawie parametru TOTOX charakteryzowały się próbki oleju lnianego z dodatkiem ekstraktów z wyłoków lnianych > z nasion wiesiołka > z nasion czarnuszki siewnej (wykres 41). W przypadku próbek z ekstraktem z wyłoków lnianych stwierdzono silną dodatnią korelację między zawartością ekstraktu a stabilnością oksydacyjną próbki wyrażoną jako różnica w stopniu utlenienia próby kontrolnej i próby z dodatkiem ($r=0,986$). W przypadku dodatku ekstraktu z wyłoków nasion czarnuszki siewnej korelacja była silna i ujemna ($r=-0,971$).

Wykres 41. Stopień utlenienia próbek oleju lnianego po 21 dniach inkubacji w temperaturze 40°C z dodatkiem ekstraktów z wyłoków nasion lnu, wiesiołka oraz czarnuszki siewnej, obliczony na podstawie wartości TOTOX [%]



*oznaczenia jak w tabeli 38

Wysoki efekt ochronny ekstraktu z wyłoków lnianych w stosunku do oleju lnianego może wynikać z substancji stabilizujących zawartych w nasionach lnu. W badaniach prowadzonych przez Malcolmsona, Przybylskiego i Dauna [2000; 2001] zaobserwowano, że zmielone siemię lniane nie ulega żadnym zmianom oksydacyjnym przez 20 miesięcy przechowywania w warunkach magazynowych. Podczas tłoczenia oleju znaczna część natywnych przeciwutleniaczy (głównie związków fenolowych) pozostaje w wyłoku. Usunięcie związków fenolowych eliminuje je z roli synergenta w stosunku do tokoferoli, co w efekcie obniża stabilność oleju. Dodatek ekstraktów z wyłoków nasion do oleju może zapewniać powrót do naturalnej równowagi przeciwutleniaczy, jaka jest w nieodolejonych nasionach.

7.2.4. Ocena wpływu dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na stabilność oksydacyjną oleju lnianego

W literaturze można znaleźć liczne dowody naukowe na temat przeciwutleniającego działania ekstraktu z rozmarynu (o czym wspomniano w rozdziale 3.4.1). Od połowy 2012 roku ekstrakt z rozmarynu w odpowiedniej formie może być stosowany jako dodatek do żywności w ilości 30 mg/kg tłuszczu, wyrażonej jako suma karnozolu i kwasu karnozowego [Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 r.]. W niniejszej pracy oceniono wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu (ER) w ilości 0,025%, 0,05% oraz 0,1% w stosunku do masy oleju na zasięg zmian oksydacyjnych oleju lnianego w trakcie przechowywania w warunkach przyspieszonego starzenia (40°C). Dodatek ekstraktu w ilości 0,1% przekracza maksymalną dawkę dozwoloną zgodnie z Rozporządzeniem (w przeliczeniu na zawartość substancji aktywnych), jednak zastosowano ją, by sprawdzić, jakie działanie wykaże wyższa dawka. Dla porównania aktywności przeciwutleniającej naturalnego ER w oleju lnianym wykorzystano dodatek BHT w ilości 0,02% w stosunku do masy oleju.

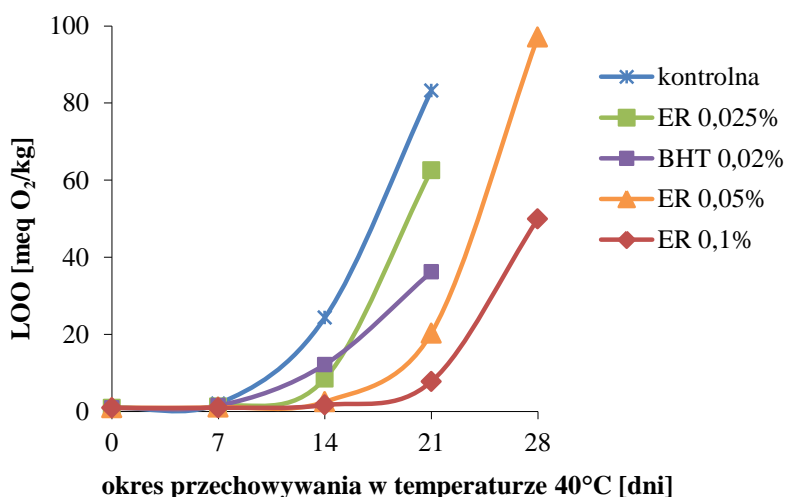
Otrzymane wyniki zaprezentowano w tabeli 39 oraz na wykresach 42-44.

Wpływ przeciwutleniaczy na intensywność tworzenia się pierwotnych produktów utleniania w próbkach oleju lnianego podczas przechowywania w temperaturze 40° C został zobrazowany na wykresie 42. Zarówno ekstrakt rozmarynu, jak i BHT zahamowały zasięg zmian oksydacyjnych oleju, a efekt ochronny uwarunkowany był rodzajem i stężeniem przeciwutleniacza. Najbardziej skutecznym w ograniczaniu tworzenia się nadtlenków był ekstrakt z rozmarynu zastosowany w ilości 0,1%.

Tabela 39. Zmiany oksydacyjne oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu oraz BHT podczas przechowywania w temperaturze 40°C [średnia ± odchylenie standardowe]

| wyróżnik | czas [dni] | kontrolna | + ekstrakt z rozmarynu (ER) | | | + BHT |
|---|------------|---------------|-----------------------------|--------------|--------------|---------------|
| | | | 0,025% | 0,05% | 0,1% | 0,02% |
| LOO [meq O ₂ / kg oleju] | 0 | 0,93 ± 0,01 | 0,93 ± 0,01 | 0,93 ± 0,01 | 0,93 ± 0,00 | 0,93 ± 0,00 |
| | 7 | 2,01 ± 0,01 | 1,30 ± 0,04 | 1,07 ± 0,00 | 0,93 ± 0,02 | 1,50 ± 0,05 |
| | 14 | 24,34 ± 0,16 | 8,53 ± 0,03 | 2,51 ± 0,05 | 1,64 ± 0,03 | 12,18 ± 0,30 |
| | 21 | 83,27 ± 0,53 | 62,58 ± 0,15 | 20,32 ± 0,05 | 7,76 ± 0,02 | 36,21 ± 0,16 |
| | 28 | 162,28 ± 0,31 | 139,10 ± 1,04 | 97,13 ± 1,11 | 49,95 ± 0,23 | 119,99 ± 2,44 |
| LA | 0 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 | 0,24 ± 0,00 |
| | 7 | 1,12 ± 0,01 | 1,69 ± 0,00 | 0,84 ± 0,10 | 0,26 ± 0,02 | 0,76 ± 0,00 |
| | 14 | 5,51 ± 0,25 | 3,18 ± 0,05 | 1,37 ± 0,08 | 1,20 ± 0,00 | 2,25 ± 0,13 |
| | 21 | 15,11 ± 0,57 | 11,05 ± 0,17 | 3,86 ± 0,55 | 2,00 ± 0,04 | 7,45 ± 0,07 |
| | 28 | 37,64 ± 1,46 | 25,19 ± 0,30 | 16,97 ± 0,13 | 6,93 ± 0,13 | 22,72 ± 0,35 |
| TOTOX | 0 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 | 2,10 |
| | 7 | 5,15 | 4,29 | 2,97 | 2,13 | 3,77 |
| | 14 | 54,19 | 20,24 | 6,39 | 4,48 | 26,61 |
| | 21 | 181,64 | 136,21 | 44,50 | 17,52 | 103,87 |
| | 28 | 362,21 | 303,39 | 211,23 | 106,83 | 262,71 |

Wykres 42. Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia



* oznaczenia jak w tabeli 39

Po 21 dniach inkubacji próbka z dodatkiem 0,1% ER wykazała nadal niską wartość LOO na poziomie 7,76 meq O₂/kg oleju, która nie przekraczała dopuszczalnego poziomu 15 meq O₂/kg ustalonego dla olejów i tłuszczów tłoczonych na zimno [Codex Standard 19-1981 2013]. Dopiero w 4 tygodniu przechowywania wzrost zawartości nadtlenuków

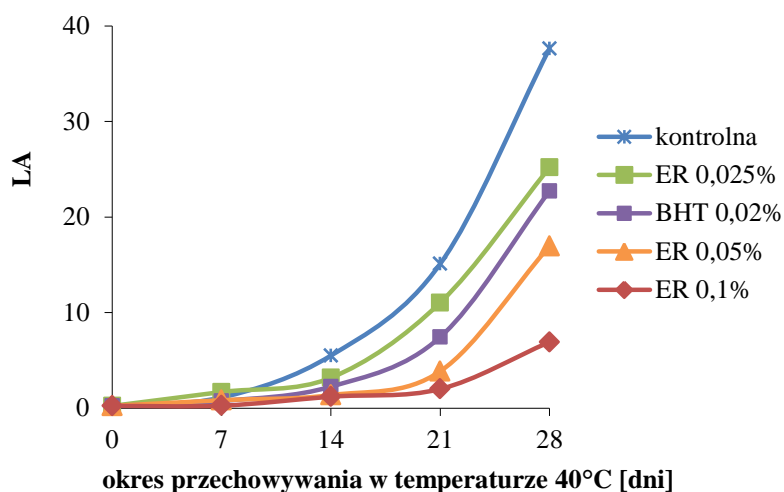
w próbce z dodatkiem ER 0,1% był znaczący i osiągnął wartość 49,95 meq O₂/kg oleju (tabela 39). Pozostałe próbki przekroczyły limit zawartości nadtlenków znacznie wcześniej. Biorąc pod uwagę zawartość pierwotnych produktów utleniania w próbach wzbogaconych ekstraktem z rozmarynu, można zauważyć zależność, że im wyższy dodatek ekstraktu, tym wartość LOO jest niższa w każdym punkcie pomiarowym oraz obserwowane jest wolniejsze tempo procesu utleniania.

Dodatek przeciwutleniacza syntetycznego BHT w celu zwiększenia trwałości oleju lnianego okazał się mniej skuteczny niż wzbogacenie próbek ekstraktem z rozmarynu. Dopiero po 14 dniach przechowywania próbka zawierająca 0,02% BHT była efektywniejsza w spowalnianiu procesu oksydacji niż próbka oleju zawierająca 0,025% ekstraktu z rozmarynu. Dodatek ER w ilości 0,05% i 0,1% był skuteczniejszy niż dodatek BHT w całym okresie przechowywania. Otrzymane wyniki są spójne z rezultatami badań przeprowadzonych przez Samotyja i Małecka [2007], w którym dodatek 0,02 i 0,07% ekstraktów z rozmarynu do rafinowanego oleju rzepakowego hamował zasięg zmian oksydacyjnych skuteczniej niż dodatek 0,02% BHT.

Uzyskane wyniki wskazują na znaczny wzrost wtórnych produktów utleniania próbek olejów podczas przechowywania w 40°C, co zostało przedstawione na wykresie 43. Zarówno przeciwutleniacz syntetyczny, jak i naturalny hamowały tworzenie związków karbonylowych mierzonych jako LA, przy czym najskuteczniejsze działanie zaobserwowano w przypadku dodatku 0,1% ekstraktu z rozmarynu. Po 28 dniach inkubacji najniższą wartość liczby anizydynowej wykazała próbka z dodatkiem ER 0,1%, a następnie próbka z dodatkiem ER 0,05% > BHT 0,02% > ER 0,025% > próbka bez dodatku przeciwutleniacza. Im wyższy dodatek ekstraktu z rozmarynu, tym zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych był mniejszy.

Przebieg procesu dekompozycji wodoronadtlenków był niejednorodny w trakcie prowadzenia eksperymentu. Podczas pierwszych 14 dni inkubacji tempo wzrostu LA było niskie i osiągnęło maksymalną wartość na poziomie 5,51 dla próbki kontrolnej. Znacząco szybsze tempo przyrostu wtórnych produktów utleniania zaobserwowano w kolejnych tygodniach przechowywania (LA na poziomie 37,64 dla próbki kontrolnej). Podobny przebieg zmian liczby anizydynowej w oleju lnianym otrzymano w badaniach prowadzonych przez zespół Tańskiej [2011]. W ciągu pierwszych 120 godzin testu termostatowego (63°C±1°C), dynamika przyrostu LA był niska. W ciągu kolejnych 24 godzin wartość liczby anizydynowej wzrosła prawie trzykrotnie.

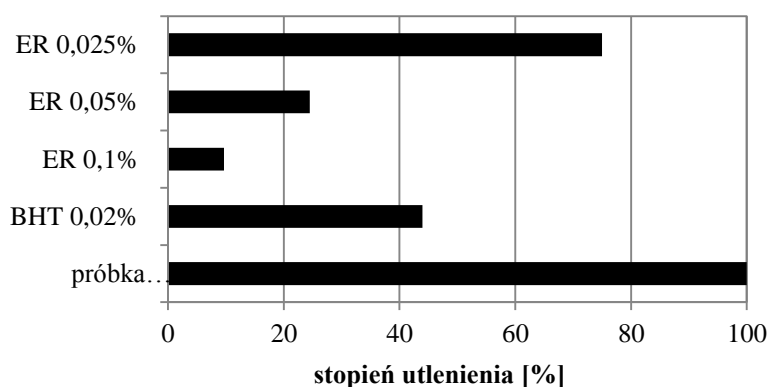
Wykres 43. Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia



* oznaczenia jak w tabeli 39

Skuteczność zastosowanych przeciwutleniaczy wobec tworzenia się pierwotnych i wtórnych produktów oksydacji była podobna (tabela 39). Ekstrakt z rozmarynu dodany w kilku dawkach, jak i przeciwutleniacz syntetyczny chroniły olej lniany przed powstawaniem nadtlenków i jednocześnie opóźniały formowanie się związków karbonylowych.

Wykres 44. Stopień utlenienia prób oleju lnianego po 21 dniach inkubacji w temperaturze 40°C z dodatkiem ekstraktów z rozmarynu i BHT, obliczony na podstawie wartości TOTOX [%]



* oznaczenia jak w tabeli 39

Biorąc pod uwagę zarówno zmiany w zawartości pierwotnych, jak i wtórnych produktów oksydacji obliczono parametr TOTOX dla każdej próbki w każdym punkcie obserwacji, który stanowi miarę utlenienia oleju (tabela 39). Na jego podstawie wyznaczono stopień utlenienia prób oleju lnianego z dodatkiem przeciwutleniaczy w stosunku do prób bez dodatku antyoksydantów po 21 dniach przechowywania, co zostało zaprezentowane na

wykresie 44. Najniższym stopniem utlenienia charakteryzowała się próbka z dodatkiem 0,1% ekstraktu z rozmarynu, a następnie + ER 0,05% > + BHT 0,2% > + ER 0,025% > olej bez dodatku przeciwutleniacza.

Skuteczne działanie ekstraktu z rozmarynu dodanego w ilości 0,1% do rafinowanego oleju sojowego zostało potwierdzone przez Ramalho i Jorge [2008]. Z kolei dodatek 0,05% ekstraktu z rozmarynu do triacylogliceroli oleju rzepakowego wykazało skuteczniejsze działanie w opóźnianiu zmian oksydacyjnych niż dodatek α , β , γ tokoferoli oraz BHT w ilości 0,01% [Nogala-Kałużka i in. 2005].

7.2.5. Porównanie efektywności dodatku substancji o właściwościach przeciwutleniających w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia

W celu porównania aktywności przeciwutleniającej zastosowanych przeciwutleniaczy obliczono stałe szybkości reakcji utleniania, k_{LOO} . Zgodnie z równaniem zaprezentowanym przez Kamal-Eldin i Yanishlieva [2005] użytym przez Toppalar, Bayrak i Iscan [1997] do wyznaczenia szybkości reakcji utleniania oleju słonecznikowego, szybkość reakcji (r) można opisać równaniem:

$$r = \frac{dLOO}{dt} = k_{LOO} * LOO$$

By wyznaczyć stałą reakcji autooksydacji, k_{LOO} , brano pod uwagę wartości liczby nadtlenkowej między 7 a 21 dniem dla każdej próbki, a następnie wykreślano wykres zależności logarytmu naturalnego z wartości LOO od czasu [dni].

Ponadto efektywność przeciwutleniającą poszczególnych substancji/kompozycji określono na podstawie współczynników ochronnych wyrażonych jako stosunek stałej szybkości reakcji próby kontrolnej do stałej szybkości reakcji próby z dodatkiem substancji o właściwościach przeciwutleniających.

Stałe szybkości tworzenia nadtlenków w oleju lnianym podczas inkubacji były uzależnione od zastosowanego dodatku do oleju, a co za tym idzie składu i ilości przeciwutleniaczy, a także substancji towarzyszących obecnych w dodatkach (tabela 40). Największą efektywnością ochronną, obliczoną przez porównanie stałych reakcji w próbie kontrolnej i w próbie z dodatkiem, charakteryzowała się mieszanka olejowa składająca się z 70% oleju lnianego, 28% oleju z wiesiołka i 2% oleju z czarnuszki siewnej. Nieco niższą efektywnością przeciwutleniającą charakteryzowały się mieszanki zawierające 5 i 1% oleju z czarnuszki siewnej (L70:W25:CZ5 oraz L70:W29:CZ1). Ponadto efekt ochronny wykazał

ekstrakt z rozmarynu w ilości 0,1% i 0,05% oraz nieco niższy ekstrakt z wyłoków nasion lnu w ilości 0,2% i BHT w ilości 0,02%.

Tabela 40. Stałe szybkości tworzenia nadtlenków oraz efektywność przeciwutleniająca zastosowanych substancji w próbach oleju lnianego przechowywanego w temperaturze 40°C

| próbka | k_{LOO} [LOO*dzien ⁻¹] 40°C | $k_{LOO o} / k_{LOO p}$ |
|------------------|---|-------------------------|
| L70:W28:CZ2 | 1,21x10 ⁻² | 21,98 |
| L70:W25:CZ5 | 1,93x10 ⁻² | 13,78 |
| L70:W29:CZ1 | 2,24 x10 ⁻² | 11,87 |
| ER 0,1% | 15,13 x10 ⁻² | 1,76 |
| ER 0,05% | 21,05 x10 ⁻² | 1,26 |
| EL 0,2% | 22,30 x10 ⁻² | 1,19 |
| BHT 0,02% | 22,72 x10 ⁻² | 1,17 |
| L70:W30 | 22,85 x10 ⁻² | 1,16 |
| L50:W50 | 22,85 x10 ⁻² | 1,16 |
| EW 0,1% | 24,19 x10 ⁻² | 1,10 |
| EL 0,1% | 24,54 x10 ⁻² | 1,08 |
| L90:W10 | 24,61 x10 ⁻² | 1,08 |
| kontrolna | 26,59x10⁻² | 1,00 |
| EW 0,2% | 26,83 x10 ⁻² | 0,99 |
| EL 0,05% | 27,13 x10 ⁻² | 0,98 |
| EW 0,05% | 27,19 x10 ⁻² | 0,98 |
| ER 0,025% | 27,70 x10 ⁻² | 0,96 |
| ECZ 0,05% | 28,09 x10 ⁻² | 0,95 |
| ECZ 0,2% | 28,66 x10 ⁻² | 0,93 |
| ECZ 0,1% | 29,02 x10 ⁻² | 0,92 |

* $k_{LOO o} / k_{LOO p} > 1$ oznaczone na zielono, $k_{LOO o} / k_{LOO p} < 1$ oznaczone na czerwono

Z uwagi, że celem tego etapu pracy była ocena skuteczności wybranych substancji o działaniu przeciwutleniającym w opóźnianiu zmian oksydacyjnych oleju lnianego tłoczonego na zimno w warunkach przyspieszonego starzenia i wybór najefektywniejszego dodatku, dalszym badaniom sensorycznym i fizykochemicznym poddano próbki o najwyższej stabilności oksydacyjnej. Wśród nich znalazły się mieszanki oleju lnianego, oleju z wiesiołka i oleju z czarnuszki siewnej, próbki oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu oraz dla porównania, próbki z dodatkiem BHT.

7.3. Wpływ dodatku przeciwutleniaczy na przedłużenie trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno w warunkach praktycznego składowania (warunki półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania)

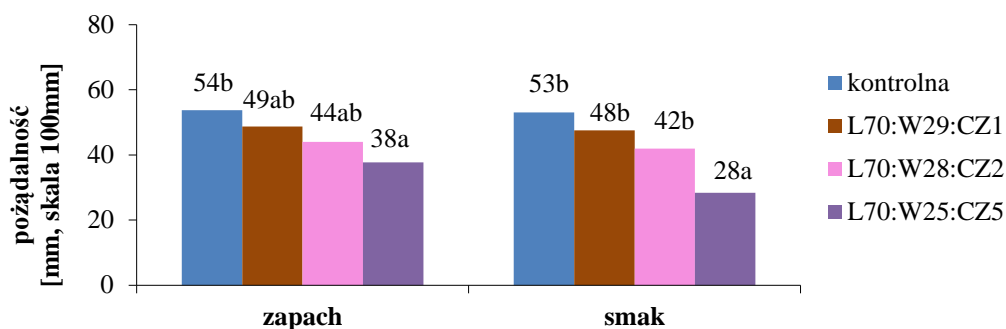
W trzecim etapie pracy zastosowano wybrane na podstawie uprzednio przeprowadzonych badań substancje o najwyższej aktywności przeciwutleniającej do stabilizacji oleju lnianego przechowywanego w warunkach praktycznego składowania (półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania). Z uwagi na fakt, że akceptacja konsumentów przy wprowadzaniu na rynek innowacyjnych, wzbogaconych produktów jest kluczowym elementem komercjalizacji, poszukuje się żywności o odpowiednich cechach organoleptycznych. W tym celu, przed przystąpieniem do badań przechowalniczych, przeprowadzono konsumencką ocenę pożądalności mieszanek oleju lnianego, oleju z wiesiołka i oleju z czarnuszki siewnej oraz ocenę różnicy sensorycznej między próbkami z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu oraz BHT a próbką kontrolną.

7.3.1. Konsumencka ocena pożądalności mieszanek olejowych

W pierwszym etapie badań, ocenie pożądalności konsumenckiej poddano mieszanki oleju lnianego, oleju z wiesiołka i oleju z czarnuszki siewnej (L70:W29:CZ1, L70:W28:CZ2 oraz L70:W25:CZ5). Badania wykazały, że pożądalność zapachu i smaku była uzależniona od zawartości poszczególnych olejów tłoczonych na zimno w eksperymentalnej mieszance. Istotnie najwyższą pożądalność w zakresie zapachu osiągnęła próbka kontrolna zawierająca 100% oleju lnianego. Połowa ankietowanych oceniła pożądalność zapachu tej mieszanki powyżej 57,5 mm (max. 100 mm), a pożądalność zapachu powyżej 52,5 (wnioskowanie na podstawie wartości mediany). Z kolei istotnie najniższą pożądalnością w zakresie zapachu i smaku charakteryzowała się mieszanka o składzie 70% oleju lnianego, 25% oleju z wiesiołka i 5% oleju z czarnuszki siewnej (wykres 45).

Analiza regresji wykazała dobre dopasowanie liniowej zależności między procentową zawartością oleju z czarnuszki siewnej (0-5%) w mieszance a stopniem akceptacji zapachu i smaku odpowiedniej mieszanki (R^2 wyniosło odpowiednio 0,945 i 0,997) (wykres 46). Stwierdzono statystycznie istotny ujemny wpływ stężenia oleju czarnuszki siewnej w mieszance na pożądalność konsumencką.

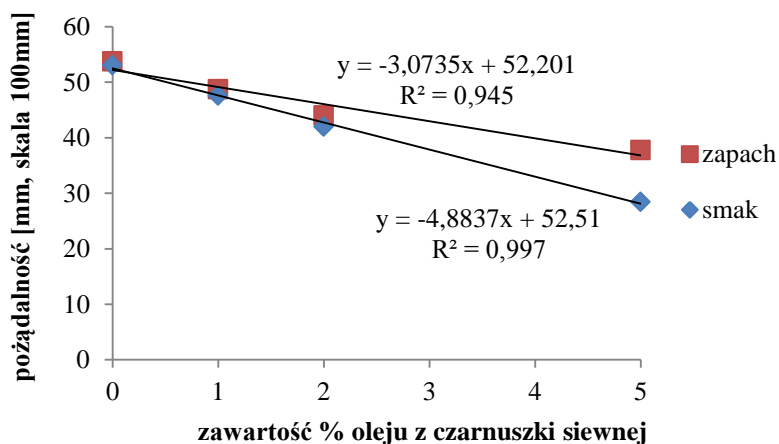
Wykres 45. Konsumentencka ocena pożądalności zapachu i smaku mieszanek oleju lnianego, oleju z wiesiolka i czarnuszki siewnej



*średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$), $n=100$

** oznaczenia jak w tabeli 37

Wykres 46. Wpływ zawartości oleju z czarnuszki siewnej na pożądalność zapachu i smaku mieszanek olejowych



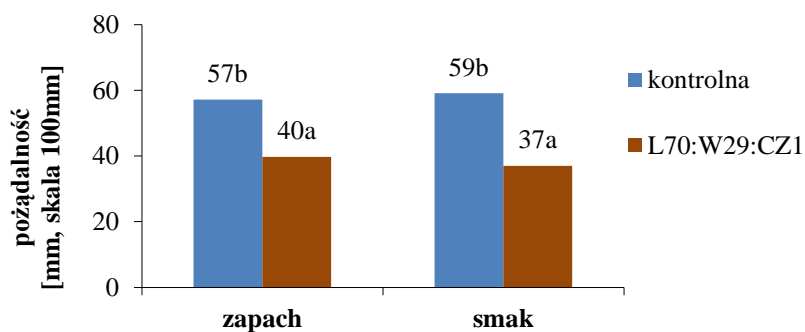
Ponadto, do interpretacji otrzymanych wyników badań zastosowano test korelacji liniowej ($\alpha=0,05$) w celu określenia wpływu dodatku oleju z czarnuszki siewnej na kształtowanie się ich pożądalności sensorycznej. Uzyskane współczynniki korelacji ($r=-0,999$ dla pożądalności smaku i $r=-0,972$ dla pożądalności zapachu) świadczą o wysokiej ujemnej korelacji pomiędzy analizowanymi parametrami. Wzrost zawartości oleju z czarnuszki siewnej w mieszance olejowej spowodował istotny spadek stopnia akceptacji próbek.

