

Oznaczanie barwy bio-olejów z nasion roślin jagodowych otrzymanych techniką ekstrakcji nadkrytycznej za pomocą spektrofotometrii UV-Vis

Edward RÓJ, Agnieszka DOBRZYŃSKA-INGER, Karolina GRZĘDA, Dorota KOSTRZEWA – Instytut Nawozów Sztucznych, Puławy

Prosimy cytować jako: CHEMIK 2011, 65, 9, 859-866

Wstęp

Oleje są ważnym składnikiem diety człowieka. Ponad 90% światowej produkcji olejów z naturalnych źródeł roślinnych, zwierzęcych i morskich zużywane jest jako pożywienie lub składniki pożywienia. Szczególne miejsce zajmują tzw. bio-oleje (zwane również olejami specjalnymi). Są to złożone mieszaniny zawierające szereg bioaktywnych związków lipidowych, takich jak: fitosterole, tokoferole, toko-trienole, karotenoidy, skwalen, wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Związki te w większości przypadków nie są syntezowane przez organizm ludzki, ale ze względu na różnorodne własności fizyczne, chemiczne i fizjologiczne, ich oddziaływanie i wspomaganie prawidłowego przebiegu procesów fizjologicznych jest bardzo szerokie. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe wchodzą w skład błon komórkowych, struktur mózgu i siatkówki, biorą udział w tworzeniu hormonów, chronią przed rozwojem miażdżycy, zmniejszają nasilenie stanu zapalnego, obniżają poziom stresu oksydacyjnego [4]. Karotenoidy zaliczane są do naturalnych przeciwutleniaczy stanowiąc istotny czynnik dla zdrowia ludzkiego. β -Karoten wraz z α -karotenem i kryptoksantyną są prekursorami witaminy A; luteina i zeaksantyna są karotenoidami plamki żółtej oka, gdzie gromadzą się i są odpowiedzialne za jej ochronę przed fotoutlenianiem [5]. Tokoferole mają silne działanie przeciwutleniające, chronią organizm przed niszczącym wpływem wolnych rodników, zapobiegając m.in. uszkodzeniom DNA, powstawaniu chorób degeneracyjnych (miażdżycy, zawały, udar serca).

Źródłem bio-olejów są m.in. orzechy (migdał, orzech ziemny, laskowy, włoski, pistacjowy), nasiona (ogórecznik, dynia, rokitnik, sezam, wiesiołek), zboża (amarantus, owies) oraz owoce i warzywa (morszczka, pomidor). W Polsce cennym źródłem bio-olejów mogą być nasiona roślin jagodowych, które znajdują się w odpadach z przetwarzania owoców na soki i napoje, w tzw. wytlókach.

Jednym z wyznaczników jakościowych charakteryzujących oleje jest ich barwa. Wygląd żywności, to pierwszy etap oceny jakości produktu. Kolor wpływa na postrzeganie smaku żywności oraz informuje ogólnie o stanie i jakości produktu. Barwa produktu, która nie jest akceptowana przez klienta, powoduje utratę zainteresowania tym produktem.

Barwa olejów jest efektem obecności w materiale wyjściowym barwników naturalnych, które podczas wydobywania oleju przechodzą do produktu. W technologiach pozyskiwania tłuszczów i olejów z materiału roślinnego najczęściej spotyka się dwie grupy związków barwnych: karotenoidy i chlorofile. Ilość obu grup pigmentów zależy od gatunku surowca i jego dojrzałości, natomiast sposób wydobywania ma wpływ na ich końcową zawartość w produkcie finalnym i decyduje o uzyskanej barwie oleju. Zainteresowanie towarzyszące zawartości barwników w olejach wynika przede wszystkim z ich aktywności pro- lub antyoksydacyjnej wpływającej na trwałość olejów [3].

