

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu

Katedra Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej



***Inhibicja termicznej polimeryzacji triacylogliceroli
przez przeciwutleniacze pochodzenia roślinnego***

Monika Fedko

Rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem

Prof. UPP dr hab. Dominika Kmiecika

Poznań 2023

Serdeczne podziękowania składam

*Przede wszystkich mojemu promotorowi **prof. UPP dr hab. Dominikowi Kmieciowski**
za wskazanie bardzo ciekawego obszaru badań,
wszelką pomoc w badaniach i pisaniu rozprawy,
zaangażowanie i poświęcony czas,
nieskończone pokłady cierpliwości i wyrozumiałości,
a także życzliwość, wartościowe rady i inspirujące dyskusje,
oraz niezwykle pozytywnie motywującą atmosferę pracy.*

*wszystkim **Pracownikom Katedry Technologii Gastronomicznej i Żywności Funkcjonalnej**,
z którymi miałam okazję współpracować w czasie przygotowywania niniejszej rozprawy
szczególnie **panu mgr Andrzejowi Zawalowi**,
za życzliwość, pomoc oraz wsparcie techniczne i duchowe.*

Moim Kochanym Rodzicom

za miłość, troskę, wyrozumiałość, wsparcie i umożliwienie edukacji.

Pani Jolancie Liebzeit

za życzliwość, zaangażowanie, wszelką pomoc oraz poczucie humoru.

Gosi Jędrusik oraz Bognie i Tomkowi Brzezichom

za słowa otuchy i wieloletnią przyjaźń,

które były dla mnie ogromnym wsparciem w trudnych momentach.

Spis treści

Wykaz akronimów stosowanych w pracy	6
STRESZCZENIE	7
ABSTRACT.....	8
I. WSTĘP.....	9
II. CZĘŚĆ LITERATUROWA.....	11
1. Oleje roślinne.....	11
1.1. Skład chemiczny olejów roślinnych.....	11
1.1.1. Triacyloglicerole	12
1.1.2. Sterole	14
1.1.3. Tokochromanole	17
1.1.4. Związki fenolowe.....	20
1.1.5. Karotenoidy.....	22
1.1.6. Fosfolipidy	24
1.1.7. Terpeny, terpenoidy i składniki olejków eterycznych	26
2. Metody otrzymywania olejów	27
2.1. Tłoczenie	27
2.2. Ekstrakcja chemiczna rozpuszczalnikiem organicznym.....	27
2.3. Ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym	28
2.4. Porównanie metod otrzymywania olejów	28
3. Proces smażenia	29
4. Przemiany chemiczne podczas procesu smażenia.....	32
4.1. Przemiany degradacyjne olejów roślinnych podczas smażenia.....	33
4.1.1. Przemiany oksydacyjne	35
4.1.2. Przemiany termiczne.....	36
4.1.3. Przemiany hydrolityczne	39
5. Aspekty zdrowotne procesu smażenia	40
6. Aspekty sensoryczne i technologiczne procesu smażenia.....	44
7. Substancje o działaniu przeciwutleniającym i antypolimeryzacyjnym	45
7.1. Definicja przeciwutleniaczy, ich klasyfikacja oraz mechanizm działania	45
7.2. Syntetyczne antyoksydanty.....	47
7.3. Substancje pochodzenia naturalnego.....	48
7.3.1. Sterole	48
7.3.2. Tokochromanole	49
7.3.3. Związki fenolowe.....	50

7.3.4.	Karotenoidy	51
7.3.5.	Fosfolipidy	51
II.	CEL PRACY	53
III.	CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA.....	54
10.	Materiał badany.....	54
11.	Metodyka badań.....	54
11.1.	Model badań	54
11.2.	Przygotowanie prób do badań	59
11.2.1.	Otrzymanie olejku eterycznego z oleju z czarnuszki.....	59
11.2.2.	Przygotowanie mieszanek i olejów z dodatkami	59
11.2.3.	Ogrzewanie mieszanek i olejów z dodatkami	63
11.3.	Metody badawcze	63
11.3.1.	Skład olejku eterycznego	63
11.3.2.	Profil kwasów tłuszczowych.....	63
11.3.3.	Liczba jodowa.....	64
11.3.4.	Zawartość i skład tokochochromanoli	64
11.3.5.	Zawartość i skład fitosteroli	64
11.3.6.	Rozdział frakcji niepolarniej i polarnej.....	64
11.3.7.	Zawartość związków polarnych (TPC).....	65
11.3.8.	Skład i zawartość polimerów triacylogliceroli.....	65
11.4.	Metody analizy statystycznej i opracowanie wyników	65
12.	Wyniki	66
12.1.	Wyniki I etapu badań – mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z olejami zimnotłoczonymi o wysokiej zawartości jednonienasyconych kwasów tłuszczowych.....	66
12.1.1.	Profil kwasów tłuszczowych i liczba jodowa.....	66
12.1.2.	Zawartość tokochochromanoli oraz ich stabilność podczas ogrzewania	69
12.1.3.	Zawartość fitosteroli oraz ich stabilność podczas ogrzewania	75
12.1.4.	Wpływ ogrzewania na zawartość związków polarnych (TPC).....	78
12.1.5.	Wpływ ogrzewania na zawartość utlenionych monomerów (oxTAG) oraz dimerów triacylogliceroli	80
12.1.6.	Analiza głównych składowych (PCA).....	83
12.2.	Wyniki II etapu badań – mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z olejami pozyskanymi metodą ekstrakcji CO ₂ w stanie nadkrytycznym (SFE).....	85
12.2.1.	Profil kwasów tłuszczowych i liczba jodowa.....	85
12.2.2.	Zawartość tokochochromanoli oraz ich stabilność podczas ogrzewania	88
12.2.3.	Zawartość fitosteroli oraz ich stabilność podczas ogrzewania	91

12.2.4. Wpływ ogrzewania na zawartość związków polarnych	94
12.2.5. Wpływ ogrzewania na zawartość utlenionych monomerów (oxTAG) oraz dimerów triacylogliceroli	96
12.2.6. Analiza głównych składowych (PCA).....	99
12.3. Wyniki III etapu badań – mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz oleje z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki	101
12.3.1. Skład olejku eterycznego	101
12.3.2. Profil kwasów tłuszczowych i liczba jodowa.....	102
12.3.3. Zawartość tokochromanoli oraz ich stabilność podczas ogrzewania	105
12.3.4. Zawartość i stabilność fitosteroli podczas ogrzewania.....	108
12.3.5. Wpływ ogrzewania na zawartość związków polarnych (TPC).....	110
12.3.6. Wpływ ogrzewania na zawartość utlenionych monomerów (oxTAG) oraz dimerów triacylogliceroli	112
12.3.7. Analiza głównych składowych (PCA).....	115
13. Dyskusja	117
14. Wnioski i stwierdzenia	125
15. Literatura	127
16. Wykaz rysunków	151
17. Wykaz tabel.....	154
ANEKS.....	155

Wykaz akronimów stosowanych w pracy

TAG – triacyloglicerole

SFE – ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym (ang. supercritical fluid extraction)

oxTAG – monomery utlenionych triacylogliceroli

PC-8 – plastochromanol-8

BHT – butylohydroksytoluen

BHA – butylohydroksyanizol

TBHQ – tetrabutylhydrochinonu

SFA – nasycone kwasy tłuszczowe

MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe

PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe

TPC – zawartość związków polarnych (ang. total polar compounds)

STRESZCZENIE

Wysoka temperatura stosowana podczas obróbki termicznej powoduje powstawanie szeregu szkodliwych dla zdrowia substancji m.in. produktów zawansowanego utleniania triacylogliceroli (TAG) oraz polimerów TAG, a także pogorszenie jakości olejów pod względem technologicznym i organoleptycznym. Celem pracy było zbadanie możliwości zastosowania wybranych lipofilowych dodatków w ograniczaniu polimeryzacji oraz innych procesów degradacji olejów podczas obróbki termicznej. Jako dodatki wybrano oleje o wysokiej zawartości jednonienasyconych kwasów tłuszczowych lub/i wysokiej zawartości substancji o działaniu przeciwutleniającym.