Wnioskowanie na podstawie badań sensorycznych jest obarczone pewnym błędem wynikającym z różnorodności postrzegania próbek przez oceniających. Analizując otrzymane szczegółowe wyniki można zauważyć duże zróżnicowanie odpowiedzi (a co za tym idzie wysokie odchylenie standardowe), które uniemożliwia jednoznaczne przydzielenie do grup, między którymi występują istotne statystyczne różnice (test post-hoc Tukey'a). By otrzymać jednoznaczną odpowiedź, czy któraś mieszanka z dodatkiem oleju z wiesiolka i oleju

z czarnuszki siewnej jest bardziej pożądana od próbki kontrolnej na założonym poziomie ufności przeprowadzono powtórne badania.

W drugim etapie oceny pożądalności, konsumenci ocenili mieszankę o składzie 70% oleju lnianego, 29% oleju z wiesiołka i 1% oleju z czarnuszki siewnej, która uzyskała najwyższe noty spośród trójskładnikowych mieszanek w pierwszym etapie badań pożądalności oraz olej lniany bez dodatków. Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji przy poziomie ufności $\alpha=0,05$ stwierdzono występowanie statystycznie istotnych różnic w obrębie pożądalności zapachu i smaku ocenianych próbek. Istotnie wyższą pożądalnością smaku i zapachu charakteryzował się olej lniany bez dodatków, zaś zdecydowanie niższe noty otrzymała mieszanka L70:W29:CZ1 (wykres 47).

Wykres 47. Konsumencka ocena pożądalności zapachu i smaku mieszanek olejowych



*średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p<0,05$), $n=100$

** oznaczenia jak w tabeli 37

Podsumowując, przeprowadzona konsumencka ocena pożądalności zapachu i smaku mieszanek olejowych ukazała, że dodatek oleju z czarnuszki siewnej i oleju z wiesiołka nie skutkowało podwyższeniem postrzeganej pożądalności sensorycznej oleju lnianego. Olej z czarnuszki siewnej charakteryzował się ostrym, drażniącym zapachem i silnie ziołowym smakiem. Mimo, iż olej był zastosowany w niewielkich ilościach (1-5%), zdominował aromat charakterystyczny dla oleju lnianego. Dodatek oleju z wiesiołka miał za zadanie złagodzić charakterystyczną nutę trawiastą oleju lnianego oraz nutę ziołową oleju z czarnuszki siewnej, jednakże w dodanej ilości efekt nie został osiągnięty. Z kolei z punktu ekonomicznego, jak i stabilności oksydatywnej dodatek większej ilości oleju z wiesiołka nie ma uzasadnienia.

Na podstawie wyników konsumenckiej oceny pożądalności zrezygnowano z prowadzenia dalszych badań z wykorzystaniem mieszanek oleju lnianego z olejem z wiesiołka i czarnuszki siewnej, pomimo wysokiej stabilności oksydatywnej tych produktów (tabela 40).

7.3.2. Ocena różnicy sensorycznej między próbkami z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu oraz BHT a próbką kontrolną

Metodę prostego testu różnicowego (ang. same-different test) zastosowano w celu sprawdzenia, czy istnieje sensorycznie wyczuwalna różnica w smaku na początku okresu przechowywania między:

- próbką ER 0,05% a próbka kontrolną (bez dodatku),
- próbką BHT 0,02% a próbka kontrolną (bez dodatku).

W każdym badaniu wykonanym zgodnie z metodyką [ASTM E2139-05(2011)] wzięło udział 100 oceniających. W celu wnioskowania statystycznego przeprowadzono test chi-kwadrat (χ^2). Z uwagi, że za poziom istotności α przyjęto wartość 0,05, a liczba stopni swobody wynosi 1, $\chi^2_{\alpha;(r-1)(k-1)}$ przyjął wartość 3,84.

Wartość testu chi-kwadrat dla pary próbek: 0,05% ER i próbki kontrolnej wyniosła 1,45. Z kolei dla pary próbek: 0,02% BHT i próbki kontrolnej osiągnęła wartość 0,11. Wartości testu chi-kwadrat dla obydwu par były niższe niż 3,84, co oznacza, że przy poziomie ufności 0,05 konsumenci nie różnicują próbek pod względem smaku. Otrzymane wyniki pozwoliły stwierdzić, że dodatek do oleju substancji o właściwościach przeciwutleniających nie wpływa na smak oleju lnianego na początku okresu przechowywania i jednocześnie nie pogorsza pożądalności sensorycznej próbek oleju.

Pozytywny wynik testu różnicowego (różnica statystycznie nieistotne) oraz wyniki badań zaprezentowane w rozdziale 7.2, stały się podstawą do realizacji badań w warunkach praktycznego składowania z udziałem próbki oleju z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu oraz dodatkiem BHT. Wykorzystano dodatek ER w ilości 0,05%, gdyż w przeliczeniu na zawartość sumy karnozolu i kwasu karnozowego w ekstrakcie, dodatek ten nie przekracza dopuszczanej dawki [Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 r.]. Jako odniesienie zastosowano próbkę oleju lnianego z przeciwutleniaczem syntetycznym - butylohydroksytoluenem w ilości 0,02%. Celem dalszych badań było określenie wpływu dodatku ER i BHT na cechy organoleptyczne i stabilność oksydacyjną oleju lnianego składowanego w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania.

7.3.3. Ocena wpływu dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na cechy fizykochemiczne oleju lnianego przechowywanego w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania

Olej lniany z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu w ilości 0,05%, olej z dodatkiem BHT w ilości 0,02% oraz próbkę kontrolną (bez dodatku przeciwutleniacza) poddano przechowywaniu w warunkach półki sklepowej (temperatura 25°C przez 84 dni) oraz w warunkach konsumenckiego użytkowania (temperatura 5°C przez 140 dni). Monitorowano zawartość pierwotnych produktów utleniania oznaczając liczbę nadtlenkową (LOO) co 14 dni oraz zawartość wtórnych produktów utleniania oznaczając liczbę anizydynową (LA) co 28 dni. W tym wariantcie doświadczenia śledzono również zasięg zmian hydrolytycznych oleju oznaczając liczbę kwasową co 14 dni, ponieważ obecność wolnych kwasów tłuszczowych może wpływać na cechy organoleptyczne olejów, a przeprowadzone badania obejmowały także analizę sensoryczną. Ponadto przeprowadzono analizę jakościowo-ilościową związków lotnych zawartych w próbkach oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu i próbki kontrolnej na początku i na końcu badań przechowalniczych.

Zastosowana częstotliwość pomiarów była tożsama z częstotliwością zastosowaną w pierwszym etapie badań. Otrzymane wyniki zaprezentowano w tabeli 41. Natomiast w celu lepszego zobrazowania zachodzących zmian niektóre wyniki zaprezentowano na wykresach.

Próbka kontrolna (olej lniany bez dodatku przeciwutleniacza) charakteryzowała się ogólną dobrą jakością i spełniała wymagania w zakresie liczby nadtlenkowej i kwasowej z Kodeksu Żywnościowego [Codex Standard 19-1981 2013]. Oznaczone parametry fizykochemiczne (LOO, LK) i cechy organoleptyczne (nuta orzechowa, utleniona, trawiasta, smak gorzki i ocena ogólna) były zbliżone do wartości oznaczonych dla tego samego oleju zastosowanego w pierwszym etapie badań (próbka L4). Z kolei, profil kwasów tłuszczowych oraz zawartość wtórnych produktów utleniania nie uległa zmianie.

W przypadku olejów tłoczonych na zimno problem stałości oznaczanych parametrów jest nieunikniony. Wysoka zmienność surowca między kolejnymi sezonami, wpływ czasu i warunków magazynowania ziarna, brak obróbki po wytłoczeniu oleju istotnie kształtuje cechy organoleptyczne i fizykochemiczne olejów pochodzących z różnych partii. Dlatego też badania w trzecim etapie pracy przeprowadzono dwukrotnie w kilkumiesięcznym odstępie, a prezentowane stanowią średnią uzyskanych wartości.

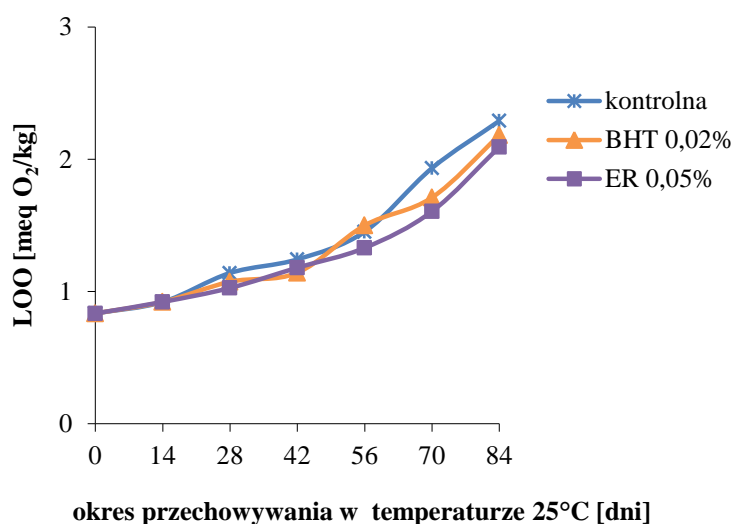
Tabela 41. Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na zmiany jakościowe oleju lnianego przechowywanego w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania [średnia ± odchylenie standardowe]

| Wyróżnik | czas [dni] | warunki półki sklepowej (25°C) | | | warunki konsumenckiego użytkowania (5°C) | | |
|---------------------------------|---------------|--------------------------------|-------------|-------------|--|-------------|-------------|
| | | kontrolna | ER 0,05% | BHT 0,02% | kontrolna | ER 0,05% | BHT 0,02% |
| LOO [meq O ₂ /kg] | 0 | 0,84 ± 0,01 | 0,84 ± 0,01 | 0,84 ± 0,01 | 0,84 ± 0,01 | 0,84 ± 0,01 | 0,84 ± 0,01 |
| | 14 | 0,92 ± 0,03 | 0,92 ± 0,03 | 0,92 ± 0,03 | 0,92 ± 0,03 | 0,92 ± 0,03 | 0,92 ± 0,03 |
| | 28 | 1,14 ± 0,06 | 1,03 ± 0,09 | 1,07 ± 0,12 | 0,94 ± 0,02 | 0,93 ± 0,03 | 0,93 ± 0,03 |
| | 42 | 1,24 ± 0,04 | 1,18 ± 0,06 | 1,14 ± 0,02 | 0,95 ± 0,00 | 0,93 ± 0,02 | 0,94 ± 0,02 |
| | 56 | 1,45 ± 0,01 | 1,33 ± 0,03 | 1,50 ± 0,09 | 0,99 ± 0,01 | 0,96 ± 0,05 | 0,95 ± 0,04 |
| | 70 | 1,93 ± 0,07 | 1,61 ± 0,09 | 1,71 ± 0,17 | 0,98 ± 0,00 | 0,97 ± 0,04 | 0,97 ± 0,02 |
| | 84 | 2,29 ± 0,01 | 2,09 ± 0,00 | 2,18 ± 0,17 | 0,97 ± 0,03 | 0,96 ± 0,02 | 0,97 ± 0,01 |
| | 98 | - | - | - | 1,02 ± 0,06 | 0,97 ± 0,04 | 0,95 ± 0,02 |
| | 112 | - | - | - | 0,99 ± 0,01 | 0,97 ± 0,04 | 0,98 ± 0,00 |
| | 126 | - | - | - | 0,99 ± 0,00 | 0,96 ± 0,03 | 0,97 ± 0,00 |
| | 140 | - | - | - | 1,00 ± 0,04 | 0,98 ± 0,01 | 0,99 ± 0,01 |
| LA | 0 | 0,62 ± 0,01 | 0,62 ± 0,01 | 0,62 ± 0,01 | 0,62 ± 0,01 | 0,62 ± 0,01 | 0,62 ± 0,01 |
| | 28 | 0,64 ± 0,02 | 0,62 ± 0,00 | 0,62 ± 0,01 | 0,64 ± 0,02 | 0,62 ± 0,00 | 0,62 ± 0,01 |
| | 56 | 0,65 ± 0,01 | 0,62 ± 0,01 | 0,65 ± 0,02 | 0,64 ± 0,01 | 0,62 ± 0,01 | 0,63 ± 0,01 |
| | 84 | 0,67 ± 0,02 | 0,64 ± 0,00 | 0,66 ± 0,02 | 0,65 ± 0,01 | 0,63 ± 0,01 | 0,64 ± 0,00 |
| | 112 | - | - | - | 0,64 ± 0,01 | 0,66 ± 0,02 | 0,64 ± 0,01 |
| | 140 | - | - | - | 0,68 ± 0,00 | 0,67 ± 0,02 | 0,66 ± 0,02 |
| TOTOX | 0 | 2,29 | 2,29 | 2,29 | 2,29 | 2,29 | 2,29 |
| | 28 | 2,93 | 2,67 | 2,77 | 2,53 | 2,48 | 2,48 |
| | 56 | 3,55 | 3,28 | 3,66 | 2,61 | 2,53 | 2,52 |
| | 84 | 5,25 | 4,82 | 5,02 | 2,59 | 2,55 | 2,57 |
| | 112 | - | - | - | 2,62 | 2,60 | 2,59 |
| | 140 | - | - | - | 2,68 | 2,63 | 2,64 |
| LK [mg KOH/g oleju] | 0 | 0,64 ± 0,01 | 0,64 ± 0,01 | 0,64 ± 0,01 | 0,64 ± 0,01 | 0,64 ± 0,01 | 0,64 ± 0,01 |
| | 14 | 0,72 ± 0,00 | 0,71 ± 0,01 | 0,72 ± 0,00 | 0,65 ± 0,01 | 0,65 ± 0,01 | 0,65 ± 0,01 |
| | 28 | 0,75 ± 0,04 | 0,77 ± 0,01 | 0,74 ± 0,03 | 0,66 ± 0,02 | 0,66 ± 0,01 | 0,71 ± 0,01 |
| | 42 | 0,80 ± 0,00 | 0,83 ± 0,01 | 0,81 ± 0,00 | 0,68 ± 0,01 | 0,67 ± 0,01 | 0,72 ± 0,00 |
| | 56 | 0,82 ± 0,02 | 0,89 ± 0,00 | 0,83 ± 0,03 | 0,71 ± 0,00 | 0,71 ± 0,00 | 0,75 ± 0,03 |
| | 70 | 0,99 ± 0,01 | 0,98 ± 0,02 | 0,94 ± 0,01 | 0,75 ± 0,02 | 0,75 ± 0,02 | 0,81 ± 0,00 |
| | 84 | 1,08 ± 0,00 | 0,97 ± 0,03 | 1,05 ± 0,01 | 0,88 ± 0,00 | 0,79 ± 0,01 | 0,81 ± 0,00 |
| | 98 | - | - | - | 0,97 ± 0,03 | 0,87 ± 0,03 | 0,93 ± 0,04 |
| | 112 | - | - | - | 1,06 ± 0,02 | 0,96 ± 0,02 | 1,05 ± 0,01 |
| | 126 | - | - | - | 1,17 ± 0,00 | 1,08 ± 0,02 | 1,12 ± 0,02 |
| | 140 | - | - | - | 1,25 ± 0,01 | 1,15 ± 0,01 | 1,20 ± 0,01 |

* ER 0,05% - próbka oleju lnianego z 0,05%-owym dodatkiem ekstraktu z rozmarynu;
BHT 0,02% - próbka oleju lnianego z 0,02%-owym dodatkiem butylohydroksytoluenu

Przeprowadzone badania w warunkach półki sklepowej wykazały, że zawartość pierwotnych produktów utleniania we wszystkich próbkach wzrastała w trakcie przechowywania (wykres 48), przy czym tempo zmian i osiągnięta zawartość była zbliżona dla wszystkich próbek. Po 84 dniach przechowywania w temperaturze pokojowej zawartość nadtlenków w próbce kontrolnej wyniosła $2,29 \pm 0,01$ meq O_2 /kg oleju. Na statystycznie takim samym poziomie ($\alpha=0,05$) oznaczono poziom nadtlenków w próbce z ekstraktem z rozmarynu i z dodatkiem przeciwutleniacza syntetycznego, odpowiednio $2,09 \pm 0,00$ meq O_2 /kg oleju oraz $2,18 \pm 0,17$ meq O_2 /kg oleju.

Wykres 48. Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach półki sklepowej



* oznaczenia jak w tabeli 41

Z kolei w badaniach prowadzonych w warunkach konsumenckiego użytkowania stwierdzono, że zawartość pierwotnych produktów utleniania we wszystkich próbkach uległa istotnie statystycznemu wzrostowi jedynie pomiędzy pierwszym a drugim pomiarem a między kolejnymi pomiarami nie stwierdzono istotnych zmian przy $p=0,05$. Można więc uznać, że przechowywanie próbek w warunkach chłodniczych przez 20 tygodni jedynie w minimalnym stopniu wpłynęło na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym.

Oznaczone zawartości pierwotnych produktów oksydacji dla wszystkich próbek w obydwu warunkach przechowywania kształtowały się na niskim poziomie przez cały okres przechowywania i nie przekroczyły dopuszczalnej wartości 15 meq O_2 /kg oleju zgodnie ze standardem 19-1981 Kodeksu Żywnościowego [Codex Standard 19-1981 2013]. Dodatek

ekstraktu z rozmarynu oraz BHT nie wpłynął istotnie na oznaczoną zawartość nadtlenków w porównaniu z próbką oleju lnianego bez dodatku przeciwutleniaczy.

Niewielkie zmiany zawartości pierwotnych produktów utleniania spowodowały praktycznie niezmienną zawartość wtórnych produktów utleniania podczas przechowywania w temperaturze 25°C oraz 5°C (tabela 41). Liczba anizydynowa próbek kształtowała się na niskim poziomie 0,62-0,68. Dodatek ekstraktu z rozmarynu oraz BHT nie wpłynął istotnie na oznaczoną zawartość związków karbonylowych w porównaniu z próbką oleju lnianego bez dodatku.

Na podstawie otrzymanych wartości liczby nadtlenkowej i p-anizydynowej wyliczono wskaźnik TOTOX ($2*LOO+LA$), który jest miarą oksydacji oleju (tabela 41). Początkowa wartość kształtowała się na niskim poziomie 2,29. Wartości wskaźnika nieznacznie wzrastały w trakcie przechowywania we wszystkich olejach, a wielkość zmian była uwarunkowana rodzajem dodatku. W trakcie prowadzenia eksperymentu w warunkach temperatury pokojowej zaobserwowano podwojenie wartości początkowej wskaźnika TOTOX, który jednak nie przekroczył poziomu 5,3 w żadnej z prób po 84 dniach inkubacji. Natomiast po 140 dniach składowania w temperaturze chłodniczej wskaźnik TOTOX próby kontrolnej, próby z dodatkiem ER i z BHT wyniósł odpowiednio 2,68; 2,63 i 2,64. Intensywność zmian oksydacyjnych próbek przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania była istotnie niższa w próbkach przechowywanych w warunkach półki sklepowej. Biorąc pod uwagę wartość wskaźnika TOTOX na poziomie 10 jako graniczny poziom wyznaczający akceptowalną jakość olejów jadalnych [Wroniak, Kwiatkowska i Krygier 2006] badane próbki wykazały dobrą jakość pod względem wyróżników fizykochemicznych podczas przechowywania w warunkach praktycznego składowania.

W przeprowadzonych badaniach przechowalniczych zaobserwowano niskie tempo zmian i niewielki wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych (tabela 41). Na koniec okresu przechowywania próbka kontrolna osiągnęła istotnie statystycznie najwyższą zawartość wolnych kwasów tłuszczowych na poziomie $1,08 \pm 0,00$ mg KOH/g oleju w warunkach półki sklepowej oraz $1,25 \pm 0,01$ mg KOH/g oleju w warunkach konsumenckiego przechowywania. Próbki z dodatkiem ER wykazały istotnie niższy poziom liczby kwasowej niż próbki kontrolne (w ostatnim dniu badania). Żaden z badanych wariantów nie przekroczył dopuszczalnej zawartości 4,0 mg KOH/g oleju.

Analiza związków lotnych próbek oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu

Na cechy organoleptyczne oleju lnianego duży wpływ wywiera profil związków lotnych [Krist i in. 2006]. Postanowiono sprawdzić, czy dodatek ekstraktu z rozmarynu do oleju lnianego i przechowywanie go w praktycznych warunkach składowania wpływa na skład jakościowo-ilościowy związków lotnych.

W badanych próbkach oznaczono związki lotne typowe dla oleju lnianego [Krist i in. 2006; Juita i in. 2012; Mińkowski, Grzeškiewicz i Krupska 2012] (tabela 42). Do dalszej analizy wybrano 16 związków lotnych, wśród nich: 1-penten-3-ol (o masłowym, łagodnym, świeżo ściętej trawy zapachu), 2-methyl-1-butanol (o zapachu oleju fuzlowego, whiskey), 1-pentanol (o silnym, słodkim, balsamicznym zapachu), heksanal (o owocowym, trawiastym zapachu), 2-heksenal (o słodkim, migdałowym, owocowym, liściastym zapachu), 1-heksanol (o ziołowo, drewnianym zapachu), 2-heptanol (o ziemistym, tłustym zapachu), α -pinen (o ostrym, piniowym zapachu), 1-octen-3-ol (o ziołowym, ziemistym zapachu), 3-karen (o słodkim, penetrującym zapachu), D-limonen (o łagodnym, słodkim, cytrynowo-pomarańczowym zapachu), nonanal (o kwiatowym, różanym, cytrusowym, woskowym zapachu). Zgodnie z badaniami Krist i in. [2006] zawartość poszczególnych związków lotnych jest uwarunkowana pochodzeniem (warunkami uprawy, środowiskowymi) nasion lnu i metodą ekstrakcji oleju. W oleju lnianym pochodzącym z Austrii nie zidentyfikowano związków takich jak: 2-butanol, etylobenzen, heptanal, benzaldehyd.

W analizowanych próbkach stwierdzono obecność związków lotnych pochodzących z rozpadu kwasu α -linolenowego (m.in. 1-penten-3-ol, 3,5-octadien-2-on) oraz kwasu linolowego (m.in. heksanal, 2-heksenal). Związki te były obecne już w próbkach świeżych, co może wskazywać na zmiany oksydacyjne, które zaszły w próbkach przed rozpoczęciem badań. Jest to wynik zastosowanej metody ekstrakcji - tłoczenia na zimno bez dalszej rafinacji, która nie eliminuje pierwotnych i wtórnych produktów oksydacji na etapie uzyskiwania oleju [Mildner-Szkudlarz i in. 2003; Mińkowski, Grzeškiewicz i Krupska 2012]. Zmiany zawartości związków lotnych były uwarunkowane warunkami przechowywania. Wnioskowano na podstawie średniej powierzchni piku poszczególnych związków. W próbkach oleju lnianego bez dodatku przeciwutleniacza i z ekstraktem z rozmarynu przechowywanego w warunkach chłodniczych obserwowano niższą zawartość 1-pentanolu, heksanal, 1-heksanolu w porównaniu z próbkami składowanymi w temperaturze pokojowej (tabela 42).

Tabela 42. Związki lotne zidentyfikowane w oleju lnianym świeżym i przechowywanym za pomocą metody SPME-GC/MS [średnia powierzchnia pików $\times 10^6$]

| związek | czas retencji | L | L 84d pok | L 140d chl | +ER | +ER 84d pok | +ER 140d chl |
|--------------------|---------------|-----|-----------|------------|-----|-------------|--------------|
| 2-butanol | 2,241 | 183 | 94 | 181 | 102 | 114 | 228 |
| 1-penten-3-ol | 3,417 | 45 | 70 | 33 | 42 | 69 | 80 |
| 3-methyl-1-butanol | 4,628 | 49 | 34 | 49 | 25 | 37 | 48 |
| 2-methyl-1-butanol | 4,729 | 100 | 52 | 106 | 59 | 55 | 106 |
| 1-pentanol | 5,559 | 93 | 128 | 67 | 89 | 124 | 90 |
| heksanal | 6,639 | 370 | 475 | 249 | 316 | 503 | 401 |
| 2-heksenal | 8,76 | 9 | 14 | 13 | 28 | 13 | 8 |
| 1-heksanol | 9,544 | 559 | 554 | 501 | 545 | 516 | 462 |
| 2-heptanol | 10,898 | 24 | 52 | 24 | 44 | 47 | 21 |
| α -pinen | 12,307 | 128 | 669 | 118 | 18 | 658 | 87 |
| 2-heptenal | 13,659 | 15 | 0 | 0 | 0 | 11 | 10 |
| 1-octen-3-ol | 14,742 | 9 | 10 | 15 | 44 | 10 | 5 |
| 3-karen | 16,033 | 36 | 20 | 44 | 44 | 20 | 16 |
| D-limonen | 17,185 | 28 | 197 | 38 | 29 | 179 | 23 |
| 3,5-octadien-2-on | 18,459 | 30 | 52 | 35 | 59 | 44 | 26 |
| nonanal | 19,119 | 16 | 22 | 14 | 48 | 21 | 12 |

*L – olej lniany świeży; L 84d pok – olej lniany po przechowywaniu w warunkach pokojowych przez 84 dni; L 140d chl – olej lniany po przechowywaniu w warunkach chłodniczych przez 140 dni; +ER – olej lniany świeży z dodatkiem 0,05% ekstraktu z rozmarynu; +ER 84d pok – olej lniany z dodatkiem 0,05% ekstraktu z rozmarynu po przechowywaniu w warunkach pokojowych przez 84 dni; +ER 140d chl – olej lniany z dodatkiem 0,05% ekstraktu z rozmarynu po przechowywaniu w warunkach chłodniczych przez 140 dni; n=3

Wyniki przeprowadzonej analizy interpretowano przy wykorzystaniu analizy czynnikowej, przeprowadzonej metodą wyodrębniania głównych składowych (PCA). Przy określeniu liczby składowych głównych posłużono się kryterium Kaisera, zgodnie z którym wyodrębnia się tylko te czynniki, których wartości własne (wariancje wyjaśnione przez dany czynnik) są większe od 1, co oznacza że wyjaśniają co najmniej taką zmienność, ile jedna zmienna. Ponadto, wykreślono wykres osypiska (wykres 49) przedstawiający wartości własne dla poszczególnych składowych w analizie czynnikowej. Zgodnie z metodą Cattella należy znaleźć miejsce, od którego na prawo występuje łagodny spadek wartości własnych.