Karotenoidy, jest to grupa ponad 600 naturalnych barwników poli-enowych zbudowanych z 8 jednostek izoprenowych. Umożliwiają one uzyskanie barw od żółtej poprzez pomarańczową do czerwonej.

Towarzyszą chlorofilowi w chloroplastach, nadają żółtą barwę owocom i kwiatom, obecne są również w nasionach i podziemnych częściach niektórych roślin. Uważane są za najefektywniejszy, naturalny wygaszacz tlenu singletowego, poprawiając trwałość olejów [3]. W produktach zawierających lipidy utleniające, przemiany karotenoidów są ściśle powiązane z procesami autooksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych. Powstające w tym procesie wolne rodniki i nadtlarki przyspieszają degradację karotenoidów; z drugiej strony barwniki hamują proces fotoooksydacji kwasów tłuszczowych. Szereg badań wykazuje, że, w zależności od warunków otoczenia, karotenoidy mogą wykazywać oddziaływanie pro- lub przeciwutleniające [3]. Na działalność proutleniającą mają głównie wpływ następujące czynniki: stężenie tlenu, stężenie karotenoidów, naświetlenia. Działanie przeciwutleniające wspomagane jest przez synergistyczne oddziaływanie z tokoferolami, strukturę chemiczną zawierającą grupy funkcyjne, 9 lub więcej wiązań podwójnych, strukturę acykliczną łańcuchów oraz barwę karotenoidu i model matrycy lipidowej [3].

Barwniki chlorofilowe, to barwniki porfiryne, w których podstawowy szkielet cząsteczki stanowi układ czterech pierścieni pirolowych z centralnie występującym atomem magnezu. Barwniki chlorofilowe są fotosensybilizatorami. W warunkach przechowywania olejów reakcje fotochemiczne z ich udziałem aktywują przemianę tlenu tripletowego w reaktywny tlen singletowy, który inicjuje oksydacyjne przemiany, m.in. nienasyconych kwasów tłuszczowych i karotenoidów [3 ÷ 5].

Część eksperymentalna

Charakterystyka metody pozyskiwania bio-olejów

Pomimo rozpoznania punktu krytycznego już w latach 20. XIX w., praktyczne zastosowanie własności płynów nadkrytycznych było możliwe dopiero po dokonaniu znaczącego postępu technicznego. Obecnie obserwowany jest intensywny rozwój badań procesów ekstrakcji nadkrytycznej w wielu gałęziach przemysłu, m.in. spożywczym, farmaceutycznym, kosmetycznym, paszowym paliwowym.

Instytut Nawozów Sztucznych od ponad 10 lat zajmuje się tematyką badawczą z zakresu płynów nadkrytycznych. Jednym z głównych kierunków badań jest zastosowanie płynów nadkrytycznych do procesów pozyskiwania cennych substancji z materiałów pochodzenia roślinnego i zwierzęcego na drodze ekstrakcji. W wyniku prowadzonych badań opracowano i wdrożono technologię ekstrakcji chmielu. Wybudowana została przemysłowa instalacja produkcji ekstraktu chmielowego do celów browarniczych [6].

Obecnie opracowywana jest technologia pozyskiwania olejów specjalnych, z nasion roślin jagodowych, metodą ekstrakcji nadkrytycznej przy użyciu ditlenku węgla. Prace badawcze prowadzone są z wykorzystaniem instalacji ćwierćtechnicznej, o pojemności ekstraktora ok. 20 dm³, z 3-stopniową separacją produktów oraz z zamkniętym obiegiem ditlenku węgla. Instalacja umożliwia wykonywanie badań w szerokim zakresie ciśnień ekstrakcji do 400 bar i temperatury do 100°C, z przepływem gazu ekstrahującego do 150 l/h.