Badania podzielono na trzy etapy. W I etapie otrzymano mieszanki zawierające dodatek 5 i 25% zimnotłoczonego oleju z nasion rzepaku, z nasion kolendry oraz z pestek moreli. W II etapie zastosowano dodatek 5 i 25% olejów z nasion łubinu i czarnuszki otrzymanych metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE). W III etapie przygotowano mieszanki z dodatkiem 10 i 20% zimnotłoczonego oleju z czarnuszki oraz oleje wzbogacone dodatkiem 0,1 i 0,2% olejku eterycznego z czarnuszki, który otrzymano poprzez hydrodestylację zimnotłoczonego oleju z czarnuszki. Przygotowano również próby rafinowanego oleju rzepakowego bez dodatków (negatywna próba kontrolna) oraz rafinowanego oleju rzepakowego z dodatkiem TBHQ (pozytywna próba kontrolna). Wszystkie mieszanki i oleje ogrzano w cienkiej warstwie w temperaturze 170 oraz 200°C. Uzyskane próby oceniono pod względem profilu kwasów tłuszczowych, liczby jodowej, zawartości tokochochromanoli, zawartości fitosteroli, zawartości związków polarnych oraz zawartości utlenionych monomerów i dimerów triacylogliceroli.

Wszystkie mieszanki i próby kontrolne charakteryzowały się przeważającym udziałem jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (58,04-82,92%). Otrzymane mieszaniny różniły się także zawartością i składem tokochochromanoli oraz fitosteroli. Różnice zależały od zastosowanego dodatku oleju zimnotłoczonego lub pozyskanego na drodze ekstrakcji SFE. Badania wykazały różnice między zastosowanymi dodatkami w ograniczaniu termicznej degradacji TAG. Najmniejszym wzrostem zawartości związków polarnych w temperaturze 170 i 200°C charakteryzowały się odpowiednio próby MOR25% (o 0,17%) i ŁSFE25% (o 4,81%). Występowanie dimerów stwierdzono jedynie w próbach ogrzanych w 200°C. Najniższą zawartość dimerów spośród wszystkich przebadanych prób odznaczały się próby w II etapie badań, ŁUB5% i ŁSFE25% (odpowiednio 5,03 i 2,72 mg/100g oleju). Należy zauważyć, że większy dodatek oleju z łubinu SFE był bardziej skuteczny w ograniczaniu polimeryzacji TAG. Stężenie dodatków miało istotny wpływ na ograniczenie polimeryzacji TAG także w III etapie badań. Najniższą zawartością dimerów stwierdzano w próbach CZAR10%. Istotnie wyższą zawartością dimerów charakteryzowała się próba CZAR20%. Było związane ze znaczną zmianą profilu kwasów tłuszczowych spowodowaną przez dodatek większej ilości zimnotłoczonego oleju z czarnuszki.

Oleje zimnotłoczone oraz otrzymane przez ekstrakcję CO₂ w stanie nadkrytycznym z zastosowaniem współrozpuszczalnika, a także olejek eteryczny z czarnuszki efektywnie ograniczały utlenianie i polimeryzację TAG podczas obróbki termicznej. Uzyskane dane wskazują na możliwość wykorzystania wybranych olejów zimnotłoczonych jako aktywnych dodatków do olejów smaźalniczych. Przygotowane próbki charakteryzowały podobną lub wyższą stabilnością w porównaniu rafinowanego oleju rzepakowego z dodatkiem syntetycznego antyoksydanta TBHQ oraz wyższą stabilnością w porównaniu do rafinowanego oleju rzepakowego bez dodatków.

ABSTRACT

The high temperature used during thermal processing causes the formation of a number of harmful to health substances, including products of triacylglycerols oxidation and polymerization, as well as deterioration of the quality of oils in terms of technology and organoleptic characteristics. The aim of the work was to investigate the possibility of using selected lipophilic additives in limiting polymerization and other processes of oil degradation during thermal treatment. Oils with a high content of monounsaturated fatty acids and/or a high content of substances with antioxidant activity were selected as additives.

The research was divided into three stages. In the first stage, mixtures containing the addition of 5 and 25% of cold-pressed rapeseed oil, coriander seed oil and apricot kernel oil were obtained. In the second stage, the addition of 5% and 25% of lupine and black cumin seed oils obtained by supercritical CO₂ extraction (SFE) was used. In the third stage, mixtures with the addition of 10 and 20% of cold-pressed black cumin oil and oils enriched with the addition of 0.1 and 0.2% of black cumin essential oil, which was obtained by hydrodistillation of cold-pressed black cumin oil, were prepared. Samples of refined rapeseed oil without additives (negative control) and refined rapeseed oil with the addition of TBHQ (positive control) were also prepared. All blends and oils were heated in a thin layer at 170 and 200°C. The obtained samples were evaluated in terms of the fatty acid profile, iodine value, tocochromanols content, phytosterols content, polar compounds content and the content of oxidized triacylglycerol monomers and dimers.

All mixtures and control samples were characterized by a predominant share of monounsaturated fatty acids (58.04-82.92%). The obtained mixtures differed in the content and composition of tocochromanols and phytosterols. The differences depended on the addition of cold-pressed oil or oil from SFE extraction. The investigation showed differences between the additives applied to limiting TAG thermal degradation. The smallest increase in the content of polar compounds at 170 and 200°C was characteristic for MOR25% (by 0.17%) and ŁSFE25% (by 4.81%), respectively. Dimers were found only in samples heated at 200°C. Among all the tested samples the lowest dimers content was found in the samples from II stage of the research, ŁUB5% and ŁSFE25% (respectively 5.03 and 2.72 mg/100 g of oil). It should be noted that a higher addition of SFE lupine oil was more effective in reducing TAG polymerization. The concentration of additives had a significant impact on the reduction of TAG polymerization also in the third stage of the research. The lowest dimers content was found in the CZAR10% samples. A significantly higher content of dimers was found in the CZAR20% sample. It was associated with a significant change in the fatty acid profile caused by the addition of more cold-pressed black cumin oil.

Cold-pressed oils and oils obtained by supercritical CO₂ extraction with a co-solvent, as well as black cumin essential oil effectively limited the oxidation and polymerization of TAG during thermal processing. The obtained data indicate the possibility of using selected cold-pressed oils as active additives to frying oils. The prepared samples were characterized by similar or higher stability compared to refined rapeseed oil with the addition of synthetic antioxidant TBHQ and higher stability compared to refined rapeseed oil without additives.