Zastosowanie powyższych reguł pozwoliło wyodrębnić trzy główne składowe (PC1, PC2, PC3), które wyjaśniały 95,29% zmienności (tabela 43). Przy interpretacji składowych głównych pomocne są ładunki czynnikowe, które wyrażają korelację danej zmiennej pierwotnej z wyodrębnionym czynnikiem (główną składową). Pierwsza i druga składowa są wysoko skorelowane z największą ilością zmiennych i wyjaśniają największą część zmienności (odpowiednio 49,4% i 39,2%). Z kolei trzecia składowa wyjaśnia dużo mniejszą część zmienności (6,8%).

Wykres 49. Wykres osypiska

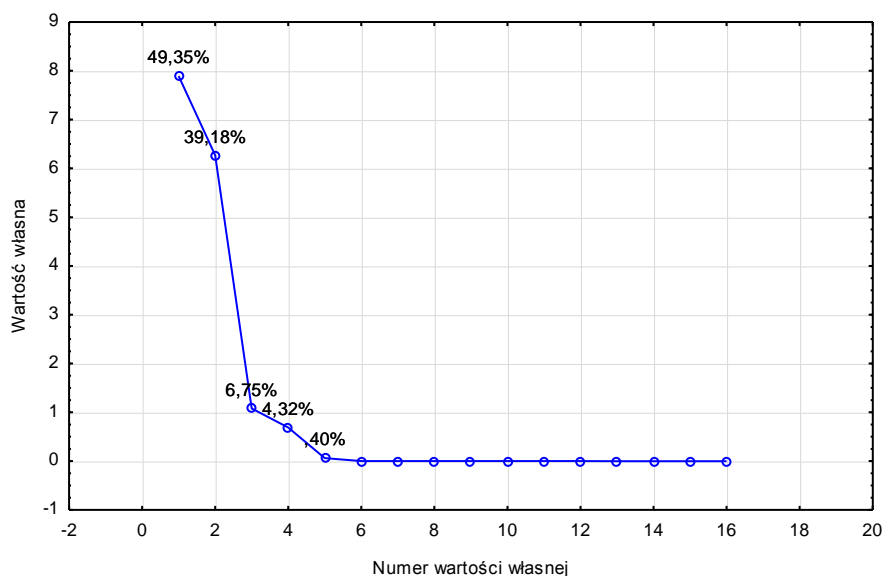
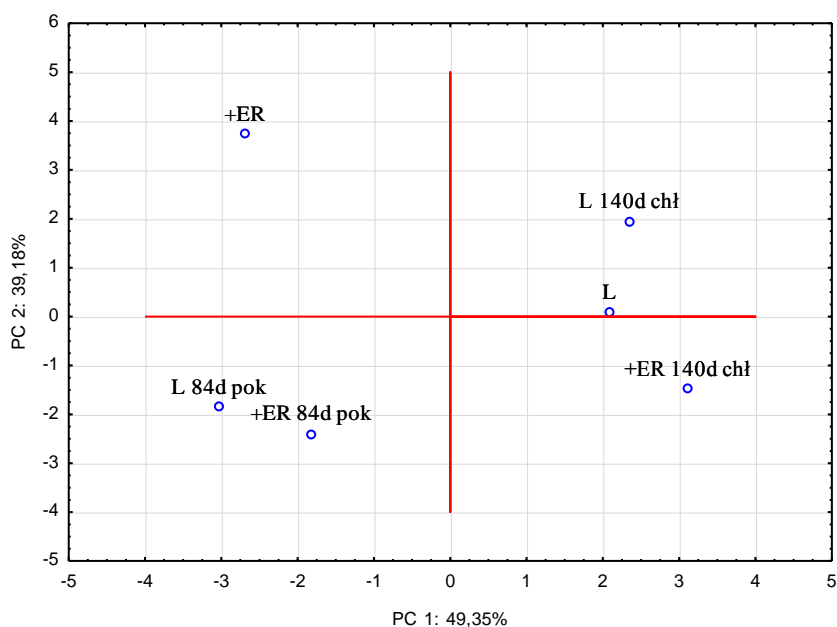


Tabela 43. Współczynnik korelacji poszczególnych związków lotnych oleju lnianego z wyodrębnionymi głównymi składowymi

| Zmienna | Ładunek czynnikowy 1 | Ładunek czynnikowy 2 | Ładunek czynnikowy 3 |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|
| 2-butanol | 0,962 | 0,125 | 0,177 |
| 1-penten-3-ol | 0,019 | -0,823 | 0,386 |
| 3-metyl-1-butanol | 0,976 | -0,073 | -0,172 |
| 2-metyl-1-butanol | 0,941 | 0,329 | -0,020 |
| 1-pentanol | -0,532 | -0,822 | 0,107 |
| heksanal | -0,285 | -0,922 | 0,250 |
| 2-heksenal | -0,812 | 0,562 | 0,097 |
| 1-heksanol | -0,682 | 0,631 | 0,317 |
| 2-heptanol | -0,924 | -0,368 | -0,105 |
| α -pinen | -0,421 | -0,843 | -0,307 |
| 2-heptenal | 0,506 | -0,377 | 0,534 |
| 1-octen-3-ol | -0,642 | 0,738 | 0,183 |
| 3-karen | -0,080 | 0,908 | -0,277 |
| D-limonen | -0,531 | -0,781 | -0,319 |
| 3,5-octadien-2-on | -0,988 | 0,122 | -0,091 |
| nonanal | -0,826 | 0,491 | 0,275 |
| wartość własna | 7,896 | 6,270 | 1,080 |
| % ogółu wyjaśnionej wariancji | 49,35 | 39,18 | 6,75 |
| % skumulowany ogółu wyjaśnionej wariancji | 49,35 | 88,53 | 95,29 |

Wykres 50. Rzut próbek oleju lnianego z i bez dodatku ekstraktu z rozmarynu świeżego i po przechowywaniu na płaszczyznę głównych składowych, wyodrębnionych na podstawie wyników analizy związków lotnych metodą SPME-GC/MS



*L – olej lniany świeży; L 84d pok – olej lniany po przechowywaniu w warunkach pokojowych przez 84 dni; L 140d chł – olej lniany po przechowywaniu w warunkach chłodniczych przez 140 dni; +ER – olej lniany świeży z dodatkiem 0,05% ekstraktu z rozmarynu; +ER 84d pok – olej lniany z dodatkiem 0,05% ekstraktu z rozmarynu po przechowywaniu w warunkach pokojowych przez 84 dni; +ER 140d chł – olej lniany z dodatkiem 0,05% ekstraktu z rozmarynu po przechowywaniu w warunkach chłodniczych przez 140 dni;

Przeprowadzona analiza głównych składowych pozwoliła zróżnicować badane próbki ze względu na obecność ekstraktu rozmarynu, jak i czas oraz warunki przechowywania (wykres 50). Próbką świeżego oleju lnianego bez dodatku (L) i próbką świeżego oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu (+ER) są położone daleko od siebie na płaszczyźnie głównych składowych, co świadczy o ich zróżnicowaniu. Z kolei próbki bez i z dodatkiem ekstraktu po 84 dniach przechowywania w temperaturze pokojowej (L 84d pok oraz +ER 84d pok) wykazały zbliżone względem siebie położenie na osi głównych składowych. Oznacza to, że ocena zawartości 16 wybranych analizowanych związków lotnych nie pozwala na zróżnicowanie próbek bez i z dodatkiem przeciwutleniacza pod względem ich właściwości zapachowych po danym okresie przechowywania. Może to wynikać ze zbyt krótkiego okresu przechowywania i zastosowanej stosunkowo niskiej temperatury, by przemiany oksydacyjne tłuszczów skutkowały nagromadzeniem dużej ilości związków lotnych (również nie zaobserwowano istotnego wzrostu liczby anizydynowej). Badania Chmielewskiego i in. [2007], wykorzystujące elektroniczny nos z analizą danych PCA, pozwoliły wykazać widoczne różnice między próbkami olejów świeżych i poddanych obróbce termicznej, jednakże zastosowano intensywne warunki ogrzewania próbek (20 godzin w 200°C).

7.3.4. Ocena wpływu dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na cechy organoleptyczne oleju lnianego przechowywanego w warunkach półki sklepowej i konsumenckiego użytkowania

Ocenę zmian intensywności poszczególnych nut smakowych oraz oceny ogólnej próbek oleju lnianego z dodatkiem 0,05% ekstraktu z rozmarynu, 0,02% BHT oraz próbki kontrolnej przechowywanych w warunkach półki sklepowej i konsumenckiego użytkowania wykonywano co 14 dni z udziałem przeszkolonego zespołu oceniającego.

W przeprowadzonym badaniu jako podstawę do odrzucenia próbki przyjęto intensywność smaku gorzkiego na nieakceptowanym poziomie. Badania realizowano do momentu odrzucenia przez panel ostatniej próbki, t.j. przez 84 dni (w warunkach półki sklepowej) (wykres 53) i 140 dni (w warunkach konsumenckiego użytkowania) (wykres 55).

Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na cechy organoleptyczne oleju lnianego przechowywanego w warunkach półki sklepowej

Przeprowadzona jednoczynnikowa analiza wariancji pozwoliła stwierdzić, że w warunkach temperatury pokojowej następują istotne statystycznie zmiany intensywności wszystkich wyróżników, co zostało zaprezentowane w tabeli 44. Istotność na poziomie niższym niż 0,05 pozwala wnioskować, że zaobserwowano chociażby jednokrotnie istotną zmianę w obrębie badanego wyróżnika.

Tabela 44. Istotność zmian intensywności poszczególnych deskryptorów oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach półki sklepowej - jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA)

| wyróżnik | próbka | statystyka F | df1 | df2 | istotność |
|----------------|-----------|-----------------|-----|-----|--------------|
| nuta orzechowa | kontrolna | 8,96 | 60 | 5 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 16,35 | 60 | 5 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 22,51 | 70 | 6 | 0,000 |
| nuta jełka | kontrolna | 31,72 | 60 | 5 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 32,04 | 60 | 5 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 37,09 | 70 | 6 | 0,000 |
| nuta trawiasta | kontrolna | 6,38 | 60 | 5 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 7,90 | 60 | 5 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 3,60 | 70 | 6 | 0,004 |

| | | | | | |
|--------------|-----------|-------|----|---|--------------|
| smak gorzki | kontrolna | 28,88 | 60 | 5 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 27,41 | 60 | 5 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 28,33 | 70 | 6 | 0,000 |
| ocena ogólna | kontrolna | 19,12 | 60 | 5 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 19,77 | 60 | 5 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 28,26 | 70 | 6 | 0,000 |

pogrubiono istotności <0,05; zmiana istotnie statystyczna

* ER 0,05% - próbka oleju lnianego z 0,05%-owym dodatkiem ekstraktu z rozmarynu;

BHT 0,02% - próbka oleju lnianego z 0,02%-owym dodatkiem butylohydroksytoluenu

W przypadku nuty orzechowej stwierdzono wzrost jej intensywności w pierwszych 14 dniach badań, po czym odnotowywano wyraźny spadek do końca trwania eksperymentu (tabela 45). Końcowa intensywność osiągnęła wartość 1,8-2,0, przy czym początkowa wynosiła od 2,4 co 2,6, co oznacza ogólny niewielki spadek tego wyróżnika (skala intensywności 0-10). Zastosowanie dodatku przeciwutleniaczy nie wpłynęło na obserwowany przebieg zmian intensywności nuty orzechowej.

Tabela 45. Zmiana intensywności wyróżników organoleptycznych oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanego w warunkach półki sklepowej [wartości średniej]

| wyróżnik | próbka | okres przechowywania w 25 °C [dni] | | | | | | |
|----------------|-----------|------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 0 | 14 | 28 | 42 | 56 | 70 | 84 |
| nuta orzechowa | kontrolna | 2,6 | 3,6 | 3,4 | 2,9 | 2,5 | 2,0 | |
| | ER 0,05% | 2,4 | 3,6 | 3,3 | 2,6 | 2,2 | 1,9 | |
| | BHT 0,02% | 2,6 | 3,9 | 3,5 | 3,0 | 2,7 | 2,2 | 1,8 |
| nuta utleniona | kontrolna | 0,8 | 1,2 | 1,9 | 2,6 | 2,9 | 3,4 | |
| | ER 0,05% | 0,8 | 1,2 | 1,8 | 2,5 | 2,9 | 3,3 | |
| | BHT 0,02% | 0,9 | 1,3 | 1,8 | 2,6 | 3,0 | 3,3 | 3,5 |
| nuta trawiasta | kontrolna | 3,1 | 3,1 | 3,4 | 3,7 | 4,1 | 4,2 | |
| | ER 0,05% | 3,2 | 3,2 | 3,5 | 3,9 | 4,5 | 4,8 | |
| | BHT 0,02% | 3,2 | 3,2 | 3,3 | 3,6 | 3,6 | 4,0 | 4,1 |
| smak gorzki | kontrolna | 1,9 | 2,1 | 2,8 | 3,7 | 4,9 | 6,8 | |
| | ER 0,05% | 1,9 | 1,9 | 2,0 | 2,5 | 4,0 | 6,1 | |
| | BHT 0,02% | 2,0 | 1,9 | 2,4 | 2,8 | 3,4 | 4,8 | 6,4 |
| ocena ogólna | kontrolna | 4,9 | 4,3 | 3,9 | 3,4 | 2,5 | 1,5 | |
| | ER 0,05% | 4,8 | 4,6 | 4,4 | 4,0 | 3,2 | 1,8 | |
| | BHT 0,02% | 4,8 | 4,5 | 4,2 | 3,7 | 3,4 | 2,5 | 1,5 |

* oznaczenia jak w tabeli 44

Przeprowadzona analiza regresji liniowej ($\alpha=0,05$) pozwoliła stwierdzić dobre dopasowanie modelu liniowego tylko dla intensywności nuty utlenionej (współczynnik determinacji R^2 na poziomie 0,718-0,741) (tabela 46). Zaobserwowano wzrost intensywności

nuty jęlkiej w trakcie przechowywania średnio o 0,03-0,04 punktu intensywności podczas jednego dnia eksperymentu (współczynnik kierunkowy krzywej regresji wynosił 0,04; 0,04 i 0,03, odpowiednio dla próbki kontrolnej, ER 0,05% oraz 0,02% BHT). Po 70 dniach przechowywania próbki osiągnęły 4-krotnie wyższy poziom intensywności tej nuty smakowej niż początkowo (tabela 45). Podobnie w przypadku nuty utlenionej nie stwierdzono istotnego wpływu dodatku ekstraktu z rozmarynu oraz BHT na intensywność tego wyróżnika.

Tabela 46. Zależność między intensywnością nuty jęlkiej a czasem inkubacji w dniach (istotność regresji) dla oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanego w warunkach półki sklepowej**

| wyróżnik | próbka | wartość współczynnika kierunkowego (a)* | wartość wyrazu wolnego (b)* | statystyka F | współczynnik determinacji R ² | istotność regresji |
|------------|-----------|---|-----------------------------|--------------|--|--------------------|
| nuta jęłka | kontrolna | 0,04 | 0,79 | 163,04 | 0,718 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 0,04 | 0,80 | 163,33 | 0,718 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 0,03 | 0,94 | 214,68 | 0,741 | 0,000 |

pogrubiono R²>0,500, co oznacza dobre dopasowanie modelu: intensywność wyróżnika = a*czas przechowywania (dni) + b
* oznaczenia jak w tabeli 44

**w przypadku intensywności innych nut smakowych oraz oceny ogólnej próbek przechowywanych w warunkach półki sklepowej stwierdzono słabe dopasowanie modelu regresji liniowej

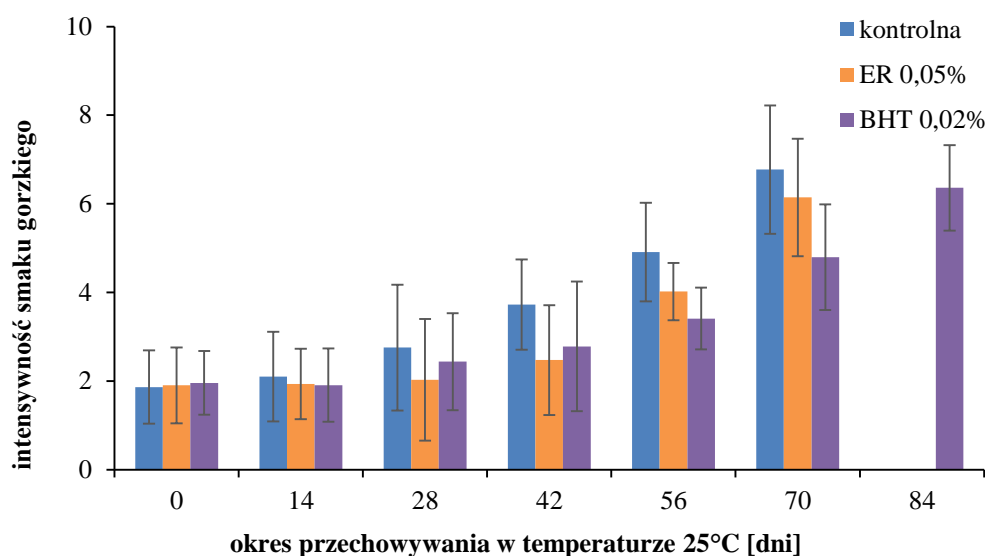
Zmienność nuty trawiastej była zróżnicowana w zależności od próbki (tabela 45). Najwyższą intensywnością tej nuty smakowej charakteryzowała się próbka z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu. Z kolei najniższą dynamikę zmian oraz najniższe wartości intensywności nuty trawiastej stwierdzono w próbce z dodatkiem BHT w trakcie całego okresu przechowywania. Badania wykazały również, że wraz z upływem czasu przechowywania zwiększała się różnica między intensywnościami nuty trawiastej w próbkach ER i BHT. Zatem można wnioskować, że wpływ na intensywność nuty trawiastej próbki mógł mieć dodatek ekstraktu z rozmarynu.

Intensywność smaku gorzkiego wykazała największy wzrost spośród badanych wyróżników organoleptycznych próbek przechowywanych w warunkach półki sklepowej. Na początku eksperymentu gorzkość kształtowała się na poziomie 1,9-2,0 punktów na skali liniowej od 0-10. Po 70 dniach przechowywania próbka kontrolna osiągnęła wartość 6,8 a próbka z dodatkiem ER - 6,1. Z kolei próbka z dodatkiem BHT wykazała istotnie niższą intensywność smaku gorzkiego po 70 dniach (4,8) (wykres 51).

Biorąc pod uwagę cały okres przechowywania można zaobserwować, że próbka oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu między 14 a 46 dniem inkubacji w temperaturze

25°C wykazywała najniższą intensywność smaku gorzkiego spośród badanych próbek (wykres 51). Oznacza to, że zastosowany dodatek okresowo opóźnił występowanie gorzkości. Jednakże po około 47 dniach przechowywania intensywność ta wzrosła i była wyższa niż próbki z dodatkiem BHT. Wzrost gorzkości w przypadku próbki ER 0,05% przebiegał równoległe ze wzrostem intensywności nuty trawiastej. Stwierdzono wysoką korelację nuty trawiastej i smaku gorzkiego dla próbki ER 0,05% ($r=0,914$).

Wykres 51. Intensywność smaku gorzkiego w oleju lnianym z przeciwutleniaczami przechowywanym w warunkach półki sklepowej



* oznaczenia jak w tabeli 44

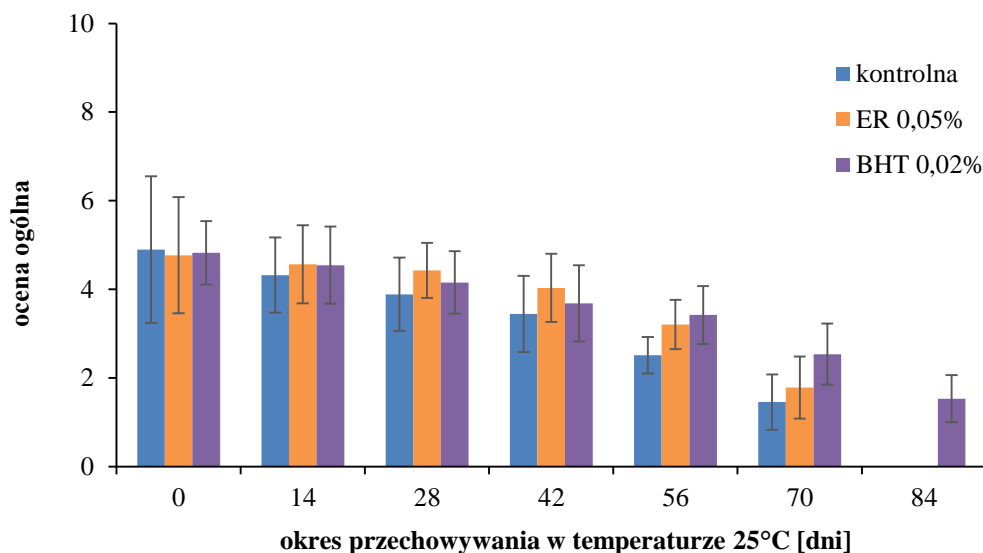
Przeprowadzony test post-hoc wykazał, że w 56 dniu przechowywania próbki oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu i BHT charakteryzowały się istotnie niższą intensywnością smaku gorzkiego niż próbka kontrolna przy $\alpha=0,05$. W 70 dniu przechowywania tylko próbka z dodatkiem przeciwutleniacza syntetycznego wykazywała istotnie niższą gorzkość w porównaniu do próbki kontrolnej i z ER.

Na podstawie przeprowadzonych badań i analiz statystycznych można stwierdzić pozytywny wpływ dodatku przeciwutleniacza na obniżenie intensywności smaku gorzkiego w pewnych okresach prowadzenia eksperymentu w warunkach półki sklepowej.

Ocena ogólna wszystkich próbek istotnie spadała w trakcie przechowywania w warunkach półki sklepowej (wykres 52). Najsilniejszy spadek zaobserwowano dla próbki kontrolnej, dla której ocena ogólna po 70 dniach przechowywania wyniosła 1,5 w skali 0-10 (początkowa ocena na poziomie 4,9). Równie niską ocenę ogólną na końcu okresu inkubacji osiągnęła próbka oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu (1,8). Jednakże próbka ta

wykazywała nieco wyższą ocenę we wcześniejszych tygodniach przechowywania. Spadek oceny ogólnej był zapewne związany ze wzrostem intensywności smaku gorzkiego.

Wykres 52. Ocena ogólna oleju lnianego z przeciwutleniaczami przechowywanego w warunkach półki sklepowej



* oznaczenia jak w tabeli 44

Ocena ogólna próbki z dodatkiem BHT była istotnie wyższa od oceny ogólnej próbki kontrolnej i ER 0,05% po 70 dniach przechowywania i wynosiła 2,5. Na końcu okresu przechowywania osiągnęła poziom 1,5, czyli ponad trzykrotnie niższy niż na początku badania.