Zastosowanie tej metody umożliwia pozyskiwanie bio-olejów bez narazenia ich na przemiany oksydacyjne ani przemiany termicznej degradacji. Metoda jest w pełni bezpieczna dla ludzi i środowiska. Jest to szczególnie ważne, biorąc pod uwagę docelowe wykorzystanie produktu końcowego, który musi spełniać rygorystyczne normy czystości: w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym i spożywczym. Dodatkowo metodę tę cechuje wysoka wydajność i selektywność w odniesieniu do składników aktywnych.

Podczas prac badawczych zmierzających do opracowania technologii otrzymywania olejów specjalnych, zaobserwowano w przypadku niektórych gatunków roślin, istotne zmiany barwy otrzymywanego oleju, w zależności od czasu trwania ekstrakcji. Dlatego podjęto badania nad jakościowym ujęciem obserwowanych zmian

Materiał do badań barwy

Materiał do badań stanowiły próbki bio-olejów uzyskane podczas badania kinetyki procesu ekstrakcji nadkrytycznej bio-olejów z nasion roślin jagodowych, ze zbioru 2010. Ponieważ parametry procesu ekstrakcji oleju z nasion mogą mieć istotny wpływ na barwę próbki, dlatego eksperymenty przeprowadzono w takich samych warunkach ciśnienia i temperatury (320 bar i 50°C) dla wszystkich trzech gatunków nasion (malina, aronia, truskawka) w celu uzyskania porównywalnego materiału do badań.

Aparatura i metoda analityczna

Badania wykonano przy użyciu spektrofotometru dwuwiązkowy UV-Vis Jasco model V-650.

Badania barwy próbek bio-olejów wykonano metodą spektrofotometryczną w oparciu o Polską Normę PN-A-86934 z listopada 1995 r. [7]. Zasada metody oparta jest na pomiarze wielkości absorpcji próbek olejów po ich rozcieńczeniu w n-heksanie, przy dwóch długościach fali w zakresie widzialnym: dla barwników karotenoidowych $\lambda=442$ nm i dla barwników chlorofilowych $\lambda=668$ nm. Uzyskane wartości absorpcji sumuje się i wyraża w postaci liczb całkowitych, zgodnie z równaniem (1).

$$B = 1000 \cdot (A_{442} + A_{668}) \quad (1)$$

Pomiar wartości absorpcji przy dwóch długościach fal pozwolił również na oszacowanie wpływu udziału obu grup barwników na końcową barwę produktu.

Omówienie wyników

Ze względu na to, że stabilność olejów zależy od zawartości barwników naturalnych, określenie barwy oleju stanowi bardzo użyteczną informację. Podczas opracowywania technologii ekstrakcji nasion nadkrytycznym ditlenkiem węgla barwa oleju pozwala na określenie czasu pozyskiwania ekstraktu o najbardziej pożądanej zawartości barwników.

Olej z nasion maliny

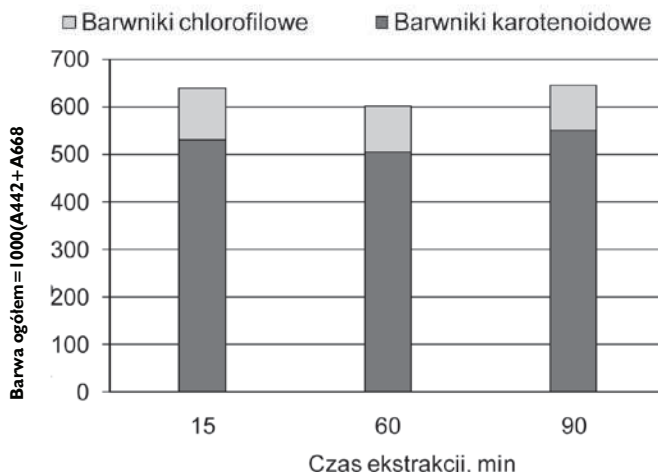
Ocenie barwy poddano trzy próbki oleju uzyskane po różnym czasie ekstrakcji. Barwa oleju z nasion maliny nie wykazuje istotnych zmian w czasie ekstrakcji i można ją określić jako barwę słomkową. Uzyskane wyniki oznaczeń parametru barwy wykonane metodą spektrofotometryczną przedstawiono w tablicy 1.