I. WSTĘP

Smażenie jest jedną z czterech podstawowych metod obróbki termicznej żywności, umożliwiającą otrzymanie szerokiej gamy produktów od podsmażanych warzyw, przez potraw mączne i jajeczne w tym naleśniki, racuchy, omlety, jajecznice, po dania mięsne oraz rybne takie jak klopsy, kotlety, filety w panierce oraz wiele innych, których zróżnicowanie jest bardzo duże w różnych rejonach świata. Uzyskane produkty zyskały dużą popularność wśród konsumentów dzięki unikalnemu zestawowi cech sensorycznych, takich jak złota barwa, charakterystyczny smak i zapach oraz chrupka tekstura. Te cechy, a także krótki czas przygotowania potrawy, łatwość przeprowadzania procesu smażenia, stosunkowo niski koszt oraz powszechna dostępność potrzebnego sprzętu powodują, że smażenie jest jedną z najczęściej stosowanych metodą obróbki żywności, wykorzystywaną w gospodarstwach domowych, w gastronomii, ale także na dużą skalę w zakładach przemysłu spożywczego. Rosnące spożycie produktów smażonych wśród społeczeństwa budzi jednak zastrzeżenia lekarzy i dietetyków. Problemem jest nie tylko potencjalnie podwyższona wartość energetyczna tego rodzaju żywności, ale także występowanie w niej szeregu szkodliwych dla zdrowia produktów interakcji typu olej-olej, olej-żywność oraz żywność-żywność.

Mechanizm reakcji chemicznych zachodzących podczas smażenia jest bardzo złożony. Wynika to m.in. z dynamicznego przebiegu procesu smażenia oraz wpływu wielu różnych czynników takich jak temperatura i czasu tego procesu. Kluczowy jest również skład potrawy podlegającej smażeniu, a także skład oleju w tym szczególnie profil kwasów tłuszczowych oraz występowanie substancji towarzyszących, które mogą zarówno przyspieszać jak i spowalniać procesy degradacyjne podczas smażenia. Skupiając się na degradacji olejów, do tej pory zidentyfikowano ponad 500 związków chemicznych powstających podczas wysokotemperaturowej obróbki olejów jadalnych. Powstają one w wyniku reakcji utleniania, hydrolizy i polimeryzacji triacylogliceroli. Zaliczamy do nich m.in. monomery utlenionych TAG, polimery utlenionych i nieutlenionych TAG, wodoronadtlenki, związki dikarboksyłowe i karbonyłowe, hydroksyketony, aldehydy, alkohole lub epoksydy.

Wymienione produkty wchodzi w skład oleju smaźalniczego i razem z nim są absorbowane przez smażoną potrawę stając się jej integralną częścią. Spożywanie utlenionych produktów degradacji olejów wzmacnia między innymi stres oksydacyjny w układzie pokarmowym i tym samym zwiększa ryzyko rozwoju nowotworów i stanów zapalnych. Inne możliwe konsekwencje nadmiernej konsumpcji produktów utleniania lipidów to występowanie m.in. chorób układu sercowo-naczyniowego, chorób neurodegeneracyjnych oraz cukrzycy. Wysoka zawartość polimerów TAG w diecie może powodować podrażnienie błony śluzowej jelita, pogarszać metabolizm niezmodyfikowanych TAG oraz zaburzać pracę systemu immunologicznego. Ponadto wzrost zawartości polimerów triacylogliceroli i związany z tym wzrost lepkości tłuszczu przyczyniają się do wydłużenia procesu smażenia. W efekcie potrawy mogą charakteryzować się dodatkowo zwiększoną zawartością tłuszczu oraz produktów jego degradacji, a ponadto mogą charakteryzować się niepożądanymi cechami sensorycznymi. Degradacja olejów wpływa także na pogorszenie ich właściwości technologicznych i organoleptycznych.

Jednym ze sposobów ograniczania procesów degradacji olejów czasie smażenia jest wykorzystanie substancji zwiększających ich stabilność w wysokiej temperaturze. Ze względu na możliwy szkodliwy wpływ na zdrowie syntetycznych antyoksydantów coraz bardziej powszechne staje się poszukiwanie i stosowanie dodatków pochodzenia naturalnego, takich jak np. ekstrakty roślinne o wysokiej zawartości związków fenolowych. W wielu pracach wykazano, że dodatek ekstraktów roślinnych bogatych w związki fenolowe skutecznie ogranicza utlenianie i polimeryzację TAG, przy czym ochronne działanie tych związków w dużym stopniu zależy od ich struktury. Należy jednak zwrócić uwagę na polarny charakter takich ekstraktów i wynikającą z tego ich niską rozpuszczalność w olejach, co znacząco ogranicza praktyczne możliwości ich zastosowania. Naturalnymi lipofilowymi źródłami substancji przeciwutleniających i antypolimeryzacyjnych, takich jak tokochromanole, fitosterole, związki fenolowe lub ich estry mogą być oleje zimnotłoczone oraz oleje otrzymane przez ekstrakcję CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE), z których w prosty sposób można otrzymać mieszanki z olejami rafinowanymi tradycyjnie stosowanymi do smażenia. Łagodne warunki procesu tłoczenia na zimno, a zwłaszcza ekstrakcji SFE, umożliwiają zmniejszenie strat substancji czynnych naturalnie występujących w olejach oraz ograniczenie powstawania produktów degradacji olejów, które mogą mieć niepożądany wpływ na zdrowie konsumentów, stabilność termiczną i przechowalniczą olejów raz ich walory organoleptyczne. Ponadto możliwość zastosowania współrozpuszczalnika w ekstrakcji SFE pozwala na otrzymanie unikalnego składu olejów. Należy jednak pamiętać, że istotny wpływ na stabilność oleju, zarówno otrzymanego w wyniku tłoczenia na zimno i jak w wyniku ekstrakcji SFE ma profil kwasów tłuszczowych. W większości przypadków oleje o mniejszym stopniu nienasyceń będą bardziej stabilne, ze względu na mniejszą podatność na utlenianie. Kolejnym wartym uwagi źródłem lipofilowych substancji potencjalnie przeciwutleniających i antypolimeryzacyjnych są olejki eteryczne, które można pozyskiwać z surowców roślinnych takich jak liście, kwiaty, płatki lub korzenie. Można je również otrzymywać z surowców oleistych w tym z nasion lub owoców, a także z olejów wytłoczonych z surowców olejkodajnych np. nasion czarnuszki lub kminku. Dodatek olejków eterycznych będących źródłem związków aktywnych nie powoduje także zmiany profilu kwasów tłuszczowych oleju przeznaczonego do smażenia. Może jednak prowadzić do modyfikacji jego cech sensorycznych, co może być przyjmowane pozytywnie jak i negatywnie przez konsumentów. Dodatkowo w przypadku olejków eterycznych czynnikiem istotnym może być dobranie odpowiedniego stężenia.

Ze względu na wciąż wzrastającą popularność procesu smażenia prowadzi się obecnie szereg badań mających na celu rozwój metod smażenia, zwiększanie stabilności tłuszczu wykorzystanego w procesie jak i podnoszenia wartości odżywczej smażonych potraw. Biorąc także pod uwagę problem zdrowotny tłuszczów zdegradowanych poszukiwanie łatwych do zastosowania, rozpuszczalnych w tłuszczu związków aktywnych może być jednym z obszarów nauki niezbędnych do rozwijania. Badania powinny dążyć do pogłębienia wiedzy na temat mechanizmów działania substancji ochronnych.