Tabela 47. Analiza korelacji między badanymi wyróżnikami sensorycznymi olejów lnianych z dodatkiem i bez przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach półki sklepowej

| | nuta orzechowa | nuta jełka | nuta trawiasta | smak gorzki | ocena ogólna |
|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|--------------|
| nuta orzechowa | 1 | | | | |
| nuta jełka | -0,617 | 1 | | | |
| nuta trawiasta | -0,749 | 0,875 | 1 | | |
| smak gorzki | -0,755 | 0,868 | 0,843 | 1 | |
| ocena ogólna | 0,703 | -0,912 | -0,849 | -0,990 | 1 |

pogrubiono wartości $r^2 > 0,700$

Przeprowadzona analiza korelacji pozwoliła określić, w jaki sposób powiązane są ze sobą badane wyróżniki sensoryczne (tabela 47). Zaobserwowano bardzo silną ujemną korelację między intensywnością smaku gorzkiego i oceną ogólną próbek podczas całego

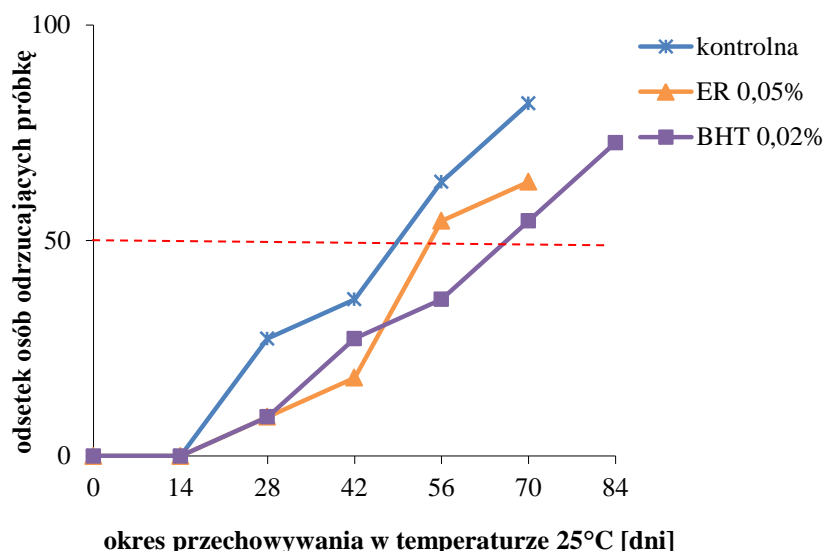
okresu przechowywania ($r=-0,990$), a także między intensywnością nuty jełkiej i oceną ogólną olejów ($r=-0,912$). Ponadto, wraz ze wzrostem odczuwalnej jełkości próbek, następował wzrost intensywności nuty trawiastej ($r=0,875$) oraz gorzkości ($r=0,868$).

Ocena ogólna olejów była ujemnie skorelowana z nutą jełką, trawiastą oraz smakiem gorzkim. Natomiast dodatnia korelacja wystąpiła w przypadku oceny ogólnej i nuty orzechowej, co oznacza że w trakcie przechowywania następował wzrost zarówno intensywności nuty orzechowej, jak i oceny ogólnej.

Decyzję o usunięciu próbki z badania podejmowano na podstawie odpowiedzi oceniających na pytanie, czy wyczuwalny poziom gorzkości w danej próbce stanowi podstawę do jej odrzucenia. W sytuacji, kiedy podczas dwóch sesji ponad 50% uczestników panelu dało odpowiedź pozytywną, próbkę wykluczano z badań. Na tej podstawie wykreślono krzywe zależności odsetku osób z zespołu oceniającego odrzucających próbkę ze względu na gorzkość od czasu jej przechowywania (wykres 53).

Uzyskane wyniki pozwoliły wysunąć wniosek na temat trwałości próbek oleju lnianego przechowywanego w warunkach temperatury pokojowej do czasu otwarcia biorąc pod uwagę gorzkość jako kluczowy wyróżnik w ocenie jakości oleju lnianego. Najwyższą trwałość w temperaturze pokojowej wykazał olej lniany z dodatkiem 0,02% BHT (84 dni). Natomiast próbka kontrolna oraz próbka z dodatkiem 0,05% ekstraktu z rozmarynu wykazały niższą trwałość, wynoszącą 70 dni.

Wykres 53. Odsetek osób w zespole oceniającym odrzucających ze względu na gorzkość próbki oleju lnianego z dodatkiem i bez przeciwutleniacza (warunki półki sklepowej)



*oznaczenia jak w tabeli 44

Można więc stwierdzić, że dodatek przeciwutleniacza syntetycznego, biorąc pod uwagę gorzkość, zwiększył trwałość oleju lnianego o 14 dni w stosunku do próby kontrolnej przechowywanej w warunkach półki sklepowej. Natomiast dodatek ekstraktu z rozmarynu, mimo iż w trakcie przechowywania próbka ER 0,05% okresowo wykazywała najniższy poziom intensywności smaku gorzkiego, w efekcie nie wydłużył okresu akceptowalności oleju lnianego tłoczonego na zimno składowanego w temperaturze pokojowej.

W badaniach opublikowanych przez Mińkowskiego w 2005 roku [2005] dodatek do oleju lnianego mieszaniny α - tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej w ilości 150 mg/kg wydłużył termin przydatności do spożycia w warunkach temperatury pokojowej o 1 miesiąc (z 90 do 120 dni). Wnioski wysunięto na podstawie sensorycznej oceny ogólnej, gdzie limitującym poziomem był spadek poniżej 3 punktów w skali 5 stopniowej. Z kolei w publikacji z 2008 roku [Mińkowski 2008] przedstawiono wyniki dla dwutygodniowego okresu przechowywania w warunkach temperatury pokojowej. Autor stwierdził, że w trakcie pierwszych dwóch tygodni przechowywania w warunkach pokojowych następują najintensywniejsze zmiany oleju lnianego i wykazał pogorszenie smakowitości ogółem. Równoległe gwałtownie wzrastała intensywność smaku gorzkiego. Z kolei nuta utleniona i orzechowa uległa niewielkim zmianom. Autor podsumował, że dodatek przeciwutleniacza (mieszaniny α - tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej w dawce 150 mg/kg) nie ma zauważalnego wpływu ani na cechy fizykochemiczne, ani organoleptyczne oleju lnianego tłoczonego na zimno.

Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na cechy organoleptyczne oleju lnianego przechowywanego w warunkach konsumenckiego użytkowania

Przeprowadzona jednoczynnikowa analiza wariancji wykazała, że w warunkach temperatury chłodniczej następują istotne statystycznie zmiany intensywności ocenianych deskryptorów smakowitości (tabela 48), podobnie jak w przypadku przechowywania próbek w temperaturze pokojowej.

Analiza regresji (przy poziomie ufności $\alpha=0,05$) pozwoliła wnioskować na temat trendu zmian w intensywności poszczególnych wyróżników organoleptycznych (tabela 49). Model regresji liniowej został dobrze dopasowany ($R^2>0,500$) w przypadku nuty utlenionej, smaku gorzkiego oraz w przypadku oceny ogólnej dla próbki kontrolnej, co pozwala wykorzystać analizę regresji do prognozowania zmian intensywności wybranych deskryptorów organoleptycznych oleju lnianego. Stwierdzono ujemny trend zmian oceny ogólnej oraz rosnącą dynamikę zmian intensywności nuty utlenionej i smaku gorzkiego.

Zgodnie z przewidywaniami dynamika niekorzystnych zmian cech organoleptycznych była niższa podczas przechowywania próbek w warunkach chłodniczych.

Tabela 48. Istotność zmian intensywności poszczególnych deskryptorów oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania - jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA)

| wyróżnik | próbka | statystyka F | df ₁ | df ₂ | istotność |
|----------------|-----------|--------------|-----------------|-----------------|--------------|
| nuta orzechowa | kontrolna | 7,38 | 90 | 8 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 10,05 | 90 | 8 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 13,47 | 110 | 10 | 0,000 |
| nuta jelka | kontrolna | 16,10 | 90 | 8 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 15,30 | 90 | 8 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 15,75 | 110 | 10 | 0,000 |
| nuta trawiasta | kontrolna | 6,58 | 90 | 8 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 18,87 | 90 | 8 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 3,06 | 110 | 10 | 0,002 |
| smak gorzki | kontrolna | 80,37 | 90 | 8 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 57,16 | 90 | 8 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 61,12 | 110 | 10 | 0,000 |
| ocena ogólna | kontrolna | 12,62 | 90 | 8 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 15,66 | 90 | 8 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 9,88 | 110 | 10 | 0,000 |

pogrubiono istotności <0,05; zmiana istotnie statystyczna

* ER 0,05% - próbka oleju lnianego z 0,05%-owym dodatkiem ekstraktu z rozmarynu;

BHT 0,02% - próbka oleju lnianego z 0,02%-owym dodatkiem butylohydroksytoluenu

Tabela 49. Zależność między intensywnością wyróżnika a czasem inkubacji w dniach (istotność regresji) dla oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanego w warunkach konsumenckiego użytkowania

| wyróżnik | próbka | wartość współczynnika kierunkowego (a)* | wartość wyrazu wolnego (b)* | statystyka F | współczynnik determinacji R ² | istotność regresji |
|----------------|-----------|---|-----------------------------|--------------|--|--------------------|
| nuta utleniona | kontrolna | 0,02 | 1,09 | 120,34 | 0,554 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 0,02 | 0,93 | 123,53 | 0,560 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 0,01 | 1,11 | 150,73 | 0,559 | 0,000 |
| smak gorzki | kontrolna | 0,04 | 1,28 | 464,20 | 0,827 | 0,000 |
| | ER 0,05% | 0,04 | 1,25 | 319,11 | 0,767 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | 0,03 | 1,47 | 522,32 | 0,814 | 0,000 |
| ocena ogólna | kontrolna | -0,03 | 5,04 | 99,37 | 0,506 | 0,000 |
| | ER 0,05% | -0,02 | 5,09 | 88,60 | 0,477 | 0,000 |
| | BHT 0,02% | -0,02 | 5,08 | 87,85 | 0,425 | 0,000 |

pogrubiono R²>0,500, co oznacza dobre dopasowanie modelu:

intensywność wyróżnika = a*czas przechowywania (dni) + b

*oznaczenia jak w tabeli 48

W przypadku nuty orzechowej obserwowano spadek intensywności przez cały okres trwania eksperymentu (tabela 50). Końcowa intensywność osiągnęła wartość 1,0 dla wszystkich próbek, przy czym początkowa wynosiła od 2,4 do 2,6, co oznacza ponad dwukrotny spadek intensywności tego wyróżnika podczas składowania. Dodatek przeciwutleniaczy nie wpłynął istotnie na obserwowany przebieg zmian intensywności nuty orzechowej.

Wzrost intensywności nuty utlenionej w trakcie przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania wynosił średnio 0,01-0,02 punktu intensywności podczas jednego dnia eksperymentu (tabela 49), prowadząc do osiągnięcia 3-krotnie wyższego poziomu po 112 dniach przechowywania. Podobnie, jak w przypadku nuty utlenionej nie stwierdzono istotnego wpływu dodatku ekstraktu z rozmarynu oraz BHT na intensywność tego deskryptora (tabela 50).

Tabela 50. Zmiana intensywności wyróżników organoleptycznych oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanego w warunkach konsumenckiego użytkowania [wartości średnie]

| wyróżnik | próbka | okres przechowywania w 5°C [dni] | | | | | | | | | | | |
|----------------|-----------|----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| | | 0 | 14 | 28 | 42 | 56 | 70 | 84 | 98 | 112 | 126 | 140 | |
| nuta orzechowa | kontrolna | 2,6 | 2,6 | 2,4 | 2,3 | 1,9 | 1,8 | 1,6 | 1,4 | 1,0 | | | |
| | ER 0,05% | 2,4 | 2,4 | 2,2 | 2,4 | 1,6 | 1,5 | 1,4 | 1,2 | 1,0 | | | |
| | BHT 0,02% | 2,6 | 2,7 | 2,6 | 2,7 | 2,3 | 2,1 | 1,9 | 1,5 | 1,3 | 1,2 | 1,0 | |
| nuta utleniona | kontrolna | 0,8 | 1,4 | 1,6 | 1,9 | 2,2 | 2,4 | 2,6 | 2,7 | 2,8 | | | |
| | ER 0,05% | 0,8 | 1,2 | 1,4 | 1,8 | 2,0 | 2,4 | 2,6 | 2,8 | 2,8 | | | |
| | BHT 0,02% | 0,9 | 1,3 | 1,5 | 1,8 | 2,0 | 2,4 | 2,6 | 2,7 | 2,8 | 2,8 | 3,0 | |
| nuta trawiasta | kontrolna | 3,1 | 3,8 | 3,8 | 3,7 | 3,4 | 3,8 | 4,1 | 4,2 | 4,5 | | | |
| | ER 0,05% | 3,2 | 3,7 | 3,9 | 3,7 | 3,4 | 4,1 | 4,7 | 4,9 | 5,0 | | | |
| | BHT 0,02% | 3,2 | 3,4 | 3,7 | 3,7 | 3,6 | 3,8 | 4,2 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,1 | |
| smak gorzki | kontrolna | 1,9 | 2,0 | 2,3 | 2,8 | 3,2 | 3,9 | 5,5 | 5,8 | 6,4 | | | |
| | ER 0,05% | 1,9 | 1,9 | 2,1 | 2,4 | 2,8 | 3,5 | 4,8 | 5,0 | 6,0 | | | |
| | BHT 0,02% | 2,0 | 2,0 | 2,2 | 2,4 | 3,0 | 3,3 | 3,9 | 4,3 | 4,5 | 5,4 | 6,1 | |
| ocena ogólna | kontrolna | 4,9 | 4,5 | 4,3 | 4,2 | 3,9 | 3,5 | 2,8 | 2,5 | 2,0 | | | |
| | ER 0,05% | 4,8 | 4,5 | 4,5 | 4,4 | 4,6 | 3,9 | 3,4 | 2,9 | 2,2 | | | |
| | BHT 0,02% | 4,8 | 4,5 | 4,3 | 4,6 | 4,5 | 4,0 | 3,8 | 3,3 | 2,8 | 2,5 | 2,1 | |

*oznaczenia jak w tabeli 48

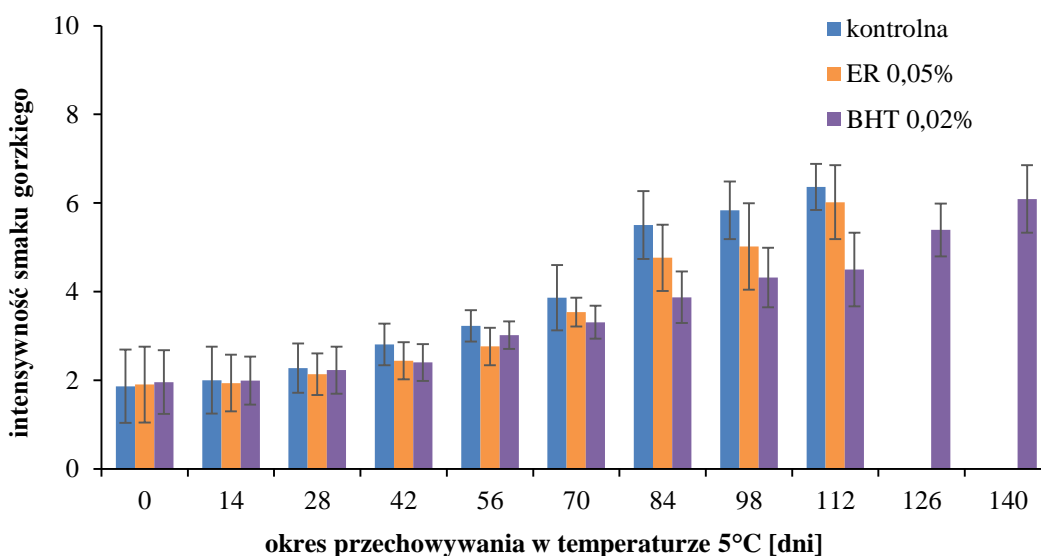
Przebieg zmienności nuty trawiastej był uzależniony od próbki (tabela 50). Najwyższą intensywność na końcu okresu przechowywania stwierdzono dla próbki z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu (5,0), następnie próbki kontrolnej (4,5) a najniższe dla próbki z dodatkiem BHT (4,1). Badania wykazały, że do 56 dnia przechowywania intensywność

nuty trawiastej była zbliżona dla wszystkich próbek. Następnie najwyższy poziom zanotowano w przypadku próbki ER 0,05%. Reasumując, dodatek ekstraktu z rozmarynu mógł mieć wpływ na intensywność nuty trawiastej, która uwypukliła się w trakcie przechowywania.

Również i w warunkach konsumenckiego użytkowania oleju lnianego smak gorzki wykazał największy wzrost intensywności spośród badanych wyróżników smakowości (tabela 49). Po 112 dniach przechowywania próbka kontrolna osiągnęła wartość 6,4 a próbka z dodatkiem ER - 6,0 (tabela 50). Z kolei próbka z dodatkiem BHT wykazała istotnie niższą intensywność smaku gorzkiego po 112 dniach, która wynosiła 4,5 i dopiero około 140 dnia przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania przekroczyła poziom 6 pkt.

Biorąc pod uwagę cały okres przechowywania można zaobserwować, że próbka oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu w 56 dniu inkubacji w temperaturze 5°C wykazywała najniższą intensywność smaku gorzkiego spośród badanych próbek (wykres 54). Może to oznaczać, że zastosowany dodatek okresowo opóźnił pojawiającą się gorzkość. Jednakże w kolejnych tygodniach przechowywania intensywność ta wzrosła i była wyższa niż w przypadku próbki oleju lnianego z dodatkiem BHT. Silniejszy wzrost gorzkości w przypadku próbki ER 0,05% przebiegał równoległe z nasilonym wzrostem intensywności nuty trawiastej. Stwierdzono wysoką korelację ($r=0,923$) między nutą trawiastą i smakiem gorzkim dla próbki ER 0,05%.

Wykres 54. Intensywność smaku gorzkiego w oleju lnianym z przeciwutleniaczami przechowywanym w warunkach konsumenckiego użytkowania



*oznaczenia jak w tabeli 48

Przeprowadzony test post-hoc wykazał, że od 70 dnia przechowywania próbka z dodatkiem BHT wykazała istotnie niższą intensywność smaku gorzkiego niż próbka kontrolna przy $\alpha=0,05$. Biorąc po uwagę powyższe, można stwierdzić pozytywny wpływ dodatku tego przeciwutleniacza na obniżenie intensywności smaku gorzkiego w pewnych okresach eksperymentu prowadzonego w warunkach konsumenckiego użytkowania.

Przeprowadzona analiza korelacji pozwoliła określić, że wszystkie badane wyróżniki sensoryczne są wzajemnie silnie skorelowane (tabela 51). Najsilniejszą ujemną korelację stwierdzono między intensywnością smaku gorzkiego i oceną ogólną podczas całego okresu przechowywania ($r=-0,975$), a także między intensywnością nuty orzechowej i smaku gorzkiego ($r=-0,926$). Z kolei, najsilniejszą dodatnią korelację ($r=0,900$) zaobserwowano między intensywnością nuty jełkiej i smaku gorzkiego oraz intensywnością nuty orzechowej i oceny ogólnej próbek.

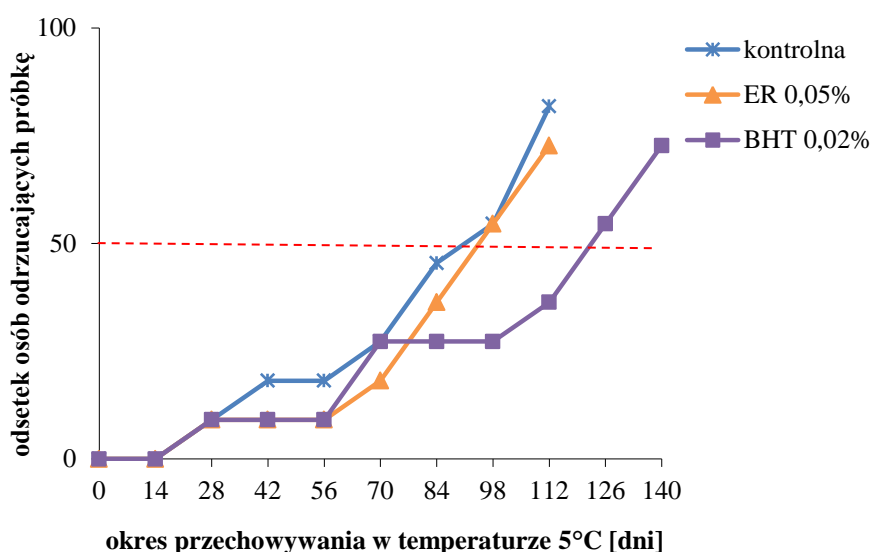
Tabela 51. Analiza korelacji między badanymi wyróżnikami sensorycznymi olejów lnianych z dodatkiem i bez przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania

| | nuta orzechowa | nuta jełka | nuta trawiasta | smak gorzki | ocena ogólna |
|----------------|-----------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|
| nuta orzechowa | 1 | | | | |
| nuta jełka | -0,890 | 1 | | | |
| nuta trawiasta | -0,743 | 0,743 | 1 | | |
| smak gorzki | -0,926 | 0,900 | 0,768 | 1 | |
| ocena ogólna | 0,900 | -0,868 | -0,765 | -0,975 | 1 |

Procent oceniających odrzucających daną próbkę ze względu na nieakceptowaną intensywność smaku gorzkiego zmieniał się trakcie przechowywania (wykres 55). Po 112 dniach składowania usunięto z dalszych badań próbkę kontrolną oraz próbkę z dodatkiem ER, gdyż w dwóch kolejnych sesjach ponad połowa oceniających nie zaakceptowała ich poziomu gorzkości. W 140 dniu eksperymentu podjęto decyzję o odrzuceniu próbki z dodatkiem BHT.

Podsumowując, przeprowadzone badania symulujące konsumenckie użytkowanie pozwoliły stwierdzić, że dodatek przeciwutleniacza syntetycznego zwiększył trwałość oleju, ocenianą na podstawie gorzkości, o 28 dni w stosunku do próby kontrolnej w trakcie przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania. Natomiast dodatek ekstraktu z rozmarynu, mimo iż w trakcie przechowywania okresowo wpływał na obniżenie poziomu intensywności smaku gorzkiego, w efekcie nie zwiększył trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno przechowywanego w tych warunkach.

Wykres 55. Odsetek osób w zespole oceniającym odrzucających ze względu na gorzkość próbki oleju lnianego z dodatkiem i bez przeciwutleniacza (warunki konsumenckiego użytkowania)



*oznaczenia jak w tabeli 48

Z uwagi na zastosowanie specyficznego, w literaturze rzadko spotykanego wariantu przechowywania (konsumenckie użytkowanie) porównanie otrzymanych wyników jest utrudnione. Mińkowski [2008] w swoich badaniach zastosował przechowywanie oleju lnianego z dodatkiem mieszaniny α - tokoferolu, palmitynianu askorbylu i lecytyny sojowej w ilości 150 mg/kg w warunkach chłodniczych przez 16 tygodni (bez regularnego otwierania). Po 2 tygodniach składowania olej wykazywał nieco obniżoną ocenę smakowitości ogółem, ale równocześnie wyraźnie wzrastała intensywność smaku gorzkiego. W późniejszym okresie intensywność smaku gorzkiego obniżała się, ale w końcowym okresie składowania była nadal wyraźnie wyczuwalna. Autor podsumował, że w trakcie całego 16 tygodniowego okresu przechowywania olej z dodatkiem przeciwutleniacza zachowywał się pod względem zmian intensywności i pożądalności poszczególnych nut smakowych w sposób zbliżony do próby kontrolnej. Jednocześnie nie następowały, ani w przypadku próbki kontrolnej ani z dodatkiem przeciwutleniacza, znaczące zmiany wyróżników fizykochemicznych.

Prowadzenie eksperymentu w ramach niniejszej pracy w warunkach półki sklepowej miało na celu określenie możliwości umieszczenia oleju lnianego tłoczonego na zimno w punkcie sprzedaży bez utrzymywania go w warunkach chłodniczych. Z kolei wariant przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania obrazował praktyczne

stosowanie oleju lnianego przez konsumentów przy zachowaniu najczęściej zalecanych warunków składowania. Zaobserwowano istotny wpływ warunków przechowywania na zachowanie odpowiednich cech organoleptycznych olejów lnianych tłoczonych na zimno. Mimo, iż podczas składowania w temperaturze chłodniczej próbki narażone były na zwiększony dostęp tlenu na skutek regularnego otwierania, to niższa temperatura przechowywania oraz brak dostępu energii świetlnej pozwoliły na dłuższe zachowanie wysokiej jakości oleju mierzonej akceptowalnością gorzkości.

8. Podsumowanie wyników i wnioski

Zainteresowanie konsumentów naturalnymi produktami żywnościowymi o wysokich właściwościach prozdrowotnych sprzyja rozwojowi segmentu olejów roślinnych tłoczonych na zimno. Spośród olejów jadalnych, olej lniany jest najbogatszym źródłem kwasu α -linolenowego. Ponadto zawiera on wiele cennych prozdrowotnych składników, takich jak tokoferole (głównie izomer γ), plastochromanol-8, tokotrienole (głównie izomer α oraz γ), które wykazują właściwości przeciwutleniające. Olej lniany jest jednym z produktów tradycyjnych w województwie wielkopolskim. Ponadto, na terenie Wielkopolski zlokalizowanych jest najwięcej firm zajmujących się tłoczeniem oleju lnianego, co skutkuje silnym powiązaniem z regionem.

Istotnym ograniczeniem komercjalizacji oleju lnianego tłoczonego na zimno na szeroką skalę jest jego niska trwałość. Niekorzystne procesy oksydacyjne mogą prowadzić do zmniejszenia wartości odżywczej, utraty akceptowalności sensorycznej i powstawania substancji toksycznych dla zdrowia. W przypadku oleju lnianego największym problemem zdaje się być narastająca gorzkość, która rzutuje na spadek oceny ogólnej oleju. Mechanizm powstawania smaku gorzkiego nie jest do końca wyjaśniony, jednakże najprawdopodobniej jest on związany z procesami utleniania.

Jednym ze sposobów ograniczania zmian oksydacyjnych w żywności jest stosowanie przeciwutleniaczy. Powszechna akceptacja produktów pochodzenia naturalnego znajduje odzwierciedlenie w pozyskiwaniu i poszukiwaniu możliwości skutecznego zastosowania antyoksydantów z surowców roślinnych. Jednakże efekty zastosowania przeciwutleniaczy w żywności (olejach) są wielokrotnie odmienne od przewidywanych. Wynika to z faktu, że żywność stanowi skomplikowaną matrycę, a z kolei ekstrakty roślinne są źródłem wielu substancji o różnorodnym kierunku i mechanizmie działania.