Tablica 1

Barwa bio-oleju z nasion maliny

Czas ekstrakcji, min.	Barwa oleju
15	639
60	602
90	644

Analiza udziału poszczególnych grup barwników (karotenoidów i chlorofilu) wykazuje, że w oleju z nasion maliny przeważają karotenoidy, których jest ponad 5-krotnie więcej niż chlorofilu.



Rys. 1. Udział grup barwników w barwie bio-oleju z nasion maliny

Olej z nasion aronii

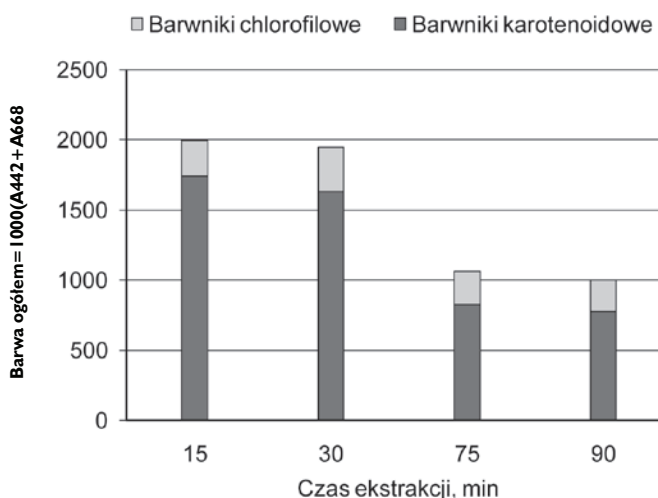
Ocenie barwy poddano cztery próbki oleju uzyskane po różnym czasie ekstrakcji. Olej miał barwę pomarańczową. Uzyskane wyniki oznaczeń parametru barwy wykonane metodą spektrofotometryczną przedstawiono w tablicy 2.

Tablica 2

Barwa bio-oleju z nasion aronii

Czas ekstrakcji, min.	Barwa oleju
15	1995
30	1947
75	1063
90	1003

Analiza udziału poszczególnych grup barwników wskazuje, że w oleju z nasion aronii przeważają karotenoidy, których w początkowym etapie ekstrakcji jest nawet 7-krotnie więcej niż barwników chlorofilowych.



Rys. 2. Udział grup barwników w barwie bio-oleju z nasion aronii

Olej z nasion truskawki

Uzyskany bio-olej wykazywał się dużą zmiennością barwy podczas procesu ekstrakcji, od koloru jasnozielonego poprzez słomkowożółty

do ciemnozielonego. Dla pełnej analizy procesu ekstrakcji barwników z nasion truskawki, pomiar barwy uzyskanego oleju wykonano szczegółowo dla ekstraktów w 15-minutowym interwale czasowym.

Uzyskane wyniki oznaczeń przedstawiono w tablicy 3.

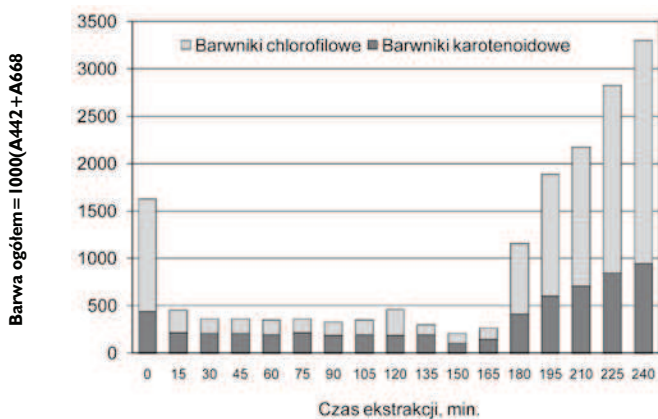
Tablica 3

Barwa bio-oleju z nasion truskawki

Czas ekstrakcji, min.	Barwa oleju	Czas ekstrakcji, min.	Barwa oleju
0	1625	135	297
15	456	150	211
30	363	165	266
45	362	180	1155
60	349	195	1889
75	364	210	2177
90	330	225	2827
105	347	240	3299
120	460		