II. CZĘŚĆ LITERATUROWA

1. Oleje roślinne

Oleje roślinne są wykorzystywane nie tylko w celach spożywczych, ale także w m.in. w segmencie kosmetycznym, farmaceutycznym oraz biopaliw (Viana da Silva et al., 2021). Analizując dane na podstawie dziesięciu olejów monitorowanych przez Foreign Agricultural Service (FAS) w roku 2022 81,24% światowej produkcji olejów roślinnych pochodziło z oleju palmowego (77,56 milion ton), sojowego (60,21 milion ton), rzepakowego (32,11 milion ton) oraz słonecznikowego (20,58 milion ton) (FAS, n.d.). Rozpowszechnione są również olej kokosowy, bawełniany, arachidowy, lniany oraz oliwa z oliwek (FAS, n.d.; Viana da Silva et al., 2021). Ponadto coraz bardziej popularne stają się inne, niekonwencjonalne oleje m.in. pestek dyni, pestek arbuza, pestek czarnej porzeczki, nasion granatu, nasion wiesiołka, nasion ogórecznika i wiele innych (Sabikhi & Sathish Kumar, 2012). Największym producentem i eksporterem olejów roślinnych w roku 2022 były odpowiednio Indonezja (51,564 milion ton) i Malezja (18435 milion ton) (FAS, n.d.). Światowa konsumpcja olejów jadalnych w latach 2012-2022 wzrosła o 34,54% i osiągnęła poziom 223,05 milion ton w 2022 roku, z czego 71,96% wykorzystano w sektorze spożywczym; 27,59% w sektorze przemysłowym oraz 0,45% na cele paszowe. Kolejność olejów o największej konsumpcji opowiada kolejności olejów o największej produkcji i układa się w następujący sposób - olej palmowy (75,97 milion ton) > olej sojowy (59,35 milion ton) > olej rzepakowy (31,68 milion ton) > olej słonecznikowy (18,87 milion ton).

W roku 2022 produkcja olejów roślinnych w Unii Europejskiej stanowiła 8,28% światowej produkcji i wynosiła 19,404 milion ton. Natomiast konsumpcja osiągnęła poziom 25,33 milion ton. W obu obszarach dominujący udział miały olej rzepakowy (odpowiednio 10,164 i 9,725 milion ton), olej słonecznikowy (odpowiednio 4,605 i 5,513 milion ton), olej sojowy (odpowiednio 2,784 i 2,280 milion ton) oraz oliwa z oliwek (odpowiednio 1,800 i 1,345 milion ton) (FAS, n.d.).

W Polsce na przełomie 2019/2020 łączna produkcja olejów roślinnych osiągnęła poziom 1162 000 t (Główny Urząd Statystyczny, 2013). Natomiast przeciętne miesięczne spożycie tłuszczów roślinnych na 1 osobę w gospodarstwach domowych w roku 2020 osiągnęło poziom 0,69 kg i spadło o 26,60% względem roku 2010. W latach 2021 i 2022 roku wyprodukowano odpowiednio 1,32 i 1,35 mln ton surowego oleju rzepakowego (PSPO, 2023). Z kolei produkcja rafinowanego oleju rzepakowego w roku 2021 osiągnęła poziom 525 tys. ton i w kolejnym roku wzrosła o 22 tys. ton. Na cele paliwowe w roku 2021 w Polsce zużyto 879 tys. ton oleju rzepakowego i był to wzrost o 5 proc. w stosunku do 2020 roku.

1.1. Skład chemiczny olejów roślinnych

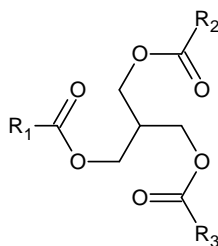
Skład chemiczny olejów roślinnych jest stosunkowo zróżnicowany i zmienia się w zależności od wielu czynników. Do najważniejszych należy gatunek oraz odmiana surowca, z którego olej jest pozyskiwany, jego dojrzałość, a także warunki pogodowe oraz agrotechniczne występujące podczas uprawy. Duże znaczenia mają także jakość surowca, metoda wytwarzania oleju oraz sposób dalszego postępowania z olejem w tym metody oczyszczania. Dodatkowo należy wymienić także sposób pakowania oleju oraz warunki jego przechowywania.

Frakcja zmydlająca się stanowi 98-99% objętości oleju i tworzą ją lipidy ulegające zmydleniu, czyli hydrolizie w pod wpływem zasady (Suárez et al., 2021). Jej głównymi składnikami są triacyloglicerole (TAG), w niewielkich ilościach występują również inne lipidy, takich jak fosfolipidy, glikolipidy, sfingolipidy oraz woski. Frakcję niezmydlającą się stanowią m.in. fitosterole, tokochromanole, karotenoidy i związki fenolowe.

1.1.1. Triacyloglicerole

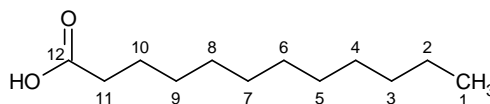
Triacyloglicerole (TAG) pod względem budowy chemicznej są estrami glicerolu i wyższych kwasów tłuszczowych (Suárez et al., 2021). Kwasy tłuszczowe tworzące triacyloglicerole różnią się długością łańcucha, położeniem oraz liczbą wiązań podwójnych (Rys. 1). W zależności od liczby wiązań podwójnych kwasy tłuszczowe nazywamy nasyconymi (brak wiązania podwójnego, ang. saturated fatty acids SFA), jednonienasyconymi (jedno wiązanie podwójne, ang. monounsaturated fatty acids MUFA) lub wielonienasyconymi (od dwóch do sześciu wiązań podwójnych, ang. polyunsaturated fatty acids PUFA). Łańcuch kwasu tłuszczowego w miejscu wiązania podwójnego jest bardziej podatny na odłączenie atomu wodoru i zainicjowanie reakcji rodnikowej, dlatego wraz ze wzrostem stopnia nienasycenia olejów spada ich stabilność oksydacyjna (Kamal-Eldin, 2006). Nienasycone kwasy tłuszczowe klasyfikujemy także w zależności od położenia pierwszego wiązania podwójnego licząc od metylowego końca łańcucha wodorowęglowego, i pod tym względem większość kwasów tłuszczowych występujących w olejach jadalnych należy do rodziny ω -3, ω -6 oraz ω -9, ale występują także kwasy o strukturze ω -7 i ω -12. Główne kwasy tłuszczowe występujące w olejach to kwas oleinowy (18:1, rodzina ω -9, np. w oleju rzepakowym, lub w oliwie z oliwek) i linolowy (18:2, rodzina ω -6, np. w oleju z nasion czarnuszki lub w oleju słonecznikowym). W mniejszych ilościach i/lub rzadziej jako dominujący kwas występują kwas linolenowy (18:3, rodzina ω -3 np. w oleju lnianym lub oleju z nasion lnianki siewnej), a także stearynowy (18:0 np. w oleju sezamowym), palmitynowy (16:0 np. w oleju mięszu owocu palmy oleistej), mirystynowy (C14:0 np. w oleju kokosowym) oraz laurynowy (C12:0 np. w oleju kokosowym lub w oleju ziaren palmy oleistej). Do rzadziej spotykanych kwasów tłuszczowych należy m.in. kwas γ -linolenowy (18:3, rodzina ω -6, np. w oleju z nasion ogórecznika lub wiesiołka) (Hayes, 2021; Suárez et al., 2021).

ogólna struktura triacylogliceroli

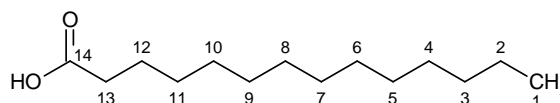


kwasy nasycone (SFA)

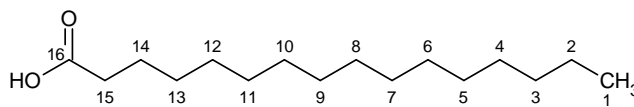
kwasy laurynowy
(C12:0)



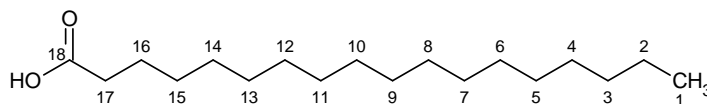
kwasy mirystynowy
(C14:0)



kwasy palmitynowy
(C16:0)