W pracy podjęto próbę oceny skuteczności dodatku substancji o właściwościach przeciwutleniających w przedłużeniu trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno. Pierwszy etap pracy był diagnozą stanu faktycznego i obejmował badanie zmian zachodzących w 6 olejach lnianych pochodzących z olejarni zlokalizowanych na terenie Wielkopolski oraz olejach: rzepakowym, z pestek dyni, z orzecha włoskiego i słonecznikowym podczas przechowywania w warunkach praktycznego składowania. Świeżo wytłoczone oleje charakteryzowały się dobrą jakością w zakresie oznaczanych parametrów fizykochemicznych,

z wyjątkiem oleju słonecznikowego, w którym stwierdzono przekroczenie dopuszczalnego poziomu zawartości wolnych kwasów tłuszczowych.

Przechowywanie olejów w warunkach półki sklepowej (w temperaturze pokojowej przed pierwszym otwarciem) oraz w warunkach konsumenckiego użytkowania (w temperaturze chłodniczej po pierwszym otwarciu, z regularnym otwieraniem i wylewaniem) w zróżnicowany sposób wpłynęło na zasięg zmian jakościowych próbek olejów. Zawartość pierwotnych produktów oksydacji w próbkach olejów lnianych kształtowała się na niskim poziomie przez cały okres przechowywania w obydwu wariantach przechowalniczych i nie przekroczyła poziomu 4,2 milirównoważników tlenu na kilogram oleju. Nie stwierdzono intensywnego wzrostu wtórnych produktów utleniania w olejach lnianych, co zapewne wynikało z niskiej zawartości nadtlenków i wodoronadtlenków.

Z kolei w olejach innych niż lniane stwierdzono intensywny wzrost pierwotnych produktów utleniania i przekroczenie granicznego poziomu 15 meq O₂/kg oleju podczas składowania. Podobnie, w przypadku oleju z pestek dyni przechowywanym w warunkach temperatury chłodniczej zaobserwowano przekroczenie zalecanej wartości liczby anizydynowej ($LA \leq 2$), co świadczy o znacznym pogorszeniu jakości tego oleju. Tempo przyrostu pierwotnych produktów utleniania w olejach przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania było dużo niższe niż w olejach składowanych w warunkach półki sklepowej.

Profil smakowitości oraz ocena ogólna olejów lnianych w trakcie składowania w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania uległa istotnym zmianom. Stwierdzono spadek intensywności nuty orzechowej i oceny ogólnej oraz wzrost intensywności nuty jełkiej i smaku gorzkiego we wszystkich olejach lnianych. Natomiast intensywność nuty trawiastej zmieniała się w trakcie przechowywania w różnym stopniu i kierunku w zależności od próbki. Wyczuwalność smaku gorzkiego uległa najintensywniejszym zmianom w porównaniu z innymi badanymi wyróżnikami w trakcie składowania w obydwu warunkach przechowalniczych. Smak gorzki był najsilniej ujemnie skorelowany z oceną ogólną olejów.

Biorąc pod uwagę gorzkość jako kluczowy wyróżnik w ocenie jakości olejów lnianych próbki wykazały zróżnicowaną trwałość wynoszącą od 28 dni do 84 dni dla próbek przechowywanych w warunkach temperatury pokojowej. Natomiast dla olejów składowanych w temperaturze chłodniczej okres akceptowalnego poziomu gorzkości był dłuższy i wynosił od 42 dni do 112 dni. Zgodnie z przewidywaniem mniej trwałe okazały się oleje lniane

o wysokiej zawartości oleju α -linolenowego. Najwyższą trwałość, wyrażoną jako najdłuższej akceptowalnej poziom gorzkości, wykazał olej o niskiej zawartości kwasu α -linolenowego.

Wyniki powyższych badań pozwoliły zweryfikować pierwszą hipotezę mówiącą o tym, że parametry fizykochemiczne świadczące o stabilności oksydacyjnej nie są wystarczającym wyróżnikiem przy określaniu przydatności do spożycia oleju lnianego tłoczonego na zimno. Zastosowanie analizy sensorycznej zdaje się być w tym przypadku kluczowe.

Zgodnie z wnioskami Brühla i in. [2008] gorzknienie oleju lnianego uwarunkowane jest oksydacją metioniny zawartej w cyklolinopeptydzie E. Z uwagi, że dynamika zmian intensywności smaku gorzkiego w próbkach o wysokiej zawartości kwasu α -linolenowego, była wyższa niż w próbce bogatszej w kwas linolowy, można przypuszczać, że niekorzystne zmiany cech organoleptycznych były związane z obecnością kwasu α -linolenowego. Z uwagi na właściwości schnące olejów lnianych zasięg zmian oksydacyjnych nie ujawnia się w oznaczanych parametrach fizykochemicznych (LOO, LA). Dlatego też jednym ze sposobów zniwelowania lub opóźnienia powstawania gorzkości mogłoby być zastosowanie przeciwutleniacza, który zapobiegałby oksydacji kwasów tłuszczowych, a co za tym idzie utlenianiu cyklolinopeptydów.

W drugim etapie badań oceniono skuteczność wybranych przeciwutleniaczy w opóźnianiu zmian jakościowych oleju lnianego tłoczonego na zimno stosując testy przyspieszonego starzenia. Zastosowano dodatek olejów tłoczonych na zimno o oznaczonej wysokiej aktywności przeciwutleniającej, ekstraktów z wytłoków nasion roślin oleistych (lnu, wiesiołka, czarnuszki siewnej) oraz ekstraktu z rozmarynu w różnych stężeniach.

Ocena aktywności przeciwutleniającej oleju rzepakowego, lnianego, z pestek dyni, z orzecha włoskiego, z wiesiołka i z czarnuszki siewnej wykazała, że istotnie najwyższą pojemność przeciwutleniającą frakcji polarnej i apolarnej olejów posiadał olej z czarnuszki siewnej i wiesiołka i te oleje zostały wykorzystane do przygotowania eksperymentalnych mieszanek olejowych. Dodatek do oleju lnianego jedynie oleju z wiesiołka spowodował znaczący wzrost zawartości nadtlenków oraz związków karbonylowych w stosunku do próbki kontrolnej w całym okresie przechowywania, co oznacza spadek stabilności oksydacyjnej oleju lnianego. Stwierdzono niekorzystną dodatnią korelację między zawartością oleju z wiesiołka w mieszaninie a zawartością pierwotnych i wtórnych produktów utleniania w próbce. Natomiast odwrotny efekt przyniósł jednoczesny dodatek oleju z wiesiołka oraz oleju z czarnuszki siewnej do oleju lnianego, który spowodował podwyższenie stabilności oksydacyjnej oleju lnianego wyrażonej za pomocą wskaźnika TOTOX. Wyższa stabilność

oksydatywna trójskładnikowych mieszanek w stosunku do czystego oleju lnianego mogła być spowodowana dostarczeniem przez olej z czarnuszki siewnej związków o działaniu przeciwutleniającym. Olej ten charakteryzował się wysoką aktywnością przeciwutleniającą w porównaniu z innymi olejami tłoczonymi na zimno.

Spośród wykorzystanych w pracy ekstraktów z wycieków nasion roślin oleistych największą ilość związków fenolowych, najwyższą zdolność redukcji jonów Fe^{3+} oraz aktywność przeciwrodnikową wykazał etanolowy ekstrakt z wycieków z nasion wiesiołka. Jednakże, podczas inkubacji z olejem lnianym, ekstrakt ten, w dwóch wariantach stężeń, podobnie jak ekstrakty z czarnuszki, wykazał działanie prooksydacyjne. W warunkach przeprowadzonego doświadczenia tylko dodatki ekstraktów z wycieków nasion lnu w ilości 0,1 i 0,2% oraz z wycieków nasion wiesiołka (0,1%) obniżyły stopień utlenienia próbek oleju lnianego, wyrażony wartością TOTOX po 21 dniach inkubacji. Prooksydacyjne działanie ekstraktów mogło być spowodowane przekroczeniem optymalnego stężenia przeciwutleniaczy w układzie. Liczne prace naukowe dowodzą bowiem, iż przeciwutleniacze są skuteczne jedynie w określonym, charakterystycznym dla siebie zakresie stężeń.

Przeprowadzone badania potwierdziły wysokie właściwości przeciwutleniające ekstraktu z rozmarynu. Dodatek ekstraktu z rozmarynu, jak i BHT do oleju lnianego istotnie zahamował zasięg pierwotnych i wtórnych zmian oksydacyjnych oleju, a efekt ochronny uwarunkowany był rodzajem i stężeniem przeciwutleniacza. Ekstrakt z rozmarynu zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 roku zmieniającym rozporządzenie w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych może być stosowany w olejach roślinnych w określonej ilości (maksymalnie dopuszczalne stężenie stosowanego ekstraktu wynosi 0,05% w stosunku do masy oleju).

Badania przeprowadzone w warunkach przyspieszonego starzenia pozwoliły dokonać wyboru najefektywniejszych substancji o działaniu przeciwutleniającym i dalszym analizom poddano mieszanki oleju lnianego, oleju z wiesiołka i oleju z czarnuszki siewnej, próbki oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu oraz dla porównania z dodatkiem BHT. Z uwagi na fakt, że akceptacja konsumencka przy wprowadzaniu na rynek nowych lub wzbogaconych produktów jest kluczowa, poszukuje się produktów o wysokich walorach sensorycznych. Konsumencka ocena pożądalności zapachu i smaku eksperymentalnych mieszanek olejowych wykazała, że dodatek oleju z czarnuszki siewnej i oleju z wiesiołka obniżał pożądalność oleju lnianego. Olej z czarnuszki siewnej charakteryzował się ostrym, drażniącym zapachem i silnie ziołowym smakiem. Mimo, iż olej ten był zastosowany w niewielkich ilościach (1-5%), zdominował aromat charakterystyczny dla oleju lnianego. Dodatek oleju z wiesiołka nie

złagodził charakterystycznej nuty trawiastej oleju lnianego ani nuty ziołowej oleju z czarnuszki siewnej.

Metoda porównywania parami wykazała, że dodatek ekstraktu z rozmarynu oraz BHT do oleju lnianego nie powoduje istotnych zmian w zakresie smaku, dlatego też te próbki wykorzystano w kolejnych badaniach aplikacyjnych prowadzonych w warunkach praktycznego składowania. Podczas przechowywania w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania nastąpiły jedynie niewielkie zmiany w zakresie cech fizykochemicznych, wartości których nie przekroczyły dopuszczalnych poziomów (ponowne potwierdzenie hipotezy 1). Nie stwierdzono istotnego wpływu substancji o właściwościach przeciwutleniających na oznaczoną zawartość nadtlenków oraz związków karbonylowych w porównaniu z próbką oleju lnianego bez dodatku przeciwutleniaczy.

Równolegle przeprowadzona analiza sensoryczna próbek oleju lnianego z i bez dodatku przeciwutleniaczy wykazała ujemny trend zmian w zakresie nuty orzechowej oraz oceny ogólnej oraz wzrost intensywności smaku gorzkiego, jak również nuty utlenionej, trawiastej podczas składowania w warunkach praktycznego składowania. Stwierdzono zróżnicowany wpływ dodatku przeciwutleniaczy na obniżenie intensywności smaku gorzkiego podczas trwania eksperymentu. Dodatek ekstraktu z rozmarynu do oleju lnianego przechowywanego w temperaturze 25°C istotnie obniżył odczuwaną gorzkość między 14 a 46 dniem inkubacji. Z kolei, podczas przechowywania w warunkach chłodniczych w 56 dniu inkubacji próbka ta wykazywała najniższą intensywność smaku gorzkiego spośród badanych wariantów. Jednakże w kolejnych tygodniach przechowywania w obydwu warunkach intensywność ta wzrastała i była istotnie wyższa niż próbki z dodatkiem BHT. Silniejszy wzrost intensywności smaku gorzkiego próbki z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu może być wynikiem wybicia się z kompozycji smakowej naturalnego ziołowego posmaku ekstraktu z rozmarynu, który ujawnił się dopiero w trakcie przechowywania i spowodował wzrost intensywności zarówno smaku gorzkiego, jak i nuty trawiastej (wysoka dodatnia korelacja nuty trawiastej i smaku gorzkiego próbki z dodatkiem ER). Mimo iż w trakcie przechowywania dodatek ekstraktu z rozmarynu okresowo spowodował obniżenie intensywności gorzkości, w efekcie nie wydłużył trwałości oleju lnianego tłoczonego na zimno przechowywanego w warunkach praktycznego składowania.

Dodatek przeciwutleniacza syntetycznego (BHT) do oleju lnianego spowodował okresowe obniżenie intensywności smaku gorzkiego oraz wydłużenie trwałości próbki biorąc pod uwagę gorzkość jako czynnik limitujący trwałość oleju. W warunkach półki sklepowej

dodatek 0,02% BHT wydłużył trwałości oleju lnianego o 14 dni, natomiast w warunkach konsumenckiego użytkowania o 28 dni w stosunku do próbki kontrolnej.

Uzyskane wyniki pozwoliły pozytywnie zweryfikować drugą hipotezę mówiącą o tym, że trwałość oleju lnianego tłoczonego na zimno może być podwyższona poprzez dodatek odpowiednich substancji o właściwościach przeciwutleniających. Zostało to potwierdzone zarówno w badaniach przyspieszonego starzenia, jak i praktycznego składowania dla wybranych substancji.

Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. W próbkach olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej oraz w warunkach konsumenckiego użytkowania przez okres odpowiednio 84 oraz 112 dni nie stwierdzono intensywnego przebiegu zmian oksydacyjnych mierzonych zawartością pierwotnych i wtórnych produktów utleniania, natomiast zaobserwowano istotne zmiany profilu smakowości oraz oceny ogólnej próbek. Stwierdzono spadek intensywności nuty orzechowej i oceny ogólnej oraz wzrost intensywności smaku gorzkiego i nuty jełkiej we wszystkich próbkach.
2. Intensywność smaku gorzkiego olejów lnianych podczas przechowywania uległa najbardziej znaczącym zmianom w porównaniu z innymi badanymi wyróżnikami. Smak gorzki był najsilniej ujemnie skorelowany z oceną ogólną olejów, dlatego w niniejszej pracy został przyjęty jako czynnik limitujący trwałość oleju lnianego.
3. Trwałość poszczególnych olejów lnianych była zróżnicowana i uzależniona od warunków przechowywania, rodzaju i pochodzenia oleju. Olej o niskiej zawartości kwasu α -linolenowego wykazał najwyższą trwałość wyrażoną najdłużej akceptowalnym poziomem gorzkości w obydwu zastosowanych warunkach przechowywania.
4. Badane oleje roślinne tłoczone na zimno i ekstrakty z wycieków nasion roślin oleistych oraz z rozmarynu wykazały zróżnicowaną aktywność przeciwutleniającą w testach modelowych. Natomiast ich dodatek do oleju lnianego opóźniał zmiany oksydacyjne tylko w wybranych przypadkach i uzależniony był od zastosowanego stężenia. Najwyższą efektywnością ochronną, mierzoną wartością współczynnika ochronnego $k_{LOO\ 0} / k_{LOO\ p}$, charakteryzowała się mieszanka olejowa składająca się z oleju lnianego, oleju z wiesiołka i oleju z czarnuszki siewnej (70:28:2, V/V), która jednocześnie nie uzyskiwała zadowalającego poziomu pożądalności konsumenckiej w zakresie zapachu i smaku. Ponadto efekt ochronny wykazał ekstrakt z rozmarynu w ilości 0,1% i 0,05%.

5. Dodatek ekstraktu z rozmarynu w ilości 0,05% oraz dodatek BHT w ilości 0,02% do oleju lnianego nie spowodował istotnych statystycznie zmian w zakresie smaku w porównaniu z próbką oleju lnianego bez dodatku. Natomiast przechowywanie w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania uwidocznilo korzystny wpływ tych substancji na cechy organoleptyczne produktu. Dodatek ekstraktu z rozmarynu okresowo obniżył intensywność smaku gorzkiego. Natomiast dodatek BHT opóźnił osiągnięcie nieakceptowanego poziomu gorzkości i tym samym wydłużył trwałość oleju lnianego o 14 dni w przypadku składowania w temperaturze pokojowej oraz o 28 dni w warunkach chłodniczych.

Wyznaczenie trwałości oleju lnianego i jej przedłużenie jest skomplikowanym procesem. Przeprowadzone badania mogą stanowić punkt wyjściowy do kolejnych, pogłębionych badań. Planowane jest dalsze poszukiwanie naturalnych substancji o działaniu przeciwutleniającym i ich implementacji w zwiększeniu trwałości oleju lnianego, w szczególności wykorzystanie wytlóków nasion roślin oleistych (ekstraktów, pewnych frakcji ekstraktów) i sprawdzenie ich skuteczności w hamowaniu niekorzystnych zmian cech organoleptycznych oleju lnianego podczas przechowywania.

Innym wartym rozważenia kierunkiem badań nad trwałością oleju lnianego byłaby próba ograniczenia gorzkości na etapie procesu produkcyjnego poprzez obróbkę nasion i modyfikację parametrów tłoczenia. Wskazana byłaby również automatyzacja badań sensorycznych z wykorzystaniem elektronicznego języka, który jak dotąd nie został wykorzystany w ocenie jakości olejów podczas przechowywania.

Literatura

- Aggarwal, B. B., Sundaram, C., Prasad, S. & Kannappan, R. (2010) Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: Its potential against cancer and other chronic diseases. *Biochem. Pharmacol.*, 80, 1613-1631.
- Aladedunye, F., Sosińska, E. & Przybylski, R. (2013) Flaxseed cyclolinopeptides: analysis and storage stability. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 90, 3, 419-428.
- Alu'datt, M. H., Rababah, T., Ereifej, K. & Alli, I. (2013) Distribution, antioxidant and characterisation of phenolic compounds in soybeans, flaxseed and olives. *Food Chem.*, 139, 93-99.
- Analytik Jena AG manual (2005) Determination of the lipid soluble antioxidative capacity (ACL) of heating oil. *Jena, Germany*.
- Anunziata, A. & Veccio, R. (2011) Functional food development in the European market: A consumer perspective. *Journal of Functional Food*, 3, 223-228.
- Anwar, F., Hussain, A. I., Iqbal, S. & Bhangar, M. I. (2007) Enhancement of the oxidative stability of some vegetable oils by blending with Moringa oleifera oil. *Food Chem.*, 103(4), 1181-1191.
- Anwar, F. & Przybylski, R. (2012) Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 11(3), 293-301.
- Arranz, S., Perez-Jimenez, J. & Saura-Calixto, F. (2008) Antioxidant capacity of walnut (*Juglans regia* L.): contribution of oil and defatted matter. *Eur. Food Res. Technol.*, 227, 425-431.
- Arthur, C. L. & Pawliszyn, J. (1990) Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem.*, 62, 2145-2148.
- Atkinson, C., Lampe, J. W., Scholes, D., Chen, C., Wähälä, K. & Schwartz, S. M. (2006) Lignan and isoflavone excretion in relation to uterine fibroids: a case-control study of young to middle-aged women in the United States. *Am. J. Clin. Nutr.*, 84, 587-593.
- Aubrecht, E., Horacek, M., Gelencser, E. & Dworschak, E. (1998) Investigation of prolamin content of cereals and different plant seeds. *Acta Alimentaria*, 27, 119-125.
- Azadmard-Damirchi, S., Habibi-Nodeh, F., Hesari, J., Nemati, M. & Achachlouei, B. F. (2010) Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. *Food Chem.*, 121(4), 1211-1215.
- Babicz-Zielińska, E. & Zabrocki, R. (2007) Postawy konsumentów wobec prozdrowotnej wartości żywności. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 6(55), 81-89.
- Baraniak, B. M. & Szymanowska, U. (2006) Lipooksygenaza w żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 2(47), 29-45.
- Barceló-Coblijn, G. (2007) Alfa-linolenic acid-enriched diets. A valid strategy to increase n-3 fatty acids levels. *International News on Fats, Oils, and Related Materials INFORM*, 18(11), 719-721.
- Barowicz, T. & Kędzior, W. (2000) Wykorzystanie pełnotłustych nasion lnu oraz zróżnicowanych dawek witaminy E do modyfikacji składu chemicznego i walorów dietetycznych mięsa wieprzowego. *Zesz. Nauk. Przeg. Hod.*, 48, 161-174.

- Barre, D. E., Griscti, O., Mizier-Barre, K. A. & Hafez, K. (2005) Flaxseed oil and lipoprotein (a) significantly increase bleeding time in type 2 diabetes patients in Cape Breton, Nova Scotia, Canada. *J. Oleo Sci.*, 54(3), 47-354.
- Barrett, A. H., Porter, W. L., Marando, G. & Chinachoti, P. (2011) Effect of various antioxidants, antioxidant levels, and encapsulation on the stability of fish and flaxseed oils: assessment by fluorometric analysis. *J. Food Process. Pres.*, 35, 3, 349-358.
- Bartlett, P. N., Elliott, J. M. & Gardner, J. W. (1997) Electronic noses and their application in the food industry. *Food Technol.*, 51, 44-48.
- Baryłko-Pikielna, N. & Matuszewska, I. (2009) *Sensoryczne badania żywności*, Kraków, Wydawnictwo Naukowe PTTŻ.
- Bastida, S. & Sanchez-Muniz, F. J. (2001) Thermal oxidation of olive oil, sunflower oil and a mix of both oils during forty discontinuous domestic fryings of different foods. *Food Sci. Technol.*, 7, 15-21.
- Belitz, H. D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009) *Food Chemistry*, Berlin Heidelberg, Springer-Verlag
- Bell, A., McSteen, P. M., Cebrat, M., Picur, B. & Siemion, I. Z. (2000) Antimalarial activity of cyclolinopeptide A and its analogues. *Acta Pol. Pharm.*, 57, 481-490.
- Benassayag, C., Perrot-Appianat, M. & Ferre, F. (2002) Phytoestrogens as modulators of steroid action in target cells. *J. Chromatogr. B*, 777, 233-248.
- Benzie, I. & Strain, J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239, 70-76.
- Bera, D., Lahiri, D. & Nag, A. (2006) Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *J. Food Eng.*, 74, 542-545.
- Berdahl, D. R., Nahas, R. I. & Barren, J. P. (2010) Synthetic and natural antioxidant additives in food stabilization: current applications and future research. W: Decker, E. A., Elias, R. J. & McClements, D. J. (Red.) *Oxidation on foods and beverages and antioxidant applications*, Woodhead Publishing Limited.
- Bhatnagar, A. S., Prasanth Kumar, P. K., Hemavathy, J. & Gopala Krishna, A. G. (2009) Fatty acid composition, oxidative stability, and radical scavenging activity of vegetable oil blends with coconut oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 86, 991-999.
- Bilek, E. & Turhan, S. (2009) Enhancement of the nutritional status of beef patties by adding flaxseed flour. *Meat Science*, 82, 472-477.
- Bozan, B. & Temelli, F. (2008) Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technol.*, 99, 6354-6359.
- Bravi, E., Perretti, G., Marconi, O., Patrizi, E. & Fantozzi, P. (2011) Secoisolariciresinol diglucoside determination in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) oil and application to a shelf life study. *Food Chem.*, 126 1553-1558.
- Broadbent, C. J. & Pike, O. A. (2003) Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in canola oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 80, 59-63.
- Brühl, L., Matthäus, B., Fehling, E., Wiege, B., Lehmann, B., Luftmann, H., Bergander, K., Quiroga, K., Scheipers, A., Frank, O. & Hofmann, T. (2007) Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil. *J. Agr. Food Chem.*, 55, 19, 7864-7868.

- Brühl, L., Matthäus, B., Scheipers, A. & Hofmann, T. (2008) Bitter off-taste in stored cold-pressed linseed oil obtained from different varieties. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 110, 625-631.
- Canadian Grain Commission (2001) Nutritional profile of no. 1 Canada Western flaxseed and of yellow flaxseed samples. Winnipeg.
- Carraro, J. C. C., Dantas, M. I. d. S., Espeschit, A. C. R., Martino, H. S. D. & Ribeiro, S. M. R. (2012) Flaxseed and Human Health: Reviewing Benefits and Adverse Effects. *Food Reviews International*, 28, 2, 203-230.
- Carter, J. F. (1993) Potential of flaxseed and flaxseed oil in baked goods and other products in human nutrition. *Cereal Foods World*, 38, 10, 753-759.
- Chmielewski, J., Sikorska, E., Górecki, T., Khmelinskii, I. & Sikorski, M. (2007) Flavour analysis of edible oils by a sensor-array electronic nose. W: Zielinski R. & D., W. (Red.) *Current Trends in Commodity Science, 9th International Commodity Science Conference (IGWT)*. Poznań, Poznań University of Economics Publishing House.
- Choe, E. & Min, D. B. (2005) Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *J. Food Sci.*, 70(1), 42-59.
- Choe, E. & Min, D. B. (2006) Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Compr. Rev. Food Sci. and Food Safety*, 5, 4, 169-186.
- Choe, E. & Min, D. B. (2007) Chemistry of deep-fat frying oils. *J. Food Sci.*, 72, 5, 77-86.
- Choe, E. & Min, D. B. (2009) Mechanisms of antioxidants in the oxidation of foods. *Compr. Rev. Food Sci. and Food Safety*, 8, 4, 345-358.
- Choo, W.-S., Birch, J. & Dufour, J.-P. (2007) Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *J. Food Compos. Anal.*, 20, 202-211.
- Chung, M. W. Y., Lei, B. & Li-Chan, E. C. Y. (2005) Isolation and structural characterization of the major protein fraction from NorMan flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Food Chem.*, 90, 271-279.
- Ciftci, O. N., Przybylski, R. & Rudzińska, M. (2012) Lipid components of flax, perilla, and chia seeds. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.*, 114, 7, 794-800.
- Clavel, T., Borrmann, D., Braune, A., Doré, J. & Blaut, M. (2006) Occurrence and activity of human intestinal bacteria involved in the conversion of dietary lignans. *Anaerobe*, 12, 140-147.
- Cosio, M. S., Ballabio, D., Benedetti, S. & Gigliotti, C. (2007) Evaluation of different storage conditions of extra virgin olive oils with an innovative recognition tool built by means of electronic nose and electronic tongue. *Food Chem.*, 101, 485-491.
- Coskuner, Y. & Karababa, E. (2007) Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *J. Food Eng.*, 78, 1067-1073.
- Czarniecka-Skubina, E. & Janicki, A. (2009) Znakowanie żywności tradycyjnej i ekologicznej. *Przem. Spożywczy*, 63 (7), 11-15.
- Czech, A., Stachyra, K., Ognik, K. & Klebaniuk, R. (2012) Skład i właściwości nasion lnu. W: Czech, A. & Klebaniuk, R. (Red.) *Zastosowanie lnu i inuliny w żywieniu i żywności*, Lublin, Stowarzyszenie Rozwoju Regionalnego i Lokalnego „PROGRESS”.
- Daun, J., Barthet, V., Chornick, T. & Duguid, S. (2003) Structure, composition, and variety development of flaxseed. W: Thompson, L. U., Cunnane, S. C. (Red.) *Flaxseed in Human Nutrition*, Illinois, 2nd. Edn. AOCS Publishing.