Olej o zabarwieniu słomkowożółtym uzyskiwano pomiędzy 15 a 165 minutą ekstrakcji. Olej po kompresji (czas 0) oraz w końcowym etapie ekstrakcji (czas ekstrakcji powyżej 165 minuty) jest zielony i ciemnozielony.

Analiza udziału poszczególnych grup barwników wskazuje, że zmienność barwy poszczególnych ekstraktów wynika ze zmiany proporcji obu grup barwników (rys. 3).

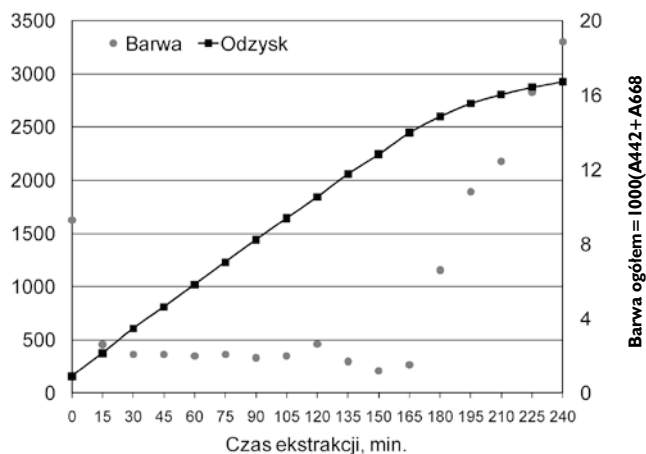


Rys. 3. Udział grup barwników w barwie bio-oleju z nasion truskawki

W próbkach bio-oleju z pierwszego okresu ekstrakcji (czas ekstrakcji od 15 do 165 minut) przeważają karotenoidy, których jest o ok. 30% więcej niż chlorofilu. W próbkach oleju po kompresji i z końcowego etapu ekstrakcji przeważają chlorofile i jest ich ponad 2-krotnie więcej niż karotenoidów.

Porównanie otrzymanych wyników z krzywą przebiegu procesu ekstrakcji prowadzi do wniosku, że zmiana barwy olejów przypada na okres zmniejszonego wydzielania ekstraktu (rys. 4).

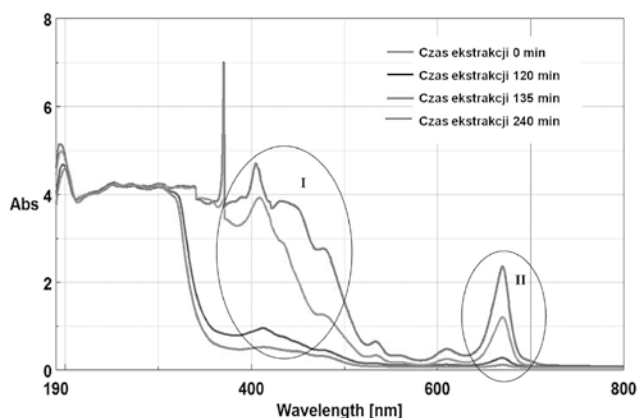
Z zestawienia uzyskanych wyników barwy odniesionych do wydajności procesu wynika, że 78% oleju uzyskanego drogą ekstrakcji nadkrytycznej z nasion truskawki, to olej o barwie średniej ważonej ok. 347, pozostałe 22%, to olej zielony o barwie ok. 1945 z przeważającą zawartością barwników chlorofilowych.