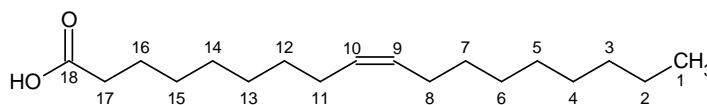


kwasy sterynowy
(C18:0)



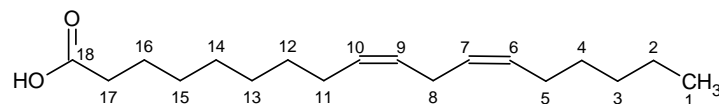
kwasy jednonienasycone (MUFA)

kwasy oleinowy
(C18:1 ω-9)

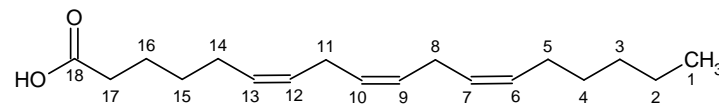


kwasy wielonienasycone (PUFA)

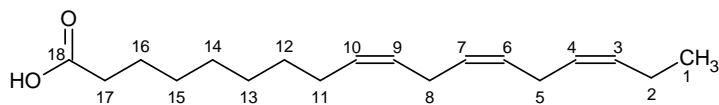
kwasy linolowy
(C18:2 ω-6)



kwasy γ-linolenowy
(C18:3 ω-6)



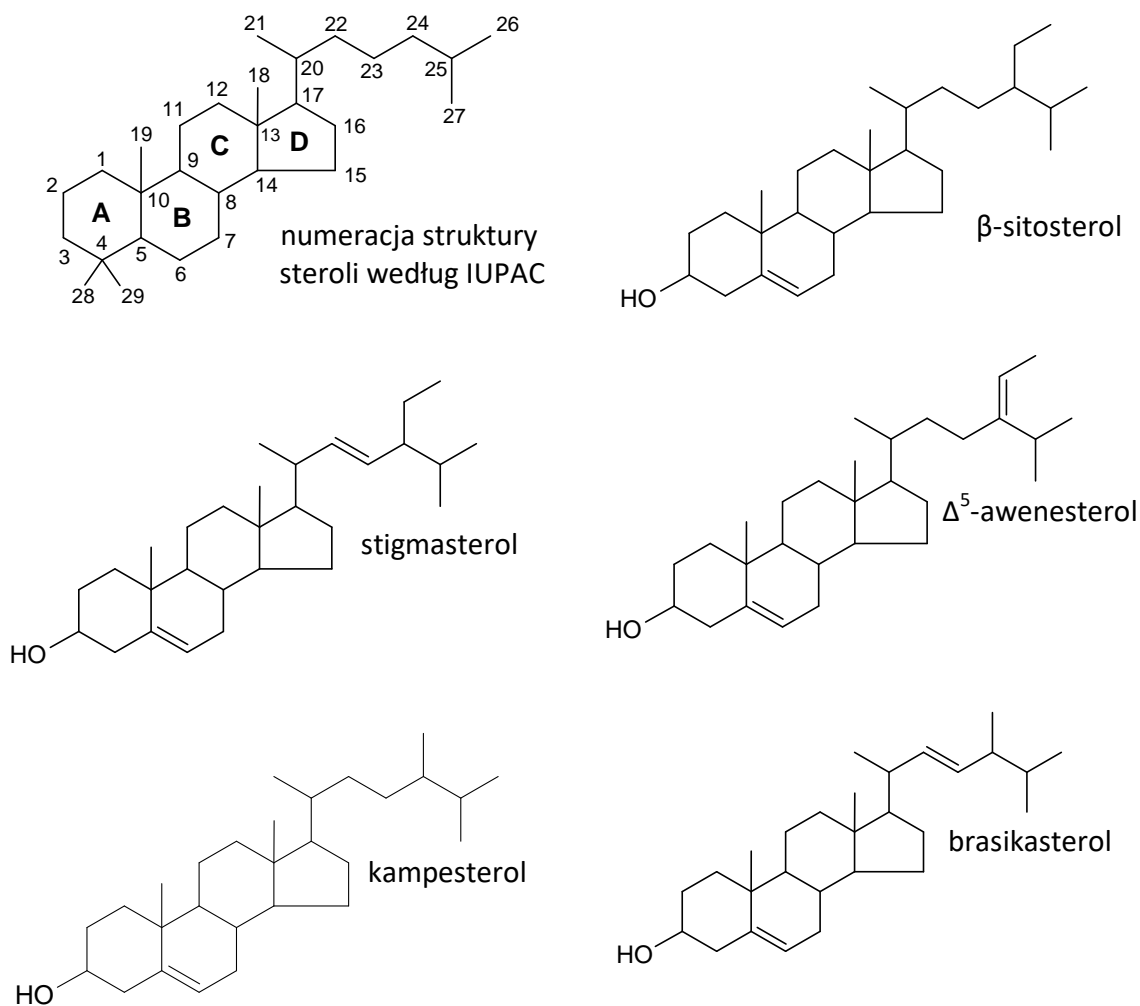
kwasy α-linolenowy
(C18:3 ω-3)



Rys. 1. Ogólna budowa strukturalna triacylogliceroli oraz wybranych kwasów tłuszczowych (Hayes, 2021; Silva et al., 2021)

1.1.2. Sterole

Sterole należą do grupy steroidów, w których rdzeń stanowi szkielet węglowy cyklopentanofenantrenu (inaczej sterenu) składający się z czterech skondensowanych pierścieni - jednego pięciowęglowego i trzech sześciowęglowych (A, B, C, D) (Rys. 2). Ten tetracykliczny układ podstawiony jest dwoma grupami metylowymi w pozycji C18 i C19 oraz węglowodorowym łańcuchem bocznym o 8-10 atomach węgla przyłączonym w pozycji C17. Występowanie podstawników w pozycji C4 odróżnia 4,4-dimetylosterole z dwoma grupami metylowymi (alkohole triterpenowe), 4-monometylosterole z jedną grupą metylową i 4-desmetylosterole, które nie posiadają podstawnika w tej pozycji (Zhu & Nyström, 2019). Ze względu na położenie wiązania podwójnego w pierścieniu B pomiędzy C5 i C6 lub pomiędzy C7 i C8 wyróżniamy odpowiednio Δ^5 -sterole lub Δ^7 -sterole. Pochodne steroli nieposiadające wiązania podwójnego w pierścieniu B nazywamy stanolami (Rudzińska, 2015). Niektórzy badacze klasyfikują je jako podgrupę nasyconych steroli, natomiast nienasycone sterole określają jako stenole (Blekas & Boskou, 2016; Zhu & Nyström, 2019). Sterole różnią się także budową łańcucha bocznego, który przy węglu C24 może mieć przyłączoną grupę metylową, etylową (o konfiguracji α lub β) lub etylodienową, a także mieć wiązania podwójne o różnej lokalizacji (np. pomiędzy C22 a C23 lub pomiędzy C24 a C28). Grupa etylowa jest najbardziej rozpowszechnionym podstawnikiem (>70% steroli) i zwykle ma konfigurację α , natomiast grupa metylowa (<30% steroli) występuje zarówno w konfiguracji α jak i β (Moreau et al., 2018; Zhu & Nyström, 2019). W przyrodzie sterole występują w postaci wolnej (wolna grupa OH w pozycji C3) lub w formie związanej jako glikozydy, acylowane glikozydy oraz estry z kwasami tłuszczowymi lub kwasami hydroksycynamonowymi (głównie kwasem felurowym) (Moreau et al., 2002). Glikozydy sterolowe, z polarnymi grupami hydroksylowymi w części glikozydowej i niepolarnymi fragmentami w skondensowanym układzie pierścieni oraz hydrofobowym łańcuchem bocznym wykazują silne powinowactwo zarówno do wody, jak i do tłuszczów. Dzięki temu mają one zdolność zmniejszania napięcia powierzchniowego w mieszaninach wodno-olejowych. Z kolei estryfikacja fitosteroli kwasami tłuszczowymi, wydłużenie łańcucha bocznego i występowanie w nim wiązania podwójnego zwiększa hydrofobowość (Feng et al., 2022; Hu et al., 2022; Nyström et al., 2012). Sterole możemy sklasyfikować także ze względu na pochodzenie jako fitosterole (sterole roślinne), zoosterole (sterole wytwarzane głównie przez zwierzęta) oraz mykosterole (sterole produkowane przez grzyby). Na podstawie analizy komputerowej obliczono, że istnieje 1778 możliwych kombinacji struktury steroli, jednak dotychczasowe badania prowadzone nad składem steroli wytwarzanych przez organizmy prokariotyczne i eukariotyczne potwierdziły występowanie co najmniej 250 steroli (Blekas & Boskou, 2016; Nes, 2011).