- Dawidowicz, A. L. & Olszowy, M. (2013) The importance of solvent type in estimating antioxidant properties of phenolic compounds by ABTS assay. *Eur. Food Res. Technol.*, 236, 1099-1105.
- de Leonardis, A., Macciola, V. & di Rocco, A. (2003) Oxidative stabilization of cold-pressed sunflower oil using phenolic compounds of the same seeds. *J. Sci. Food Agric.*, 83, 523-528.
- de Lorgeril, M. & Salen, P. (2012) New insights into the health effects of dietary saturated and omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids. *BMC Medicine*, 10(50)
- Decker, E. A., Chen, B. & Panya, A. (2010) Understanding antioxidant mechanisms in preventing oxidation in foods. W: Decker, E. A., Elias, R. J. & McClements, D. J. (Red.) *Oxidation on foods and beverages and antioxidant applications*, Woodhead Publishing Limited.
- Delgado, C. & Guinard, J.-X. (2011) How do consumer hedonic ratings for extra virgin olive oil relate to quality ratings by experts and descriptive analysis ratings? *Food Qual. Prefer.*, 22, 213-225.
- Dolde, D., Vlahakis, C. & Hazebrock, J. (1999) Tocopherols in breeding lines and effects of planting location, fatty acid composition and temperature during development. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76, 349-355.
- Drewnowski, A. & Gomez-Carneros, C. (2000) Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *Am. J. Clin. Nutr.*, 72, 6, 1424-1435.
- Dröge, W. (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 82, 1, 47-95.
- Drozdowski, B. (2007) Lipidy. W: Sikorski, Z. E. (Red.) *Chemia żywności, sacharydy, lipidy, białka*, Warszawa, WNT.
- Dubois, V., Breton, S., Linder, M., Fanni, J. & Parmentier, M. (2007) Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109, 710-732.
- Eggermont, E. (2006) Recent advances in vitamin E metabolism and deficiency. *Eur. J. Biochem.*, 165, 429-434.
- Eitenmiller, R. & Lee, J. (2004) *Vitamin E - food chemistry, composition and analysis*, New York, Marcel Dekker.
- Eldin, A. K. (2010) Methods to determine the extent of lipid oxidation in foods. W: Decker, E. A., Elias, R. J. & McClements, D. J. (Red.) *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications*, Woodhead Publishing.
- Erkan, N., Ayranci, G. & Ayranci, E. (2008) Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem.*, 110, 76-82.
- Eskin, N. A. M., McDonald, B. E., Przybylski, R., Malcolmson, L. J., Scarth, R., Mag, T., Ward, K. & Adolph, D. (1996) Canola oil. W: Hui, Y. H. (Red.) *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, New York, John Wiley and Sons.
- Espin, J. C., Soler-Rivas, C. & Wichers, H. J. (2000) Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 648-656.

- Evans, J. C., Kodali, D. R. & Addis, P. B. (2002) Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 79, 47-51.
- Frankel, E., Huang, S., Aeschbach, R. & Prior, E. (1996) Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J. Agr. Food Chem.*, 44, 131-135.
- Frankel, E. N. (1985) Chemistry of autoxidation: mechanism, products and flavor significance. W: Min, D. B. & Smouse, T. H. (Red.) *Flavor Chemistry of Fats and Oils*, Urbana-Champaign, AOCS.
- Frankel, E. N. (1993) In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends Food Sci. Technol.*, 4, 220-225.
- Frankel, E. N. (2005) *Lipid Oxidation*, Scotland, The Oily Press.
- Frega, N., Mozzon, M. & Lercker, G. (1999) Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76 (3), 325-329.
- Gambuś, H. (2005) Nasiona lnu oleistego (*Linum usitatissimum* L.) jako źródło składników odżywczych w chlebie bezglutenowym. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 4 (45) Supl., 61-74.
- Ganorkar, P. M. & Jain, R. K. (2013) Flaxseed – a nutritional punch. *International Food Research Journal*, 20(2), 519-525
- Garden, J. A. (1993) Flaxseed gum: extraction, characterization and functionality. Fargo, North Dakota State University.
- Gimenez, A., Ares, G. & Gambaro, A. (2008) Consumer attitude toward shelf-life labelling: Does it influence acceptance? *J. Sens. Stud.*, 871-883.
- Gliszczyńska-Świgło, A. & Sikorska, E. (2004) Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. *J. Chromatogr. A*, 1048, 195-198.
- Gliszczyńska-Świgło, A., Sikorska, E., Khmelinskii, I. & Sikorski, M. (2007) Tocopherol content in edible plant oils. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 57, 4, 157-161.
- Gordon, M. H. & Magos, P. (1983) The effect of sterols on the oxidation of edible oils. *Food Chem.*, 10, 141-147.
- Górecka, A., Wroniak, M. & Krygier, K. (2003) Wpływ ogrzewania nasion rzepaku na jakość wytłoczonego oleju. *Rośliny Oleiste*, XXIV, 567-576.
- Gramza, A., Korczak, J. & Regula, J. (2007) Use of plant extracts in summer and winter season butter oxidative stability improvement. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 16, 85-88.
- Grechkin, A. (1998) Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway. *Prog. Lipid Res.*, 37 (5), 317-352.
- Griel, A. E., Kris-Etherton, P. M., Hilpert, K. F., Zhao, G., West, S. G. & Corwin, R. L. (2007) An increase in dietary n-3 fatty acids decreases a marker of bone resorption in humans. *Nutr. J.*, 6(2).
- Grillitsch, K. & Daum, G. (2011) Triacylglycerol lipases of the yeast. *Front. Biol.*, 6(3), 219-230.
- Gromadzka, J. & Wardenecki, W. (2008) Dobór optymalnych parametrów metody UV-HS-SPME/GC/FID do oceny stabilności oksydacyjnej olejów roślinnych. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 5(60), 235-247.

- Grunert, K. G. (2005) Food quality and safety: consumer perception and demand. *Eur. Rev. Agric. Econ.*, 32, 369-391.
- Grunert, K. G. (2013) Trends in food choice and nutrition. W: Klopčič, M., Kuipers, A. & Hocquette, J.-H. (Red.) *Consumer attitudes to food quality products*, EAAP – European Federation of Animal Science.
- Grunert, K. G., Scholderer, J., Rogeaux, M. (2011) Determinants of consumer understanding of health claims. *Appetite*, 56, 269-277.
- Grunert, K. G. & Wills, J. M. (2009) Pan-European consumer research on in-store behaviour, understanding and use of nutrition information on food labels, and nutrition knowledge. *EUFIK Forum*, 4
- Gruszka, J., Pawlak, A. & Kruk, J. (2008) Tocochromanols, plastoquinol, and other biological prenyllipids as singlet oxygen quenchers-determination of singlet oxygen quenching rate constants and oxidation products. *Free Radical Bio. Med.*, 45, 920-928.
- Guerrero-Beltrán, J. A., Estrada-Girón, Y., Swanson, B. & Barbosa-Cánovas, G. V. (2009) Pressure and temperature combination for inactivation of soymilk trypsin inhibitors. *Food Chem.*, 16, 676-679.
- Gui, B., Shim, Y. Y. & Reaney, M. J. (2012) Distribution of cyclolinopeptides in flaxseed fractions and products. *J. Agr. Food Chem.*, 60(35), 8580-8589.
- Gutiérrez, C., Rubilar, M., Jara, C., Verdugo, M., Sineiro, J. & Shene, C. (2010) Flaxseed and flaxseed cake as a source of compounds for food industry. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 10 (4), 454-463.
- Gutiérrez Rosales, F., Perdifuerro, S., Gutiérrez, R. & Olias, J. M. (1992) Evaluation of bitter taste in virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 394-395.
- Guzik, B., Appenzeller, D. & Jurek, W. (2005) *Prognozowanie i symulacje, wybrane zagadnienia*, Poznań, Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej w Poznaniu.
- Hao, M. & Beta, T. (2012) Qualitative and quantitative analysis of the major phenolic compounds as antioxidants in barley and flaxseed hulls using HPLC/MS/MS. *J. Sci. Food Agric.*, 92, 2062-2068.
- Harcar, T. & Karakaya, F. (2005) A cross-cultural exploration of attitudes toward product expiration dates. *Psychol. Market.*, 353-371.
- Hedelin, M., Klint, Á., Chang, E. T., Bellocco, R., Johansson, J. E., Andersson, S. O., Heinonen, S. M., Adlercreutz, H., Adami, H. O., Grönberg, H. & Bälter, K. A. (2006) Dietary phytoestrogen, serum enterolactone and risk of prostate cancer: the Cancer Prostate Sweden Study (Sweden). *Cancer Causes Control*, 17, 169-180.
- Heller, K. & Wielgusz, K. (2011) Plonowanie odmiany Inu oleistego Bukoz w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 56, 3, 138-142.
- Heller, K., Wielgusz, M. & Byczyńska, M. (2011) Badania podstawowe i aplikacyjne w zakresie ochrony roślin włóknistych prowadzone w IWNiRZ Poznań. Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich.
- Hermansyah, H., Wijanarko, A., Dianursanti, M. G., Wulan, P. P. D. K., Arbianti, R., Soemantojo, R. W., Utami, T. S., Yuliusman, M. K., Shibasaki-Kitakawa, N. & Yonemoto, T. (2007) Kinetic model for triglyceride hydrolysis using lipase: review. *Makara Seri Teknologi*, 11, 1, 30-35.

- Hettiarachchy, N., Hareland, G., Ostenson, A. & Balder-Shank, G. (1990) Composition of eleven flaxseed varieties grown in North Dakota. *Proceedings of the 53rd Flax Institute*.
- Ho, C.-T. & Shahidi, F. (2005) Flavor components of fats and oils. W: Shahidi, F. (Red.) *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, John Wiley & Sons.
- Hoffmann, M., Świdorski, F., Zalewski, S. & Berger, S. (2002) Frying performance of rapeseed–palm oil blends. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 11, 65-71.
- Hosseinian, F. S., Rowland, G. G., Bhirud, P. R., Dyck, J. H. & Tyler, R. T. (2004) Chemical composition and physicochemical and hydrogenation characteristics of high-palmitic acid solin (low-linolenic acid flaxseed) oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 81, 2, 185-188.
- Hough, G. & Garitta, L. (2012) Methodology for sensory shelf-life estimation: A review. *J. Sens. Studies*, 27, 137-147.
- Hras, A. R., Hadolin, M., Knez, Z. & Bauman, D. (2000) Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chem.*, 71, 229-233.
- Ibrügger, S., Kristensen, M., Mikkelsen, M. S. & Astrup, A. (2012) Flaxseed dietary fiber supplements for suppression of appetite and food intake. *Appetite*, 58, 490-495.
- Institute of Food Science and Technology, Shelf life of foods: guidelines for its determination and prediction
- Jacobsen, C. (2010) Understanding and reducing oxidative flavour deterioration in foods. W: Decker, E. A., Elias, R. J. & McClements, D. J. (Red.) *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications*, Woodhead Publishing Limited.
- Janiszowska, W. (1986) Biosynteza tokoferoli. *Post. Biochem.*, 32, 79-96.
- Jeleń, H. H., Mildner-Szkudlarz, S., Jasińska, I. & Wąsowicz, E. (2007) A headspace-SPME-MS method for monitoring rapeseed oil autooxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 84, 509-517.
- Jeleń, H. H., Obuchowska, M., Zawirska-Wojtasiak, R. & Wąsowicz, E. (2000) Headspace solid-phase microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2360-2367.
- Jenkins, D. J. A., Kendall, C. W. C. & Vidgen, E. (1999) Health aspects of partially defatted flaxseed, including effects on serum lipids, oxidative measures, and ex vivo androgen and progestin activity: A controlled crossover trial. *Am. J. Clin. Nutr.*, 69(3), 395-402.
- Jhala, A. J. & Hall, L. M. (2010) Flax (*Linum usitatissimum* L.): Current Uses and Future Applications. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(9), 4304-4312.
- Juita, Długogorski, B. Z., Kennedy, E. M. & Mackie, J. C. (2012) Identification and quantitation of volatile organic compounds from oxidation of linseed oil. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 51, 5645-5652.
- Juita, Długogorski, B. Z., Kennedy, E. M. & Mackie, J. C. (2012) Low temperature oxidation of linseed oil: a review. *Fire Science Reviews*, 1(3).
- Juita, Długogorski, B. Z., Kennedy, E. M. & Mackie, J. C. (2012) Mechanism of formation of volatile organic compounds from oxidation of linseed oil. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 51, 5653-5661.
- Kamal-Eldin, A. & Yanishlieva, N. (2005) Kinetic analysis of lipid oxidation data. W: Kamal-Eldin, A. & Pokorny, J. (Red.) *Analysis of Lipid Oxidation*, Champaign, IL., AOCS Press.

- Kania, M., Michalak, M., Gogolewski, M. & Hoffmann, A. (2004) Antioxidant potential of substances contained in cold-pressed soybean oil and after each phase of refining process. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 3(1), 113-121.
- Kasperek, M., Małecka, M. & Leszkiewicz, B. (1989) Procesy zachodzące w tłuszczach w czasie przechowywania i obróbki cieplnej. *Zeszyty Naukowe AEP*, 174, 46-58.
- Kędzior, Z. (2003) *Konsument na rynku. Postawy konsumentów wobec produktów*, Katowice, Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej w Katowicach.
- Khan, M. A. & Shahidi, F. (2000) Oxidative stability of stripped and nonstripped borage and evening primrose oils and their emulsions in water. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77, 963-968.
- Kita, A. & Popiela-Kukus, K. (2010) Wpływ dodatku wytlóków lnianych na wybrane właściwości smażonych chrupek ziemniaczanych *Acta Agrophysica*, 16(1), 69-77.
- Kitts, D. D., Yuan, Y. V., Wijewickreme, A. N. & Thompson, L. U. (1999) Antioxidant activity of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglycoside and its mammalian lignan metabolites enterodiol and enterolactone. *Mol. Cell. Biochem.*, 202, 91-100.
- Klensporf-Pawlik, D. & Jeleń, H. (2008) Influence of the addition of raspberry seed extract on changes in the volatile pattern of stored model breakfast cereals. *J. Agric. Food Chem.*, 56(9), 3268-3272.
- Kmiecik, D., Korczak, J., Rudzińska, M., Gramza-Michałowska, A. & Heś, M. (2009) Stabilization of phytosterols in rapeseed oil by natural antioxidants during heating. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 111, 1124-1132.
- Kolanowski, W. (2008) *Dodatkowe źródła kwasów tłuszczowych omega-3 w żywieniu człowieka*, Warszawa, SGGW.
- Kondratowicz-Pietruszka, E. & Ostasz, L. (2000) Quality changes in edible oils at high temperature. Kinetic analysis. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.*, 102, 4, 276-281.
- Kopec, A., Nowacka, E., Piątkowska, E. & Leszczyńska, T. (2011) Charakterystyka i prozdrowotne właściwości steroli roślinnych. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 3(76), 5-4.
- Koski, A., Psomiadou, E., Tsimidou, M., Hopia, A., Kefalas, P., Wahala, K. & Heinonen, M. (2002) Oxidative stability and minor constituents of virgin olive oil and cold-pressed rapeseed oil. *Eur. Food Res. Technol.*, 214(4), 294-298.
- Kowalski, M., Borucka, A. I. & Szaflik, J. (2008) Kwasy Omega-3 w profilaktyce zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem. *Forum Medycyny Rodzinnej*, 3 (2), 309-313.
- Kozłowski, R. (2006) *Poradnik plantatora lnu włóknistego*, Poznań, Instytut Włókien Naturalnych.
- Krist, S., Stuebiger, E., Bail, S. & Unterweger, H. (2006) Analysis of volatile compounds and triacylglycerol composition of fatty seed oil gained from flax and false flax. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 108, 48-60.
- Kruszewski, B., Fąfara, P., Ratusz, K. & Obiedziński, M. (2013) Ocena pojemności przeciwutleniającej i stabilności oksydacyjnej wybranych olejów roślinnych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 572, 43-52.

- Krygier, K., Wroniak, M., Dobczyński, K., Kiełt, I., Grześkiewicz, S. & Obiedziński, M. (1998) Charakterystyka wybranych rynkowych olejów roślinnych tłoczonych na zimno. *Rośliny Oleiste*, XIX, 573-582.
- Krygier, K., Wroniak, M., Grześkiewicz, S., Obiedziński, M. (2000) Badanie wpływu zawartości nasion uszkodzonych na jakość oleju rzepakowego tłoczonego na zimno. *Rośliny Oleiste*, XXI.
- Lawson, H. W. (1985) *Standards for fats and oils*, Westport, Avi Publishing Company.
- Lazzari, M. & Chiantore, O. (1999) Drying and oxidative degradation of linseed oil. *Polym. Degrad. Stabil.*, 65, 303-331.
- Leathwood, P. D., Richardson, D. P., Strater, P., Todd, P. M. & van Trijp, H. C. M. (2007) Consumer understanding of nutrition and health claims: source of evidence. *Brit. J. Nutr.*, 98, 474-484.
- Lucas, E., Lightfoot, S., Hammond, L., Devareddy, L., Khalil, D., Daggy, B., Smith, B., Westcott, N., Mocanu, V., Soung, D. & Arjmandi, B. (2004) Flaxseed reduces plasma cholesterol and atherosclerotic lesion formation in ovariectomized Golden Syrian hamsters. *Atherosclerosis*, 173, 223-229.
- Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J.-J., Parry, J., Gao, J.-M. & Yu, L., F. (2010)atty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 1409-1413.
- Lyman, R. L. & Lepkovsky, S. (1957) The effect of raw soybean meal and trypsin inhibitor diets on pancreatic enzyme secretion in the rat. *J. Nutr.*, 62, 269-284.
- Łaska, B., Myczko, A. & Golimowski, W. (2012) Badanie wydajności prasy ślimakowej i sprawności tłoczenia oleju w warunkach zimowych i letnich. *Problemy inżynierii rolniczej*, 4(78), 163-170.
- Łukaszewicz, M., Szopa, J. & Krasowska, A. (2004) Susceptibility of lipids from different flax cultivars to peroxidation and its lowering by added antioxidants. *Food Chem.*, 88, 225-231.
- Makareviciene, V. & Janulis, P. (1999) Analiza jakości olejów jadalnych oraz obowiązkowe wymagania. *Thuszcze Jadalne*, 34(1-2), 15-32.
- Malcolmson, L. J., Przybylski, R. & Daun, J. (2001) Additional data on the storage stability of milled flaxseed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78(1).
- Malcolmson, L. J., Przybylski, R. & Daun, J. K. (2000) Storage stability of milled flaxseed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77 (3), 235-238.
- Małecka, M. (1996) Przeciwtleniające własności wybranych składników nieglicerydowych olejów roślinnych. *Zeszyty Naukowe AEP - Prace habilitacyjne*, 145.
- Małecka, M. (2002) Antioxidant properties of the unsaponifiable matter isolated from tomato seeds, oat grains and wheat germ oil. *Food Chem.*, 79, 327-330.
- Małecka, M., Rudzińska, M., Pacholek, B. & Wąsowicz, E. (2003) The effect of raspberry, black currant and tomato seeds extracts on oxyphytosterol formation in peanuts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 12, 53, 49-53.
- Maniak, B., Zdybel, B. & Bogdanowicz, M. (2012) Ocena wybranych właściwości fizykochemicznych tradycyjnych olejów roślinnych produkowanych na ziemi lubelskiej. *Inżynieria Rolnicza*, 3(138), 101-107.

- Marangoni, A. G. (2002) Lipases: Structure, function and properties. W: Kuo, T. S. & Gardner, H. W. (Red.) *Lipid Biotechnology*, Marcel Dekker Inc.
- Marciniak-Łukasiak, K. (2011) Rola i znaczenie kwasów tłuszczowych omega-3. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 6(79), 24-35.
- Martín-Polvillo, M., Márquez-Ruiz, G. & Dobarganes, M. C. (2004) Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 81(6), 577-583.
- Maskan, M. (2003) Change in colour and rheological behaviour of sunflower seed oil during frying and after adsorbent treatment of used oil. *Eur. Food Res. Technol.*, 218, 20-25.
- Matthäus, B. (2002) Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3444-3452.
- Matthäus, B. & Brühl, L. (2003) Quality of cold-pressed edible rapeseed oil in Germany. *Food/Nahrung*, 47(6), 413-419.
- Matthäus, B. & Özcan, M. M. (2011) Fatty Acids, tocopherol and sterol contents of some *Nigella* species seed oil. *Czech J. Food Sci.*, 29 (2), 145-150.
- Mazurski, J. (2000) *Podstawy chemometrii*, Gdańsk, Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej.
- Mazza, G. & Biliaderis, C. G. (1989) Functional properties of flax seed mucilage. *J. Food Sci.*, 54, 1302.
- Mazza, G., Biliaderis, C. G. & Oomah, B. D. (1992) Extraction and functional properties of flaxseed gum. *Proc. Flax Inst.*, 54, 84.
- Meilgaard, M., Civille, G. V. & Carr, B. T. (1999) *Sensory evaluation techniques*, Boca Raton, CRC Press.
- Mène-Saffrané, L. & DellaPenna, D. (2010) Biosynthesis, regulation and functions of tocochromanols in plants. *Plant Physiol. Bioch.*, 48, 301-309.
- Metherel, A., Taha, A., Izadi, H. & Stark, K. (2009) The application of ultrasound energy to increase lipid extraction through put of solid matrix samples (flaxseed). *Prostag. Leukotr. Ess.*, 81(5-6), 417-423.
- Michotte, D., Rogez, H., Chirinos, R., Mignolet, E., Campos, D. & Larondelle, Y. (2011) Linseed oil stabilisation with pure natural phenolic compounds. *Food Chem.*, 129, 1228-1231.
- Mildner-Szkudlarz, S., Jeleń, H. H., Zawirska-Wojtasiak, R. & Wąsowicz, E. (2003) Application of headspace solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation *Food Chem.*, 83, 515-522.
- Mildner-Szkudlarz, S., Zawirska-Wojtasiak, R., Korczak, J. & Jeleń, H. H. (2007) A comparison of human and electronic nose response to flavour of various food products of different degree of lipid oxidation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 57(2), 195-202.
- Min, D. B. & Boff, J. M. (2002) Lipid Oxidation of Edible Oil. *Food Lipids*, CRC Press.
- Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi oraz Instytut Technologiczno-Przyrodniczy Wytyczne w zakresie wykorzystania produktów ubocznych oraz zalecanego postępowania z odpadami w rolnictwie i przemyśle rolno-spożywcym,
- Mińkowski, K. (2005) Ocena skuteczności działania przeciwutleniaczy w oleju lnianym i ogórecznikowym na podstawie testu Rancimat i badań przechowalniczych. *Tłuszcze Jadalne*, 40(1-2), 46-59.