Rys. 4. Barwa oleju uzyskanego z truskawki i wydajność procesu w zależności od czasu ekstrakcji

Przykładowe widma absorpcji

W badaniach barwy pomiary absorpcji wykonywano dla określonej długości fali, ale dla kilku badanych roztworów uzyskano pełną charakterystykę widma UV-Vis otrzymanych ekstraktów olejowych poprzez wykonanie pomiaru pełnego widma absorpcyjnego. Zaprezentowane wyniki dotyczą próbek oleju z nasion truskawki, przygotowanych jak do oznaczeń barwników chlorofilowych, tj. przy rozcieńczeniu 1:1 v/v w n-heksanie (rys. 5).



Rys. 5. Widma absorpcyjne próbek bio-oleju z nasion truskawki (stężenie 1:1, v/v, olej do n-heksanu)

Wyraźnie widoczne są pasma absorpcyjne dla barwników karotenoidowych (I) i chlorofilowych (II).

Podsumowanie i wnioski

Barwa olejów jest jednym z charakterystycznych parametrów fizykochemicznych zależnym od gatunku i stopnia dojrzałości rośliny, z której olej jest pozyskiwany oraz od metody pozyskiwania. Zaprezentowane badania są pierwszą tego typu analizą dotyczącą bio-olejów pozyskiwanych metodą ekstrakcji nadkrytycznej. Zastosowana metoda spektrofotometrycznego oznaczania barwy pozwoliła na ocenę barwy olejów z trzech gatunków roślin jagodowych. Analiza wzajemnych relacji absorpcji obu grup barwnych związków karotenoidów i chlorofilu pozwala na jakościową ocenę uzyskanego oleju.

Przykładowo, wartość absorpcji dla oleju z aronii uzyskanego w 75. minucie ekstrakcji wynosi 1063; podobną wartość absorpcji uzyskuje się dla oleju z truskawki w 180. minucie ekstrakcji – 1155, chociaż wizualnie olej z aronii jest olejem pomarańczowym, a olej z truskawki – zielonym.

W świetle przeprowadzonych badań rysuje się znacząca przewaga techniki ekstrakcji nadkrytycznej nad klasycznymi metodami pozy-

skiwania olejów (tłoczenie na zimno, ekstrakcja rozpuszczalnikowa). Uzyskane wyniki przyczynią się do opracowania wytycznych technologicznych, pozwalających na optymalizację czasu trwania ekstrakcji i sposobu separacji ekstraktu olejowego w taki sposób, aby uzyskać produkt o najbardziej pożądanej przez konsumentów barwie. Pozwoli to również na redukcję zawartości związków chlorofilowych w produkcie finalnym, dzięki czemu nie będzie wymagane dodatkowe oczyszczanie uzyskanego oleju ze związków barwnych, a stabilność produktu w czasie ulegnie poprawie. Jednocześnie uzyskane dane wskazują, że możliwa jest kontrola zawartości barwników w olejach wytwarzanych na instalacji przemysłowej poprzez zainstalowanie odpowiedniej aparatury kontrolno-pomiarowej.

Literatura

1. Karłowicz-Bodalska K., Bodalski T.: *Nienasycone kwasy tłuszczowe, ich właściwości biologiczne i znaczenie w lecznictwie*. Postępy Fitoterapii 2007, **1**, 46-56.
2. Rao A.V., Rao L.G.: *Carotenoids and human health*. Pharmacological Research 2007, **55**, 207-216.
3. Rotkiewicz D., Konopka I., Tańska M.: *Barwniki karotenoidowe i chlorofilowe olejów oraz ich funkcje*. Rośliny Oleiste 2002, **XXIII**, 561-579.
4. Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K.: *Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno*. ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość 2006, **2 (47)**, 46-58.
5. Sikorski Z. E. i in.: *Chemia żywności*. WNT 2007, 142.
6. Rój E.: *Przetwórstwo chmielu w Polsce z wykorzystaniem ekstrakcji nadkrytycznej*. Chemik 2009, **62**, 3, 122-125.
7. PN-A-86934:1995. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Spektrofotometryczne oznaczanie barwy.