Rys. 2. Struktura chemiczna najpopularniejszych fitosteroli olejów roślinnych, IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry (Moreau et al., 2002, 2018)

Biosynteza fitosteroli inicjowana jest przez koenzym A (acetyl-CoA). Następnie z kwasu mewalonowego (MVA) powstaje difosforan izopentenyli (IPP), który ulega izomeryzacji do difosforanu dimetyloallilu (DMAPP) oraz uczestniczy w reakcji elongacji z wytworzeniem difosforanu geranyli (GPP). W wyniku kondensacji trzech cząsteczek IPP i GPP powstaje skwalen, który określany jest jako prekursor steroli oraz alkoholi tritepenowych, ponieważ jego cyklizacja prowadzi do powstania cycloartenolu (u roślin) lub lanosterolu (u zwierząt), które następnie przekształcane są do steroli i alkoholi tritepenowych (Lemus et al., 2014).

Skład fitosteroli w produktach spożywczych jest stosunkowo zróżnicowany, ale trzy z nich mają dominujący udział β -sitosterol (50–65%), kampesterol (10–40%) i stigmasterol 0–35% (Shahzad et al., 2017). Niektóre sterole są typowe dla wybranej grupy roślin np. brasikasterol występuje głównie w tkankach roślin kapustnych (Brassicaceae). W niektórych surowcach cechą charakterystyczną może być pozycja wiązania podwójnego w pierścieniu B. Najbardziej rozpowszechnione są Δ^5 -sterole, jednak u niektórych rodzin np. dyniowatych (Cucurbitaceae) i szarłatowatych (Amaranthaceae) dominują Δ^7 -sterole. Stanole występują głównie w olejach

roślinnych, jednak ich udział nie przekracza 10% całkowitej zawartości fitosteroli w tych produktach. 4-monometylostreole oraz 4,4-dimetylosterole zwykle występują w niewielkim stężeniu. Są one produktami pośrednimi w biosyntezie 4-desmetylosteroli, które przeważają w składzie fitosteroli (Moreau et al., 2002, 2018; Rudzińska, 2015).

Znaczne ilości fitosteroli występują w surowcach oleistych oraz w olejach roślinnych, w których są głównym składnikiem frakcji niezmydlającej się. Inne surowce roślinne będące źródłem fitosteroli to ziarna zbóż, produkty zbożowe, orzechy, rośliny strączkowe a także warzywa i owoce. Unikalnym składem i zawartością składników bioaktywnych odznacza się olej z otrąb ryżu zawierający, w zależności od czynników genetycznych oraz środowiskowych 0,9-2,9% γ -oryzanolu. Jest to złożona mieszanina estrów kwasu felurowego oraz niekiedy także w mniejszym stężeniu kwasu kawowego z fitosterolami głównie cykloartenolem, 24-metylenocykloartenolem, β -sitosterolem i kampesterolem (Lerma-García et al., 2009). γ -oryzanol wykazuje szereg korzystnych dla zdrowia oddziaływań, które w znacznej mierze przypisuje się silnym właściwością przeciwutleniającym (Lemus et al., 2014; Minatel et al., 2016). Bogatym źródłem fitosteroli jest również olej z kielków pszenicy (1,700-2,600 mg/100 g), olej z kielków kukurydzy (1,070 mg/100 g), surowy olej kukurydziany (780-1390 mg/100 g), surowy olej rzepakowy (680-880 mg/100 g) oraz surowy olej sojowy (300–440 mg/100 g) (Bai et al., 2020).

Przeprowadzono (R. Yang et al., 2019) analizę składu i zawartości fitosteroli w 13 olejach jadalnych (olej arachidowy, sojowy, rzepakowy, sezamowy, kukurydziany, słonecznikowy, lniany, z otrąb ryżu, orzecha włoskiego, nasion winogron, piwonii, kamelii, oliwa z oliwek). Całkowita zawartość fitosteroli wynosiła od 142,64 mg/100 g (olej z nasion kamelii) do 1891,82 mg/100 g (olej z otrąb ryżu). Wśród 10 zidentyfikowanych fitosteroli największy udział miał β -sitosterol (50,09-735,17 mg/100 g), a w dalszej kolejności kampesterol, stigmasterol i Δ^5 -awenasterol. Łączny udział β -sitosterolu i kampesterolu wynosił ponad 50% całkowitej zawartości fitosteroli we wszystkich badanych olejach. Wyjątkiem był olej z nasion kamelii, w którym zawartość β -sitosterolu i kampesterolu stanowiła łącznie 46,69% całkowitej zawartości fitosteroli, a cycloartanol miał udział (20,41%) większy niż w innych olejach. Najwyższą zawartością fitosteroli (kampestanolu, cykloartanolu i 24-metyleno-cykloartanolu) odznaczał się olej z otrąb ryżu, olej kukurydziany oraz olej z nasion piwonii.

Głównym sterolem pochodzenia zwierzęcego jest cholesterol (Moreau et al., 2002), który w organizmie człowieka ma wiele funkcji. Jako składnik błon komórkowych ma wpływ na ich płynność i przepuszczalność, ponadto jest również prekursorem hormonów steroidowych (Rozner & Garti, 2006). W niewielkim stężeniu występuje także w tkankach roślin (Blekas & Boskou, 2016). Jego udział w całkowitej zawartości steroli pochodzenia roślinnego zazwyczaj nie przekracza 1-2% (Moreau et al., 2002).