- Mińkowski, K. (2008) Studia nad stabilnością oksydacyjną olejów roślinnych bogatych w polienowe kwasy tłuszczowe o budowie trienowej. *Roczniki Instytutu Przemysłu mięsnego i tłuszczowego*, XLVI/4.
- Mińkowski, K., Grześkiewicz, S., Jerzewska, M. & Ropelewska, M. (2010) Charakterystyka składu chemicznego olejów roślinnych o wysokiej zawartości kwasów linolenowych. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość.*, 6(73), 146-157
- Mińkowski, K., Grześkiewicz, S. & Krupska, A. (2012) Zastosowanie metody HS-SPME_GC/FID do wykrywania wczesnych zmian oksydacyjnych oleju lnianego. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość.*, 6 (85), 93-102.
- Mińkowski, K., Zawada, K., Ptasznik, S. & Kalinowski, A. (2013) Wpływ związków fenolowych nasion na stabilność oksydacyjną i aktywność antyrodnikową wytłoczonych z nich olejów bogatych w PUFA n-3. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość.*, 4 (89), 118-132.
- Mistry, B. S. & Min, D. B. (1987) Effects of fatty acids on the oxidative stability of soybean oil. *J. Food Sci.*, 52, 831-832.
- Morita, H., Shishido, A., Matsumoto, T., Itokawa, H. & Takeya, K. (1999) Cyclolinopeptides B - E, new cyclic peptides from *Linum usitatissimum*. *Tetrahedron*, 55, 4, 967-976.
- Morris, D. (2001) Essential nutrients and other functional compounds in flaxseed. *Nutr. Today*, 36, 159-162.
- Morris, D. H. (2007) *Flax: A health and nutrition primer*, Winnipeg, Flax Council of Canada.
- Mueller, K., Eisner, P., Yoshie-Stark, Y., Nakada, R. & Kirchoff, E. (2010) Functional properties and chemical composition of fractionated brown and yellow linseed meal (*Linum usitatissimum* L.). *J. Food Eng.*, 98 (4), 453-460.
- Mueller, S. O., Simon, S., Chae, K., Metzler, M. & Korach, K. S. (2004) Phytoestrogens and their human metabolites show distinct agonistic and antagonistic properties on estrogen receptor alpha (ERalpha) and ERbeta in human cells. *Toxicol. Sci.*, 80, 14–25.
- Muir, A. D. (2006) Flax lignans – analytical methods and how they influence our understanding of biological activity. *JAOAC Int.*, 89, 1147-1157.
- Munne-Bosch, S. (2005) The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *J. Plant Physiol.*, 162, 743-748.
- Nag, A. (2000) Stabilization of flaxseed oil with capsicum antioxidant. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77(7), 799-800.
- Navas, M. J. & Jimenez, A. M. (2007) Chemiluminescent methods in olive oil analysis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 84, 405-411.
- Nawojczyk, M. (2010) *Przewodnik po statystyce dla socjologów*, Kraków, SPSS Polska.
- Niewiadomski, H. (1993) *Technologia tłuszczów jadalnych*, Warszawa, PWN.
- Niklová, I., Schmidt, S., Habalová, K. & Sekretár, S. (2001) Effect of evening primrose extracts on oxidative stability of sunflower and rapeseed oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 103, 299-306.
- Nikokavoura, A., Christodouleas, D., Yannakopoulou, E., Papadopoulos, K. & Calokerinos, A. C. (2011) Evaluation of antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic compounds in edible oils by a novel fluorimetric method. *Talanta*, 84, 874-880.
- Nogala-Kałużka, M., Korczak, J., Dratwia, M., Lampart-Szczapa, E., Siger, A. & Buchowski, M. (2005) Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of

- rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. *Food Chem.*, 93, 227-235.
- Nogala-Kalućka, M., Rudzińska, M., Zadernowski, R., Siger, A. & Krzyżostaniak, I. (2010) Phytochemical content and antioxidant properties of seeds of unconventional oil plants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 87, 1481-1487.
- Nogala-Kalućka, M. & Siger, A. (2011) Tokochromanole - bioaktywne związki roślin oleistych. Od biosyntezy do biomarkerów. *Rośliny Oleiste*, XXXII, 9-28.
- Nowicka, B., Gruszka, J. & Kruk, J. (2013) Function of plastochromanol and other biological prenyllipids in the inhibition of lipid peroxidation - A comparative study in model systems. *Biochim. Biophys. Acta*, 1828, 233-240.
- Olejniki, D., Gogolewski, M. & Nogala-Kalućka, M. (1997) Isolation and some properties of plastochromanol-8. *Nahrung*, 41, 101-104.
- Oliveri, P., Baldo, M. A., Daniele, S. & Forina, M. (2009) Development of a voltammetric electronic tongue for discrimination of edible oils. *Anal. Bioanal Chem.*, 395, 1135-1143.
- Omar, K. A., Shan, L., Wang, Y. L. & Wang, X. (2010) Stabilizing flaxseed oil with individual antioxidants and their mixtures. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 112, 1003-1011.
- Oomah, B. (2003) Processing of flaxseed fiber, oil, protein, and lignan. W: Thompson, L. U., Cunnane, S. C. (Red.) *Flaxseed in Human Nutrition*, Illinois, 2nd. Edn. AOCS Publishing.
- Oomah, B. D. (2001) Flaxseed as a functional food source. *J Sci Food Agric*, 81, 889-894.
- Oomah, B. D. & Mazza, G. (1998) Compositional changes during commercial processing of flaxseed. *Ind. Crops Prod.*, 9(1), 29-37.
- Oomah, B. D. & Mazza, G. (1998) Fractionation of flaxseed with a batch dehuller. *Ind. Crop. Prod.*, 9, 19-27.
- Oomah, B. D. & Sitter, L. (2009) Characteristics of flaxseed hull oil. *Food Chem.*, 114, 623-628.
- Oomah, D. B. & Mazza, G. (1997) Effect of dehulling on chemical composition and physical properties of flaxseed. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 30, 135-140.
- Osek, M. (2000) Wpływ czasu i warunków przechowywania na zmiany zachodzące we frakcji lipidowej wybranych produktów rzepakowych. *Rośliny Oleiste*, XXI, 145-156.
- Packer, L., Weber, S. U. & Rimbach, G. (2001) Molecular aspects of α -tocotrienol antioxidant action and cell signaling. *J. Nutr.*, 131, 369-373.
- Panasiewicz, M., Zawisłak, K., Sobczak, P., Mazur, J. & Sosińska, E. (2012) Wybrane zabiegi obróbki wstępnej nasion rzepaku i ich wpływ na efektywność wyłaczania oleju. *Inżynieria Przetwórstwa Spożywczego* 1, 27-30.
- Papadopoulos, K., Triantis, T., Yannakopoulou, E., Nikokavoura, A. & Dimotikali, D. (2003) Comparative studies on the antioxidant activity of aqueous extracts of olive oils and seed oils using chemiluminescence. *Anal. Chimica Acta*, 494, 41-47.
- Parish, E. J., Boos, T. L. & Li, S. (2002) The Chemistry of Waxes and Sterols. W: Akoh, C. C., Min, D.B. (Red.) *Food Lipids*, Marcel Dekker, Inc.
- Parker, P. M. (2011) The World Market for Linseed Oil and Its Fractions: A 2011 Global Trade Perspective. ICON Group.

- Paschos, G. K., Magkos, F., Panagiotakos, D. B., Volteas, V. & Zampelas, A. (2007) Dietary supplementation with flaxseed oil lowers blood pressure in dyslipidaemic patients. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 61, 1201-1206.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I. & Saura-Calixto, F. (2008) Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Res Int.*, 41 (3), 274-285.
- Peschel, W., Dieckmann, W., Sonnenschein, M. & Plescher, A. (2007) High antioxidant potential of pressing residues from evening primrose in comparison to other oilseed cakes and plant antioxidants. *Ind. Crops Prod.*, 25, 44-54.
- Popa, V. M., Gruia, A., Raba, D.-N., Dumbrava, D., Moldovan, C., Bordean, D. & Mateescu, C. (2012) Fatty acids composition and oil characteristics of linseed (*Linum Usitatissimum L.*) from Romania. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 18(2), 136-140
- Popov, I. N. & Lewin, G. (1996) Photochemiluminescent detection of antiradical activity; IV: testing of lipid-soluble antioxidant. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 31, 1-8.
- Pradhan, R. C., Meda, V., Rout, P. K., Naik, S. & Dalai, A. K. (2010) Supercritical CO₂ extraction of fatty oil from flaxseed and comparison with screw press expression and solvent extraction processes. *J. Food Eng.*, 98 393-397.
- Prasad, K. (1997) Hydroxyl radical-scavenging property of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) isolated from flax-seed. *Mol. Cell. Biochem.*, 168, 117-123.
- Prevc, T., Šegatin, N., Ulrih, N. P. & Cigić, B. (2013) DPPH assay of vegetable oils and model antioxidants in protic and aprotic solvents. *Talanta*, 109, 13-19.
- Prior, E., Vadke, V., Sosulski, F. (1991a) Effect of heat treatments on canola press oils and non- triglyceride components. *JAOCs*, 68, 401-406.
- Prior, R. L., Wu, X. & Schaich, K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.*, 53(10), 4290-4302.
- Przybylski, R. (2005) Flax oil and high linolenic oils. W: Shahidi, F. (Red.) *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, John Wiley & Sons.
- Ramachandran, S., Singh, S. K., Larroche, C., Soccol, C. R. & Pandey, A. (2007) Oil cakes and their biotechnological applications-A review. *Bioresource Technol.*, 98, 2000-2009.
- Ramadan, M. F. (2013) Healthy blends of high linoleic sunflower oil with selected cold pressed oils: Functionality. stability and antioxidative characteristic. *Ind Crop Prod.*, 43, 65-72.
- Ramadan, M. F., Asker, M. M. S. & Tadros, M. (2012) Antiradical and antimicrobial properties of cold-pressed black cumin and cumin oils. *Eur. Food Res. Technol.*, 234, 833-844.
- Ramadan, M. F. & Mörsel, J.-T. (2004) Oxidative stability of black cumin (*Nigella sativa L.*), coriander (*Coriandrum sativum L.*) and niger (*Guizotia abyssinica Cass.*) crude seed oils upon stripping. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 106 35-43.
- Ramadan, M. F. & Mörsel, J.-T. (2006) Screening of the antiradical action of vegetable oils. *J. Food Comp Analysis*, 19, 838-842.

- Ramadan, M. F. & Morsel, J. T. (2002) Neutral lipid classes of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oils. *Eur. Food Res. Technol.*, 214, 202-206.
- Ramadan, M. F. & Wahdan, K. M. M. (2012) Blending of corn oil with black cumin (*Nigella sativa*) and coriander (*Coriandrum sativum*) seed oils: Impact on functionality, stability and radical scavenging activity. *Food Chem.*, 132, 873-879.
- Ramvalho, V. C. & Jorge, N. (2008) Antioxidant action of rosemary extract in soybean oil submitted to thermoxidation. *Grasas Y Aceites*, 59 (2), 36-39.
- Ramirez, G., Hough, G. & Contrini, A. (2001) Influence of temperature and light exposure on sensory shelf-life of a commercial sunflower oil. *J. Food Qual.*, 24, 195-204.
- Roseling, H. (1994) Measuring effects in humans of dietary cyanide exposure to sublethal cyanogens from Cassava in Africa. *Acta Horticulturae*, 375, 271-283.
- Rotkiewicz, D. & Konopka, I. (1998) Trwałość olejów rzepakowych tłoczonych na zimno z nasion o zróżnicowanej jakości. *Rośliny Oleiste*, XIX, 583-591.
- Rotkiewicz, D., Konopka, I. & Tańska, M. (2002) Barwniki karotenoidowe i chlorofilowe olejów roślinnych oraz ich funkcje. *Rośliny Oleiste*, XXIII, 561-579.
- Rotkiewicz, D., Konopka, I. & Żylik, S. (1999) Stan badań nad optymalizacją procesu przetwórstwa nasion rzepaku. I. Wydobywanie oleju. *Rośliny Oleiste*, XX, 161-168.
- Rousseau, B., Meyer, A. & O'Mahony, M. (1998) Power and sensitivity of the same-difference test: Comparison with triangle and duo-trio methods. *J. Sens. Stud.*, 13, 149-173.
- Rubilar, M., Gutiérrez, C., Verdugo, M., Shene, C. & Sineiro, J. (2010) Flaxseed as a source of functional ingredients *J. soil sci. plant nutr.*, 10(3), 373-377.
- Rudnik, E., Szczucińska, A., Gwardiak, H., Szulc, A. & Winiarska, A. (2001) Comparative studies of oxidative stability of linseed oil. *Thermochim. Acta*, 370, 135-140.
- Rudzińska, M., Kazuś, T. & Wąsowicz, E. (2001) Sterole i ich utlenione pochodne w olejach roślinnych rafinowanych i tłoczonych na zimno. *Rośliny Oleiste*, XXII, 477-494.
- Rudzińska, M., Korczak, J., Gramza, A., Wąsowicz, E. & Dutta, P. C. (2004) Inhibition of stigmaterol oxidation by antioxidants in purified sunflower oil. *J. AOAC Int.*, 87(2), 499-504.
- Rutkowski, A., Krygier, K. (1979) *Technologia i analiza tłuszczów jadalnych*, Warszawa, Wydaw. SGGW.
- Samotyja, U. & Jura, E. (2012) Ocena wpływu wybranych metod jodometrycznych na wynik oznaczenia liczby nadtlenkowej w olejach roślinnych. *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 4 (33), 29-36
- Samotyja, U., Kowalczak, P., Lewandowska, M. & Musielak, J. (2014) Procesy hydrolityczne frakcji tłuszczowej mąk z nasion roślin oleistych. *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 1(38), 104-110.
- Samotyja, U. & Małecka, M. (2007) Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. *Food Chem.*, 104, 317-323.
- Samotyja, U. & Urbanowicz, A. (2005) Przeciwutleniające właściwości handlowych ekstraktów z rozmarynu. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (43), 184-192.
- San Giovanni, J. P. & Chew, E. Y. (2005) The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Prog. Retin. Eye Res.*, 24(1), 87-138.

- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. & Saura-Calixto, F. (1998) A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 76, 270-276.
- Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V. & Bitsch, R. (2002) Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Radical Research*, 36 (2), 177-187.
- Schmidt, S. & Pokorny, J. (2006) Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids. *Czech. J. Food Sci.*, 23(3), 93-102.
- Setiadi, D. H., Chass, G.A. (2003) Vitamin E models. Shortend sidechain models of α , β , γ and δ tocopherol and tocotrienol – a density functional study. *J. Mol. Struc.*, 637, 11-26.
- Shahidi, F., Amarowicz, R., He, Y. & Wettasinghe, M. (1997) Antioxidant activity of phenolic extracts of evening primrose (*Oenothera biennis*): A preliminary study. *J. Food Lipids*, 4, 75-86.
- Shahidi, F. & Naczek, M. (2004) *Phenolics in Food and Nutraceuticals*, Boca Raton, CRC Press.
- Shechter, Y. (1986) Selective oxidation and reduction of methionine residues in peptides and proteins by oxygen-exchange between sulfoxide and sulfide. *J. Biol. Chem.*, 261, 66-70.
- Shen, N., Moizuddin, S., Wilson, L., Duvick, S., White, P. & Pollak, L. (2001) Relationship of electronic nose analyses and sensory evaluation of vegetable oils during storage. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78 (9), 937-940.
- Sielicka, M. (2012) Wybrane kierunki wykorzystania oleju i włókna lnianego. *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 4, 37-45.
- Sielicka, M., Małecka, M. & Purlan, M. (2014) Comparison of the antioxidant capacity of lipid-soluble compounds in selected cold-pressed oils using photochemiluminescence assay (PCL) and DPPH method. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, (w druku).
- Sielicka, M., Pacholek, B. & Gierszewski, M. (2012) The effect of refrigerator storage on physicochemical properties of selected cold-pressed oils. *Intercathedra*, 28 (3), 72-78.
- Sielicka, M. & Samotyja, U. (2013) Solvent influence on antioxidant activity assay of selected cold-pressed plant oils. *PhD Interdisciplinary Journal*, 1, 67-74.
- Singh, K. K., Mridula, D., Rehal, J. & Barnwal, P. (2011) Flaxseed: A potential source of food, feed and fiber. *Crc. Cr. Rev. Food Sci.*, 51, 210-222.
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enology Viticulture*, 16, 144-158.
- Sionek, B. (1997) Oleje tłoczone na zimno. *Roczniki PZH*, 48 (3), 283-294.
- Skibsted, L. H. (2010) Understanding oxidation processes in foods. W: Decker, E. A., Elias, R. J. & McClements, D. J. (Red.) *Oxidation on foods and beverages and antioxidant applications*, Woodhead Publishing Limited.
- Smith, C. R., Weisleder, D., Miller, R. W., Palmer, I. S. & Olson, O. E. (1980) Linustatin and neolinustatin: cyanogenic glycosides of linseed meal that protect animals against selenium toxicity. *J. Org. Chem.*, 45(3), 507-510.
- Smyk, B. (2008) Wpływ tlenu i przezroczystości opakowania, na jakość oleju z ogórecznika - badania modelowe. *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 4, 86-98.
- Sojkin, B. e. (2012) *Komercjalizacja produktów żywnościowych*, Warszawa, Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne.

- Spychała, W., Frąckowiak, P. & Adamczyk, F. (2011) Wpływ parametrów wytlaczania prototypowej prasy ślimakowej na jakość oleju i wytloków z lnianki siewnej. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 56, 4, 110-113.
- Stefanowicz, P. (2004) Electrospray mass spectrometry and tandem mass spectrometry of the natural mixture of cyclic peptides from linseed. *Eur. J. Mass Spectrom.*, 10, 665-671.
- Subramanian, R., Nandini, K. E., Sheila, P. M., Gopalakrishna, A. G., Raghavarao, K. S. M. S., Nakajima, M., Kimura, T. & Maekawa, T. (2000) Membrane processing of used frying oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 77, 323-328.
- Szromnik, A. & Wolanin-Jarosz, E. (2013) Diagnoza poziomu etnocentryzmu konsumenckiego Polaków z wykorzystaniem metody CETSCALE. *Konsumpcja i rozwój*, 1, 98-111.
- Szydłowska-Czerniak, A., Karlovits, G., Dianoczki, C., Recseg, K. & Szlyk, E. (2008) Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85, 141-149.
- Szymusiak, H. (2002) *Badania efektywności wybranych przeciwutleniaczy występujących w produktach spożywczych*, Poznań, Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej w Poznaniu (Prace Habilitacyjne, nr 5).
- Świdorski, F. (2006) *Żywność wygodna i żywność funkcjonalna*, Warszawa, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne WNT.
- Takagi, S., Ienaga, H., Tsuchiya, C. & Yoshida, H. (1999) Microwave roasting effects on the composition of tocopherols and acyl lipids within each structural part and section of a soya bean. *J. Sci. Food Agric.*, 79, 1155-1162.
- Tańska, M. & Rotkiewicz, D. (2011) Jakość tłuszczu nasion oleistych zastosowanych do produkcji wybranych rodzajów pieczywa. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość.*, 5 (78), 62-74.
- Terpinc, P., Bezzak, M. & Abramovic, H. (2009) A kinetic model for evaluation of the antioxidant activity of several rosemary extracts. *Food Chem.*, 115, 740-744.
- Terpinc, P., Ceh, B., Ulrich, N. P. & Abramovic, H. (2012) Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. *Ind. Crop Prod.*, 39, 210-217.
- Terpinc, P., Polak, T., Makuc, D., Poklar Ulrich, N., Abramovic, H. (2012) The occurrence and characterisation of phenolic compounds in *Camelina sativa* seed, cake and oil. *Food Chem.*, 131, 580-589.
- Terpinca, P., Ceh, B., Ulrich, N.P., Abramovic, H. (2012) Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. *Industrial Crops and Products*, 39, 210-217.
- Thompson, L. U., Boucher, B. A., Liu, Z., Cotterchio, M. & Kreiger, N. (2006) Phytoestrogen content of foods consumed in Canada, including isoflavones, lignans, and coumestan. *Nutr. Cancer*, 54, 184-201.
- Thompson, L. U., Robb, P., Serraino, M. & Cheung, F. (1991) Mammalian lignan production from various foods. *Nutr. Cancer*, 16, 43-52.
- Thostenson, E. T., Chou, T. W. (1999) Microwave processing: Fundamentals and applications. Composites. Part A. *Applied Science and Manufacturing*, 30, 1055-1071.

- Tolkachev, O. N. & Zhuchenko, A. A. (2004) Biologically Active Substances of Flax: Medicinal and Nutritional Properties (A Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 34, 7, 360-367.
- Topallar, H., Bayrak, Y. & Iscan, M. (1997) A kinetic study on the autoxidation of sunflowerseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74, 1323-1327.
- Touillaud, M. S., Thiébaud, A. C. M., Fournier, A., Niravong, M., Boutron-Ruault, M. C. & Clavel-Chapelon, F. (2007) Dietary lignan intake and postmenopausal breast cancer risk by estrogen and progesterone receptor status. *J. Natl. Cancer Inst.*, 99, 475-486.
- Toure, A. & Xueming, X. (2010) Flaxseed Lignans: Source, Biosynthesis, Metabolism, Antioxidant Activity, Bio-Active Components, and Health Benefits. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, 9, 3, 261-269.
- Tuberoso, C. I. G., Kowalczyk, A., Sarritzu, E. & Cabras, P. (2007) Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chem.*, 103, 1494-1501.
- Uquiche, E., Jeréz, M. & Ortíz, J. (2008) Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from *Chilean hazelnuts* (*Gevuina avellana* Mol). *Innov. Food Sci. Emerg.*, 9, 495-500.
- Urala, N. & Lahteenmaki, L. (2004) Attitudes behind consumers' willingness to use functional foods. *Food Qual. Prefer.*, 15, 793-803.
- Urala, N. & Lahteenmaki, L. (2007) Consumers changing attitudes towards functional foods. *Food Qual. Prefer.*, 18, 1-12.
- Valavanidis, A., Nisiotou, C., Papageorgiou, Y., Kremli, I., Satravelas, N., Zinieris, N. & Zygalki, H. (2004) Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *J. Agr. Food Chem.*, 52, 2358-2365.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. & Telser, J. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39, 44-84.
- van Ruth, S. M., Shaker, E. M. & Morrissey, P. A. (2001) Influence of methanolic extracts of soybean seeds and soybean oil on lipid oxidation in linseed oil. *Food Chem.*, 75.
- Verbeke, W. (2005) Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinant. *Food Qual. Prefer.*, 16, 45-57.
- Vogt, W. (1995) Oxidation of methionyl residues in proteins: tools, targets and reversal. *Free Rad. Biol. Med.*, 18, 93-105.
- Wagner, K.-H. & Elmadfa, I. (2000) Effect of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 102, 624-629.
- Wanasundara, P. K. J. P. D., Amarowicz, R., Karab, M. T. & Shahidi, F. (1993) Removal of cyanogenic glycosides of flaxseed meal. *Food Chem.*, 48 (3), 263-266.
- Wanasundara, P. K. J. P. D. & Shahidi, F. (1994) Alkanol ammonia water/hexane extraction of flaxseed. *Food Chem.*, 49, 39-44.
- Wanasundara, P. K. J. P. D., Shahidi, F. & Brosnan, M. E. (1999) Changes in flax (*Linum usitatissimum*) seed nitrogenous compounds during germination. *Food Chem.*, 65 (3), 289-295.

- Waraho, T., McClements, D. J. & Decker, E. A. (2011) Impact of free fatty acid concentration and structure on lipid oxidation in oil-in-water emulsions. *Food Chem.*, 129, 854-859.
- Warnecke-Wundram, A. (2003) Metabolism of cyanogenic glycosides in *Linusitatisimum*: studies on the synthesis and transport. Technical University of Braunschweig.
- Warrand, J., Michaud, P., Picton, L., Muller, G., Courtois, B., Ralainirina, R. & Courtois, J. (2005) Contributions of intermolecular interactions between constitutive arabinoxylans to the flaxseeds mucilage properties. *Biomacromol.*, 6, 1871-1876.
- Waszkowiak, K., Gliszczyńska-Świgło, A. & Skrety, J. (2012) Antioxidant activity of extracts from polish flax varieties. *10th Euro Fed Lipid congress book of abstracts. Fats, oils and lipids: from science and technology to health*, 286.
- Waszkowiak, K. & Rudzińska, M. (2014) Effect of flaxseed meals and extracts on lipid stability in a stored meat product. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, (w druku).
- Watkins, S. M. & German, J. B. (2002) Unsaturated Fatty Acids. W: Akoh, C. C. & Min, D. B. (Red.) *Food Lipids*, Marcel Dekker, Inc.
- Wądołowska, L., Babicz-Zielińska, E. & Czarnocińska, J. (2008) Food choice models and their relation with food preferences and eating frequency in the Polish population: POFPRES study. *Food Policy*, 33(2), 122-134.
- Wądołowska, L., Danowska-Oziewicz, M., Stewart-Knox, B. & Vaz de Almeida, M. D. (2009) Differences between older and younger Poles in functional food consumption, awareness of metabolic syndrome risk and perceived barriers to health improvement. *Food Policy*, 34, 311-318.
- Wąsowicz, E., Gramza, A., Heś, M., Jeleń, H. H., Korczak, J., Małecka, M., Mildner-Szkodlarz, S., Rudzińska, M., Samotyja, U. & Zawirska-Wojtasiak, R. (2004) Oxidation of lipids in food. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 13 (54), 87-100.
- Wąsowicz, E. & Kamiński, E. (1984) Fatty acid composition of „Bebiko” infant formula determined by support-coated open tubular gas chromatography. *Die Nahrung*, 25(6), 599-603.
- Weete, J. D. (2002) Microbial Lipases. W: Akoh, C. C. & Mackie, J. C. (Red.) *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*, Marcel Dekker Inc.
- Westcott, N. D. & Muir, A. D. (2003) Flax lignan update. *Saskatchewan Flax Grower*, 4, 6.
- Wiesenborn, D., Kangas, N., Tostenson, K., Hall III, C. & Chang, K. (2005) Sensory and oxidative quality of screw-pressed flaxseed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 82 (12), 887-892.
- Williams, D., Verghese, M., Walker, L., Boateng, J., Shackelford, L. & Chawan, C. (2007) Flax seed oil and flax seed meal reduce the formation of aberrant crypt foci (ACF) in azoxymethane-induced colon cancer in Fisher 344 male rats. *Food Chem. Toxicol.*, 45, 153-159.
- Wilusz, D., Flotyński, J. & Sielicka, M. (2013) Supporting experimentation in a food research laboratory with the Internet of Things. *PhD Interdisciplinary Journal*, 3, 113-119.
- Winqvist, F. (2008) Voltammetric electronic tongues – basic principles and applications. *Microchim. Acta*, 163, 3-10.
- Woyengo, T. A., Ramprasath, V. R. & Jones, P. J. (2009) Anticancer effects of phytosterols. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 63, 813-820.