Dr hab. inż. Edward RÓJ jest absolwentem Wydziału Automatyki i Informatyki Politechniki Śląskiej (1974). Jest profesorem nadzwyczajnym w Instytucie Nawozów Sztucznych oraz kierownikiem Zakładu Ekstrakcji Nadkrytycznej. Zainteresowania naukowe: technologia chemiczna, zastosowanie płynów nadkrytycznych.

Mgr inż. Agnieszka DOBRZYŃSKA-INGER jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Rzeszowskiej (2000). Pracuje w Instytucie Nawozów Sztucznych jako specjalista badawczo-techniczny. Zainteresowania naukowe: inżynieria chemiczna i procesowa, płyny nadkrytyczne.

Mgr inż. Karolina GRZĘDA jest absolwentką Wydziału Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Warszawskiej (2006). Pracuje w Instytucie Nawozów Sztucznych na stanowisku chemika. Zainteresowania naukowe: inżynieria chemiczna i procesowa, technologia procesów chemicznych, technologia żywności, płyny w stanie pod- i nadkrytycznym.

Mgr inż. Dorota KOSTRZEWA ukończyła studia na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej (1998). Od 1998 r. pracuje w Instytucie Nawozów Sztucznych w Puławach na stanowisku specjalisty badawczo-technicznego w Zakładzie Ekstrakcji Nadkrytycznej. Specjalność – technologia chemiczna.

Naukowcy z całego świata w Warszawie

Blisko 200. uczonych z całego świata wzięło udział w międzynarodowej konferencji poświęconej badaniom nad lipidami. 52nd International Conference on the Bioscience of Lipids „Expanding the Horizons of Lipidomics” odbyła się w dniach 30 sierpnia a 3 września br. w Warszawie.

52. konferencja ICBL była międzynarodowym zjazdem naukowym, które stanowiło forum dla prezentacji najnowszych wyników i dyskusji wszystkich aspektów podstawowych badań naukowych dotyczących lipidów i powiązanych z tymi badaniami zastosowań praktycznych.

W konferencjach ICBL uczestniczą najwybitniejsi specjaliści w dziedzinie badań nad lipidami. Prezentowane są najciekawsze wyniki badań, najnowsze kierunki nowych poszukiwań i nowe metody badawcze.

Konferencja zapewniła możliwość dyskusji naukowych wybitnym specjalistom z dziedziny lipidologii, a dla młodych naukowców stanowiła szansę bezpośrednich kontaktów i omówienia własnych wyników z najwybitniejszymi autorytetami naukowymi. Badania nad lipidami – składnikami wszystkich żywych komórek – prowadzone są z wykorzystaniem różnorodnych, uzupełniających się podejść eksperymentalnych (biochemia, biologia molekularna, biofizyka, medycyna). Wyniki tych badań są istotne nie tylko dla poszerzenia podstawowej wiedzy naukowej, ale także dla opracowywanych nowych terapii chorób człowieka.

ICBL powstała ponad 50 lat temu. Zjazdy ICBL są organizowane corocznie, w krajach europejskich i poza Europą. Liczba uczestników zjazdu wynosi zwykle od 200 do 250 osób ze wszystkich kontynentów. Uczestnicy wzięli udział w specjalnym programie kulturalnym przygotowanym przez organizatorów. 52. konferencję ICBL zorganizowały instytucje naukowe ulokowane w Kampusie Ochota w Warszawie: Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Instytut Biologii Doświadczalnej PAN oraz Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego z udziałem Komitetu Biochemii i Biofizyki PAN.

(www.naukawpolsce.pap.pl/18.08.2011)