Fitosterole pełnią w roślinach podobne funkcje jak cholesterol w organizmach ludzi (Gylling & Simonen, 2015). Wchodzą w skład błon komórkowych i wpływają na ich właściwości fizykochemiczne. Ponadto kampesterol jest prekursorem biosyntezy brasinosteroidów, które regulują wiele czynności fizjologicznych związanych z rozwojem i obroną roślin, m.in. wpływają na reakcje obronną w warunkach zarówno stresu biotycznego jak i abiotycznego (Miras-Moreno et al.,

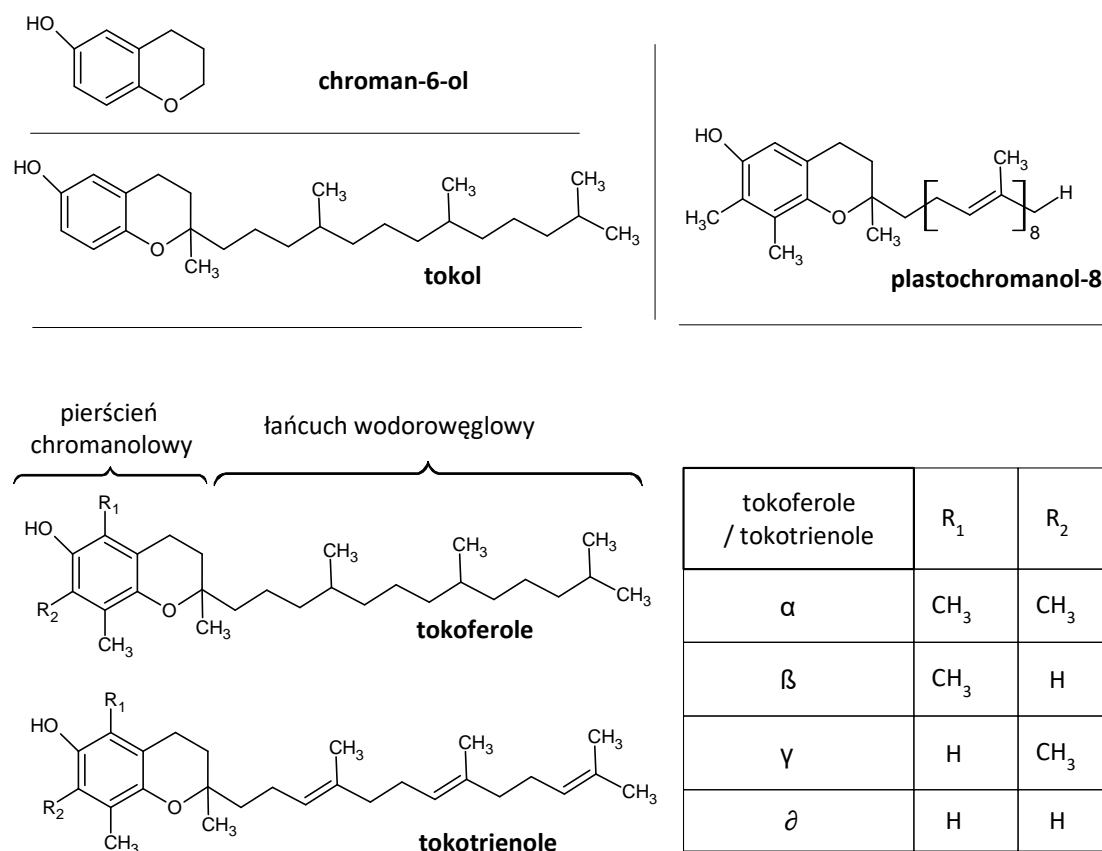
2016). Biologiczna funkcja hydroksycynamonomowych estrów steroli w roślinach jest wciąż nieznaną, jednak przypuszcza się, że poprzez ich antyoksydacyjne właściwości mogą one również uczestniczyć w reakcji obronnej rośliny w warunkach stresu spowodowanego m.in. przez patogenne mikroorganizmy lub podwyższoną temperaturę. Rola glikozydów i acylowanych glikozydów steroli przez długi czas pozostawała niejasna, ale najnowsze badania wskazują, że są one składnikami błon komórkowych, które mogą pełnić funkcję cząsteczek transportujących prekursorów lipidów w ścianach komórkowych (Moreau et al., 2018).

Fitosterole mają bardzo zbliżoną budowę do cholesterolu i różnią się od niego układem podstawników w łańcuchu bocznym oraz stopniem jego nienasycenia (Moreau et al., 2018). Na przykład sitosterol ma w pozycji C-24 przyłączoną grupę etylenową, kampesterol grupę metylową, natomiast cholesterol nie ma w tym miejscu żadnego podstawnika (Poli et al., 2021). Dzięki podobieństwu struktury fitosteroli i cholesterolu, fitosterole konkurują z cholesterolą o włączanie do miceli tworzonych w jelicie cienkim, a następnie w membrany enterocytów. Ze względu na większą masę cząsteczkową i wynikającą z tego wyższą hydrofobowość wykazują większe powinowactwo do miceli w porównaniu do cholesterolu. W konsekwencji cholesterol jest wypierany z miceli, a jego absorpcja spada wraz ze wzrostem spożycia fitosteroli. Ponadto fitosterole mogą również ograniczać wchłanianie cholesterolu poprzez bezpośrednią kokryształizację z samym cholesterolą w świetle jelita i ułatwianie jego eliminacji z kałem. Ograniczenie wchłaniania cholesterolu przez fitosterole waha się od około 5% przy spożyciu 300-400 mg/dzień do 35-40% przy spożyciu od 1500 do 2000 mg/dziennie. Dzienna dawka fitosteroli 300-400 mg, 1500-2000 mg i 3000 mg powoduje obniżenie stężenia cholesterolu w osoczu o odpowiednio 2-3, 9 i 12-12,5%. Przy większych dawkach obserwuje się tendencje do stagnacji w działaniu terapeutycznym. Jednak należy zaznaczyć, że naturalna zawartość fitosteroli i fitostanoli w produktach spożywczych jest zbyt mała, aby ich spożycie mogło przyczynić do poprawy profilu lipidowego krwi. W związku z tym w celu otrzymania produktów spożywczych oraz suplementów diety, które mogłyby w sposób niefarmakologiczny wspomóc zapobieganie oraz leczenie chorób układu sercowo-naczyniowego do niektórych z nich dodaje się fitosterole i fitostanole (Assmann & Seedorf, 2011; Gylling & Simonen, 2015; Segura et al., 2006). Liczne badania wskazują, że fitosterole i fitostanole mają także inne właściwości prozdrowotne m.in. działanie przeciwnowotworowe, przeciwutleniające oraz przeciwzapalne (Bradford & Awad, 2007; Miras-Moreno et al., 2016; Shahzad et al., 2017; Uddin et al., 2018).

1.1.3. Tokochromanole

Tokochromanole są grupą rozpuszczalnych w tłuszczach, pochodnych tokolu (Siger et al., 2021). Składają się z hydrofilowego, chromanolowego (podstawionego grupą OH w pozycji 6) układu dwóch sprzężonych pierścieni - benzenowego i tetrahydropiranowego oraz hydrofobowego, prenylowego (powstałego w wyniku kondensacji podjednostek izoprenoidowych) łańcucha bocznego (Rys. 3) (Craft, 2015; DellaPenna & Mène-Saffrané, 2011; Szymańska et al., 2019). W zależności od liczby i pozycji grup metylowych w pierścieniu benzenowym, opisujemy je literami alfabetu greckiego zaczynając od homologu α z trzema grupami metylowymi, następnie β i γ z dwoma grupami metylowymi oraz δ z jedną grupą metylową (Siger et al., 2021). Tochochromanole różnią się między

sobą także stopniem nienasylenia łańcucha i pod tym względem wyróżniamy najbardziej rozpowszechnione w przyrodzie tokoferole o nasyconym łańcuchu bocznym, rzadko występujące tokomonoenole i tokodienole odpowiednio z jednym i dwoma wiązaniami nienasyconymi oraz znajdujące w nasionach niektórych gatunków roślin głównie jednoliściennych tokotrienole z trzema wiązaniami nienasyconymi w łańcuchu bocznym. Kolejnym wyróżnikiem jest długość łańcucha bocznego, który zwykle składa się z 16 atomów węgla, jednak może być on dłuższy np. plastochromanol-8 posiada 40-węglowy łańcuch boczny o 8 wiązań nienasyconych. Do tokochromanoli zaliczamy także szereg innych niedawno poznanych związków takich jak zlokalizowane w oleju z otrąb ryżu desmetylo-tokotrienol oraz didesmetylo-tokotrienol, które różnią się od innych tokotrienoli brakiem grupy metylowej w układzie chromanolowym (Qureshi et al., 2000; Szewczyk et al., 2021).