- Woźniak, M., Ostrowska, K., Szymański, Ł., Wybieralska, K. & Zieliński, R. (2009) Aktywność przeciwrodnikowa ekstraktów z szławii i rozmarynu. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 4 (65), 133-141.
- Wroniak, M., Krygier, K. & Kaczmarczyk, M. (2008) Comparison of the quality of cold pressed and virgin rapeseed oils with industrially obtained oils. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 58(1), 85-89.
- Wroniak, M., Kwiatkowska, M. & Krygier, K. (2006) Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 2(47), 46-58.
- Wroniak, M., Łukasik, D. & Maszewska, M. (2006) Porównanie stabilności oksydacyjnej wybranych olejów tłoczonych na zimno z olejami rafinowanymi. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 1 (46) Supl., 214-221.
- Xu, Y., Hall III, C. & Wolf-Hall, C. (2008) Antifungal activity stability of flaxseed protein extract using Response Surface Methodology. *J. Food Sci.*, 73(1), 9-14.
- Yanishlieva-Maslarova, N. V. (2001) Inhibiting oxidation. W: Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M. H. (Red.) *Antioxidants in Food: Practical Applications*, Cambridge, Woodhead Publishing Ltd.
- Yanishlieva, N. V. & Marinova, E. M. (2001) Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 103, 752-767.
- Zabłocka, A. & Janusz, M. (2008) Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 62, 118-124.
- Zajac, T., Oleksy, A., Kulig, B. & Klimek, A. (2010) Uwarunkowania plonowania formy oleistej lnu zwyczajnego (*Linum ussilitassimum L.*) oraz jej znaczenie żywieniowe i lecznicze. *Acta Scientiarum Polonorum, Agricultura*, 9 (2), 47-63.
- Zhang, Z., Wang, L., Li, D., Jiao, S., Chena, X. & Maa, Z. (2008) Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. *Sep. Purif. Technol.*, 62, 192-198.
- Zhou, Q., Yang, M., Huang, F., Zheng, C. & Deng, Q. (2013) Effect of pretreatment with dehulling and microwaving on the flavor characteristics of cold-pressed rapeseed oil by GC-MS-PCA and electronic nose discrimination. *J. Food Sci.*, 78, 7, 961-970.
- Zielińska, D., Wiczowski, W. & Piskuła, M. K. (2008) Evaluation of photochemiluminescent, spectrophotometric and cyclic voltammetry methods for the measurement of the antioxidant capacity: the case of roots separated from buckwheat sprouts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 58 (1), 66-72.
- Ziemiański, S. & Budzyńska- Topolowska, J. (1991) *Thuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*, Warszawa, PWN.
- Żakowska-Biemans, S. & Kuc, K. (2009) Żywność tradycyjna i regionalna w opinii i zachowaniach polskich konsumentów. *Żywność. Nauka Technologia. Jakość*, 3(64), 105-114.

Akty prawne i normy

ASTM E2139-05(2011) Standard Test Method for Same-Different Test.

Codex Standard 19-1981 Codex Standard for edible fats and oils not covered by individual standards.

Codex Standard 210-1999 Codex Standard for named vegetable oils.

Dyrektywa 2008/100/WE z dnia 28 października 2008 r. zmieniająca dyrektywę Rady 90/496/EWG w sprawie oznaczania wartości odżywczej środków spożywczych w odniesieniu do zalecanego dziennego spożycia, współczynników przeliczeniowych energii oraz definicji.

Dyrektywa Komisji 2010/67/UE z dnia 20 października 2010 r. zmieniająca dyrektywę 2008/84/WE ustanawiającą szczególne kryteria czystości dla dodatków do środków spożywczych innych niż barwniki i substancje słodzące.

PN-A-86908:2000 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Rafinowane oleje roślinne.

PN-A-86934:1995 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Spektrofotometryczne oznaczanie barwy ogólnej.

PN-EN ISO 660:2005 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.

PN-EN ISO 6885:2008 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby anizydynowej.

PN-EN ISO 8586-2:2008 Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Część 2: Eksperti oceny sensorycznej.

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

PN-ISO 3972:1998 Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej.

PN-ISO 4121:1998 Analiza sensoryczna. Metodologia. Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.

PN-ISO 6564:1999 Analiza sensoryczna. Metodologia. Metody profilowania smakowości.

PN-ISO 8586-1:1996 Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Wybrani oceniający.

Rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie oświadczeń żywieniowych i zdrowotnych dotyczących żywności.

Rozporządzenie Komisji (WE) nr 983/2009 z dnia 21 października 2009 r. w sprawie udzielania i odmowy udzielenia zezwoleń na oświadczenia zdrowotne dotyczące żywności i odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz do rozwoju i zdrowia dzieci.

Rozporządzenie Komisji (UE) nr 116/2010 z dnia 9 lutego 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1924/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady w odniesieniu do wykazu oświadczeń żywieniowych.

Rozporządzenie Komisji (UE) nr 376/2010 z dnia 3 maja 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 983/2009 w sprawie udzielania i odmowy udzielenia zezwoleń na oświadczenia zdrowotne dotyczące żywności i odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz do rozwoju i zdrowia dzieci.

- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 440/2011 z dnia 6 maja 2011 r. w sprawie udzielenia i odmowy udzielenia zezwolenia na niektóre oświadczenia zdrowotne dotyczące żywności i odnoszące się do rozwoju i zdrowia dzieci.
- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 432/2012 z dnia 16 maja 2012 r. ustanawiające wykaz dopuszczonych oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności, innych niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci.
- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 68/2013 z dnia 16 stycznia 2013 r. w sprawie katalogu materiałów paszowych.
- Rozporządzenie Komisji (UE) nr 536/2013 z dnia 11 czerwca 2013 r. zmieniające rozporządzenie Komisji (UE) nr 432/2012 ustanawiające wykaz dopuszczonych oświadczeń zdrowotnych dotyczących żywności, innych niż oświadczenia odnoszące się do zmniejszenia ryzyka choroby oraz rozwoju i zdrowia dzieci.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lipca 2007 r. w sprawie znakowania środków spożywczych (Dz.U. z 2007r. Nr 137 poz. 966).
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety (Dz. U. z 2007r. Nr 196, poz. 1425 z późn. zm.).
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (Dz. U. z 2011r. Nr 91, poz. 525).
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie specyfikacji i kryteriów czystości substancji dodatkowych (Dz. U. z 2011r. Nr 91, poz. 526).
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1924/2006 i (WE) nr 1925/2006 oraz uchylecia dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektyw Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 608/2004.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1151/2012 z dnia 21 listopada 2012 r. w sprawie systemów jakości produktów rolnych i środków spożywczych,
- Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2010r. Nr 136, poz. 914 z późn. zm).
- Ustawa z dnia 17 grudnia 2004 (nowelizacja 2009) o rejestracji i ochronie nazw i oznaczeń produktów rolnych i środków spożywczych oraz o produktach tradycyjnych (Dz.U. z 2005r. Nr 10, poz. 68).

Strony internetowe

- DGA, P. (2011) Rynek ryb w Polsce. dane MIR-PIB oraz Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej, <http://biznes.pl/magazyny/rolnictwo/rybolowstwo/rynek-ryb-w-polsce,5206906,magazyn-detal.html>.
- EFSA (2010) Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA), Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol, <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1461.htm>.
- Eurodiet (2010) Nutrition & Diet for Healthy Lifestyles in Europe: Science & Policy Implications, http://ec.europa.eu/health/archive/ph_determinants/life_style/nutrition/report01_en.pdf.
- FEDIOL (2011) Innovation in processing and reformulation of vegetable oils and fats. The EU Vegetable Oil & Proteinmeal Industry, <http://www.fediol.eu/data/1324550245Factsheet%20Innovation%20in%20processing%20%26%20reformulation%209Dec11.pdf>.
- Faostat (2001) FAO Statistical Databases, <http://faostat.fao.org>.
- Faostat (2011) FAO Statistical Databases, <http://faostat.fao.org>.
- GUS (2011) Uprawy rolne i wybrane elementy metod produkcji roślinnej. Powszechny Spis Rolny 2010. Warszawa, Główny Urząd Statystyczny, http://www.stat.gov.pl/cps/rde/xbcr/gus/RL_uprawy_rolne.pdf.
- http://gocciadoro.pl/pok_prod.php?id=10.
- http://oleofarm24.pl/pol_m_Oleje-swiata-172.html.
- <http://sklep.iwnirz.pl/>.
- <http://sklep.zlotopolskie.pl/>.
- <http://www.dlahandlu.pl/koszyk/towar/olej-kujawski-1-1,5.html>.
- http://www.doz.pl/leki/s1958-olej_lniany.
- <http://www.goldendrop.pl/>.

Wykaz tabel, wykresów i rysunków

| | | |
|------------|--|-----|
| Tabela 1. | Ocena wpływu na zdrowie wybranych składników żywności [%]..... | 12 |
| Tabela 2. | Zalecenia dotyczące spożycia tłuszczów i kwasów tłuszczowych..... | 16 |
| Tabela 3. | Oświadczenia zdrowotne związane z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi..... | 18 |
| Tabela 4. | Charakterystyka botaniczna i technologiczna polskich odmian lnu oleistego | 20 |
| Tabela 5. | Uprawa lnu w wybranych krajach, na świecie oraz w Europie w 2011 roku | 21 |
| Tabela 6. | Uprawa wybranych roślin oleistych w Polsce w 2011 roku | 23 |
| Tabela 7. | Skład chemiczny nasion lnu [%] | 23 |
| Tabela 8. | Skład aminokwasowy białka [g/16g N] nasion lnu i soi | 24 |
| Tabela 9. | Wybrane witaminy i składniki mineralne zawarte w nasionach lnu a dzienne zalecane spożycie (RDA) | 27 |
| Tabela 10. | Wpływ metody otrzymywania oleju lnianego na wydajność procesu i procentowy udział wybranych kwasów tłuszczowych..... | 32 |
| Tabela 11. | Zawartość tokoferoli i plastochromanolu-8 w oleju lnianym [mg/100 g oleju].... | 36 |
| Tabela 12. | Zawartość steroli w olejach tłoczonych na zimno [mg/100 g oleju]..... | 38 |
| Tabela 13. | Wymagania jakościowe odnośnie do oleju lnianego tłoczonego na zimno* | 39 |
| Tabela 14. | Wielkość produkcji oleju lnianego w wybranych krajach w 2011 roku [tony] | 43 |
| Tabela 15. | Średnia cena olejów lnianych | 46 |
| Tabela 16. | Wybrane produkty pierwotnego i wtórnego utleniania kwasów tłuszczowych | 51 |
| Tabela 17. | Wrażenia sensoryczne wybranych aldehydów | 54 |
| Tabela 18. | Wpływ dodatku substancji o właściwościach przeciwutleniających na stabilność oksydacyjną oleju lnianego | 64 |
| Tabela 19. | Charakterystyka materiału badawczego - etap 1 | 74 |
| Tabela 20. | Zawartość tłuszczu oraz wody w badanych wyciskach nasion roślin oleistych [%] | 75 |
| Tabela 21. | Skład eksperymentalnych mieszanek olejowych [%] | 76 |
| Tabela 22. | Zawartość substancji czynnych w ekstrakcie z rozmarynu w zależności od zastosowanego stężenia | 76 |
| Tabela 23. | Układ wyników testu różnicowego | 96 |
| Tabela 24. | Skład kwasów tłuszczowych badanych olejów roślinnych tłoczonych na zimno [%] | 100 |
| Tabela 25. | Cechy fizykochemiczne próbek olejów tłoczonych na zimno wykorzystanych w badaniach..... | 102 |
| Tabela 26. | Profil smakowości świeżych olejów lnianych tłoczonych na zimno | 103 |
| Tabela 27. | Wpływ przechowywania w warunkach półki sklepowej (25°C) na wartości liczby nadtlenkowej, liczby anizydynowej, wskaźnika TOTOX oraz liczby kwasowej w próbkach olejów roślinnych tłoczonych na zimno [średnia ± odchylenie standardowe]..... | 106 |
| Tabela 28. | Istotność zmian intensywności poszczególnych deskryptorów olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej - jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA) | 112 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 29. Zależność między intensywnością smaku gorzkiego a czasem inkubacji w dniach (istotność regresji) dla olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej | 116 |
| Tabela 30. Analiza korelacji między badanymi wyróżnikami organoleptycznymi olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej..... | 117 |
| Tabela 31. Wpływ przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania (5°C) na wartości liczby nadtlenkowej, liczby anizydynowej, wskaźnika TOTOX oraz liczby kwasowej w próbkach olejów tłoczonych na zimno [średnia ± odchylenie standardowe] | 120 |
| Tabela 32. Istotność zmian intensywności poszczególnych deskryptorów olejów lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania - jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA) | 125 |
| Tabela 33. Analiza korelacji między badanymi wyróżnikami organoleptycznymi olejów lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania | 131 |
| Tabela 34. Aktywność przeciwutleniająca frakcji apolarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno [mmol Trolox/L oleju] | 139 |
| Tabela 35. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktu z rozmarynu [mmol Trolox/L ekstraktu] | 145 |
| Tabela 36. Skład kwasów tłuszczowych badanych olejów i eksperymentalnych mieszanek olejowych [%]..... | 147 |
| Tabela 37. Zmiany oksydacyjne oleju lnianego oraz mieszanek oleju lnianego z olejem z wiesiolka oraz olejem z czarnuszki siewnej podczas przechowywania w temperaturze 40°C [średnia ± odchylenie standardowe]..... | 148 |
| Tabela 38. Zmiany oksydacyjne oleju lnianego z dodatkiem ekstraktów z wytlóków nasion lnu, wiesiolka oraz czarnuszki siewnej podczas przechowywania w temperaturze 40°C [średnia ± odchylenie standardowe]..... | 153 |
| Tabela 39. Zmiany oksydacyjne oleju lnianego z dodatkiem ekstraktu z rozmarynu oraz BHT podczas przechowywania w temperaturze 40°C [średnia ± odchylenie standardowe]..... | 158 |
| Tabela 40. Stałe szybkości tworzenia nadtlenczków oraz efektywność przeciwutleniająca zastosowanych substancji w próbach oleju lnianego przechowywanego w temperaturze 40°C | 162 |
| Tabela 41. Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na zmiany jakościowe oleju lnianego przechowywanego w warunkach półki sklepowej oraz konsumenckiego użytkowania [średnia ± odchylenie standardowe] | 168 |
| Tabela 42. Związki lotne zidentyfikowane w oleju lnianym świeżym i przechowywanym za pomocą metody SPME-GC/MS [średnia powierzchnia piku x10 ⁶] | 172 |
| Tabela 43. Współczynnik korelacji poszczególnych związków lotnych oleju lnianego z wyodrębnionymi głównymi składowymi | 173 |
| Tabela 44. Istotność zmian intensywności poszczególnych deskryptorów oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach półki sklepowej - jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA)..... | 175 |

| | | |
|------------|---|-----|
| Tabela 45. | Zmiana intensywności wyróżników organoleptycznych oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanego w warunkach półki sklepowej [wartości średnie] | 176 |
| Tabela 46. | Zależność między intensywnością nuty jełkiej** a czasem inkubacji w dniach (istotność regresji) dla oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanego w warunkach półki sklepowej | 177 |
| Tabela 47. | Analiza korelacji między badanymi wyróżnikami sensorycznymi olejów lnianych z dodatkiem i bez przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach półki sklepowej | 179 |
| Tabela 48. | Istotność zmian intensywności poszczególnych deskryptorów oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania - jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA) | 182 |
| Tabela 49. | Zależność między intensywnością wyróżnika a czasem inkubacji w dniach (istotność regresji) dla oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanego w warunkach konsumenckiego użytkowania..... | 182 |
| Tabela 50. | Zmiana intensywności wyróżników organoleptycznych oleju lnianego z dodatkiem i bez dodatku przeciwutleniacza przechowywanego w warunkach konsumenckiego użytkowania [wartości średnie] | 183 |
| Tabela 51. | Analiza korelacji między badanymi wyróżnikami sensorycznymi olejów lnianych z dodatkiem i bez przeciwutleniacza przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania | 185 |
| Wykres 1. | Wielkość produkcji oleju lnianego w Polsce w latach 1961-2011 [tony]..... | 44 |
| Wykres 2. | Krzywa wzorcowa do oznaczania ogólnej zawartości związków polifenolowych ekstraktach w przeliczeniu na kwas galusowy (GAE)..... | 81 |
| Wykres 3. | Krzywa wzorcowa do oznaczenia aktywności przeciwrodnikowej (DPPH rozpuszczony w metanolu) | 83 |
| Wykres 4. | Krzywa wzorcowa do oznaczenia aktywności przeciwrodnikowej (DPPH rozpuszczony w etanolu) | 83 |
| Wykres 5. | Krzywa wzorcowa do oznaczenia aktywności przeciwrodnikowej (DPPH rozpuszczony w octanie etylu) | 83 |
| Wykres 6. | Krzywa wzorcowa do oznaczenia siły redukującej testem FRAP | 84 |
| Wykres 7. | Krzywa wzorcowa do oznaczenia aktywności przeciwutleniającej metodą fotochemiluminescencji | 85 |
| Wykres 8. | Profil smakowitości świeżych olejów lnianych tłoczonych na zimno..... | 104 |
| Wykres 9. | Wpływ przechowywania w warunkach półki sklepowej na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w olejach roślinnych tłoczonych na zimno | 107 |
| Wykres 10. | Wpływ przechowywania w warunkach półki sklepowej na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w olejach roślinnych tłoczonych na zimno | 109 |
| Wykres 11. | Zawartość liczby anizydynowej na początku i na końcu okresu przechowywania w warunkach półki sklepowej w badanych próbkach olejów..... | 110 |

| | | |
|------------|--|-----|
| Wykres 12. | Intensywność nuty orzechowej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej..... | 113 |
| Wykres 13. | Intensywność nuty utlenionej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej..... | 114 |
| Wykres 14. | Intensywność nuty trawiastej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej..... | 114 |
| Wykres 15. | Intensywność smaku gorzkiego w olejach lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej..... | 115 |
| Wykres 16. | Ocena ogólna olejów lnianych przechowywanych w warunkach półki sklepowej..... | 117 |
| Wykres 17. | Odsetek osób w zespole oceniającym odrzucających próbki oleju lnianego ze względu na gorzkość (warunki półki sklepowej)..... | 118 |
| Wykres 18. | Wpływ przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w olejach roślinnych tłoczonych na zimno | 121 |
| Wykres 19. | Wpływ przechowywania w warunkach konsumenckiego użytkowania na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w olejach roślinnych tłoczonych na zimno ... | 123 |
| Wykres 20. | Intensywność nuty orzechowej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania..... | 126 |
| Wykres 21. | Intensywność nuty utlenionej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania..... | 127 |
| Wykres 22. | Intensywność nuty trawiastej w olejach lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania..... | 128 |
| Wykres 23. | Intensywność smaku gorzkiego w olejach lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania..... | 129 |
| Wykres 24. | Ocena ogólna olejów lnianych przechowywanych w warunkach konsumenckiego użytkowania | 130 |
| Wykres 25. | Odsetek osób w zespole oceniającym odrzucających próbki oleju lnianego ze względu na gorzkość (warunki konsumenckiego użytkowania)..... | 131 |
| Wykres 26. | Wygaszanie rodnika DPPH (rozpuszczonego w metanolu) przez frakcję polarną olejów roślinnych tłoczonych na zimno [§] | 136 |
| Wykres 27. | Aktywność przeciwrodnikowa frakcji polarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno po 10 minutach inkubacji próbki z rodnikiem..... | 137 |
| Wykres 28. | Siła redukująca frakcji polarnej olejów roślinnych tłoczonych na zimno (test FRAP) | 137 |
| Wykres 29. | Wygaszanie rodnika DPPH (rozpuszczonego w octanie etylu) przez frakcję apolarną olejów roślinnych tłoczonych na zimno..... | 138 |
| Wykres 30. | Aktywność przeciwrodnikowa badanych frakcji olejów roślinnych tłoczonych na zimno po 10 minutach inkubacji próbki z rodnikiem..... | 141 |
| Wykres 31. | Zawartość związków fenolowych w ekstraktach z wytlóków nasion roślin oleistych..... | 142 |
| Wykres 32. | Wygaszanie rodnika DPPH przez ekstrakty z wytlóków nasion roślin oleistych | 143 |

| | | |
|------------|--|-----|
| Wykres 33. | Aktywność przeciwrodnikowa ekstraktów z wycieków nasion roślin oleistych po 10 minutach inkubacji próbki z rodnikiem..... | 144 |
| Wykres 34. | Siła redukująca ekstraktów z wycieków nasion roślin oleistych (test FRAP) .. | 144 |
| Wykres 35. | Wpływ dodatku oleju z wiesiołka i czarnuszki siewnej na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia..... | 149 |
| Wykres 36. | Zawartość pierwotnych produktów utleniania w oleju z wiesiołka i oleju lnianym przechowywanych w warunkach przyspieszonego starzenia .. | 149 |
| Wykres 37. | Wpływ dodatku oleju z wiesiołka i czarnuszki siewnej na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia | 150 |
| Wykres 38. | Stopień utlenienia próbek oleju lnianego po 21 dniach inkubacji w temperaturze 40°C z dodatkiem oleju z wiesiołka oraz oleju z czarnuszki siewnej, obliczony na podstawie wartości TOTOX [%]..... | 152 |
| Wykres 39. | Wpływ dodatku ekstraktów z wycieków nasion roślin oleistych na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia..... | 154 |
| Wykres 40. | Wpływ dodatku ekstraktów z wycieków nasion roślin oleistych na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia..... | 155 |
| Wykres 41. | Stopień utlenienia próbek oleju lnianego po 21 dniach inkubacji w temperaturze 40°C z dodatkiem ekstraktów z wycieków nasion lnu, wiesiołka oraz czarnuszki siewnej, obliczony na podstawie wartości TOTOX [%] | 156 |
| Wykres 42. | Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia | 158 |
| Wykres 43. | Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na zasięg wtórnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach przyspieszonego starzenia | 160 |
| Wykres 44. | Stopień utlenienia prób oleju lnianego po 21 dniach inkubacji w temperaturze 40°C z dodatkiem ekstraktów z rozmarynu i BHT, obliczony na podstawie wartości TOTOX [%] | 160 |
| Wykres 45. | Konsumencka ocena pożądalności zapachu i smaku mieszanek oleju lnianego, oleju z wiesiołka i czarnuszki siewnej | 164 |
| Wykres 46. | Wpływ zawartości oleju z czarnuszki siewnej na pożądalność zapachu i smaku mieszanek olejowych..... | 164 |
| Wykres 47. | Konsumencka ocena pożądalności zapachu i smaku mieszanek olejowych | 165 |
| Wykres 48. | Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu i BHT na zasięg pierwotnych zmian oksydacyjnych w oleju lnianym w warunkach półki sklepowej..... | 169 |
| Wykres 49. | Wykres osypiska | 173 |
| Wykres 50. | Rzut próbek oleju lnianego z i bez dodatku ekstraktu z rozmarynu świeżego i po przechowywaniu na płaszczyznę głównych składowych, wyodrębnionych na podstawie wyników analizy związków lotnych metodą SPME-GC/MS | 174 |
| Wykres 51. | Intensywność smaku gorzkiego w oleju lnianym z przeciwutleniaczami przechowywanym w warunkach półki sklepowej | 178 |
| Wykres 52. | Ocena ogólna oleju lnianego z przeciwutleniaczami przechowywanego w warunkach półki sklepowej..... | 179 |

| | |
|---|-----|
| Wykres 53. Odsetek osób w zespole oceniającym odrzucających ze względu na gorzkość próbki oleju lnianego z dodatkiem i bez przeciwutleniacza (warunki półki sklepowej) | 180 |
| Wykres 54. Intensywność smaku gorzkiego w oleju lnianym z przeciwutleniaczami przechowywanym w warunkach konsumenckiego użytkowania | 184 |
| Wykres 55. Odsetek osób w zespole oceniającym odrzucających ze względu na gorzkość próbki oleju lnianego z dodatkiem i bez przeciwutleniacza (warunki konsumenckiego użytkowania) | 186 |
| | |
| Rysunek 1. Udział gospodarstw rolnych zajmujących się uprawą lnu i konopi w 2010 roku według województw [%] | 22 |
| Rysunek 2. Przeciętny udział kwasów tłuszczowych w wybranych olejach roślinnych [%] | 34 |
| Rysunek 3. Rozmieszczenie producentów oleju lnianego tłoczonego na zimno, w butelkach, w Polsce | 45 |
| Rysunek 4. Struktura cyklolinopeptydu E | 58 |
| Rysunek 5. Ocena stabilności próbek oleju lnianego na tle innych olejów roślinnych tłoczonych na zimno w warunkach praktycznego składowania (Etap 1) | 70 |
| Rysunek 6. Ocena aktywności przeciwutleniającej substancji naturalnych wykorzystywanych do przedłużenia trwałości oleju lnianego (Etap 2A)..... | 71 |
| Rysunek 7. Ocena skuteczności dodatku różnych substancji o właściwościach przeciwutleniających w ograniczaniu zasięgu zmian jakościowych oleju lnianego tłoczonego na zimno przechowywanego w warunkach przyspieszonego starzenia (Etap 2B) | 72 |
| Rysunek 8. Ocena stabilności próbek oleju lnianego z dodatkiem wybranego przeciwutleniacza w warunkach praktycznego składowania (Etap 3)..... | 73 |
| Rysunek 9. Skala hedoniczna zastosowana w ocenie pożądalności konsumenckiej mieszanek olejowych | 93 |
| Rysunek 10. Karta odpowiedzi dla prostego testu różnicowego..... | 94 |