Rys. 3. Struktura chemiczna tokochromanoli (DellaPenna & Mène-Saffrané, 2011; Siger et al., 2021; Trela & Szymańska, 2019)

Tochromanole są wytwarzane wyłącznie przez organizmy fotosyntetyzujące takie jak rośliny, sinice lub algi (Siger et al., 2021). Zawartość i skład tokochromanoli zmienia się w zależności od gatunku oraz badanego organu rośliny, a także stadium dojrzałości i warunków środowiskowych (Szymańska et al., 2019). Zawartość tokochromanoli w zielonych częściach roślin (DellaPenna & Mène-Saffrané, 2011) jest zwykle niewielka (10-50 g/g świeżej masy liści) z przewagą α-tokoferolu. Z kolei w nasionach i olejach z nich pozyskanych poziom tokochromanoli jest znacznie wyższy (300-2000 g/g oleju), przy czym γ-tokoferol jest często dominującym homologiem (Goyal et al., 2014;

Trela & Szymańska, 2019; Wojdyło et al., 2022), ale znane są oleje z znacznym (Rokosik et al., 2019; Trela & Szymańska, 2019) lub przeważającym (Górnaś et al., 2022; Pieszka et al., 2015; Trela & Szymańska, 2019) udziałem innych homologów. β - i δ -tokoferole zwykle występują w nasionach w niewielkich ilościach. Natomiast PC-8 jest wykrywany zarówno w liściach jak i w nasionach wielu gatunków roślin, m.in. w nasionach rzepaku (Szymańska et al., 2019).

Porównano (Trela & Szymańska, 2019) zawartość tokoferoli, tokotrienoli, poszczególnych homologów oraz PC-8 w 37 olejach jadalnych. Całkowita zawartość tokoferoli i tokotrienoli wynosiła odpowiednio od 1,50 (kolendra) do 247,0 mg/100 g oleju (granat) oraz od 0,10 (len) do 75,5 mg/100 g oleju (kolendra). Kolejnymi olejami o wysokiej zawartości tokoferoli okazały się olej z nasion malin (195,6 mg/100 g oleju) i Plukenetia volubilis (160,7 mg/100 g oleju), natomiast wysoką zawartość tokotrienoli stwierdzono również w olejach z nasion czarnuszki, kiełków pszenicy, oraz pestek dyni. W dwóch olejach, z nasion kolendry i czarnuszki, całkowita zawartość tokotrienoli przewyższała zawartość tokoferoli. W siedmiu olejach nie wykryto tokotrienoli. W większości olejów (25 prób) dominującym homologiem tokoferoli był γ -tokoferol, z najwyższą zawartością w oleju z nasion granatu na poziomie 238,2 mg/100 g oleju, co stanowiło 96,4% całkowitej zawartości tokoferoli w tym oleju. Przeważający udział α -tokoferolu stwierdzono w 12 olejach, ale w 3 olejach (sezam, ogórecznik i szalwia hiszpańska) nie wykryto jego obecności. Wśród tokotrienoli również przeważał homolog γ , z wyjątkiem olejów z nasion sezamu, miodli indyjskiej, moringi olejodajnej, oraz orzechów makademia i pestek dyni, które zawierały głównie α -tokotrienol. W innym badaniu (Pieszka et al., 2015) oznaczono zawartość i skład tokochromanoli w olejach z pestek truskawek, malin, czarnej porzeczki i jabłek. Całkowita zawartość tokochromanoli wynosiła od 58,48 mg/100 g dla oleju z pestek truskawek do 301,92 mg/100 g dla oleju z pestek malin. Podobnie jak we wcześniej omawianej pracy we wszystkich olejach dominującym tokochromanolem był γ -tokoferol (49,02-93,58 mg/100 g), natomiast głównym tokotrienolem był γ -tokotrienol (0,85-4,18 mg/100 g).

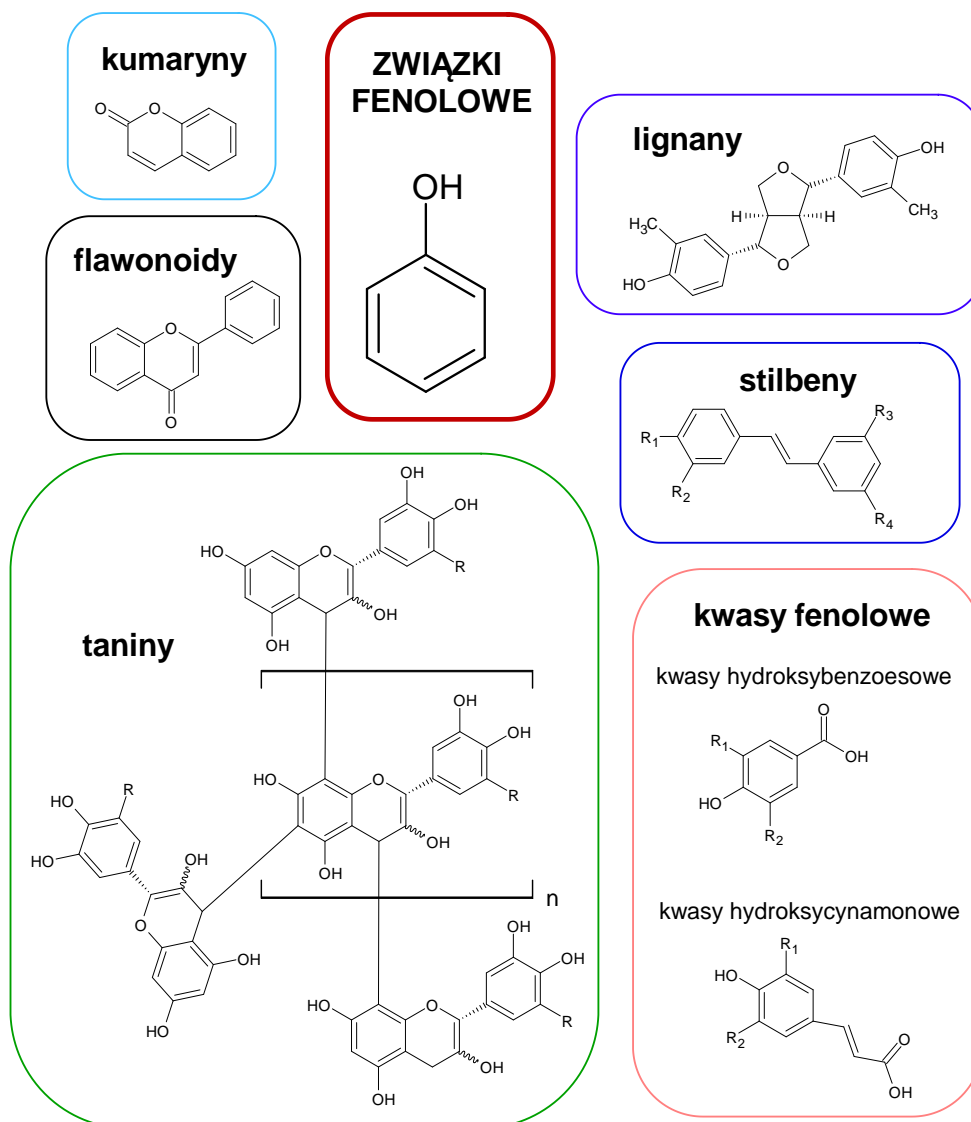
Zasadniczą rolą tokochromanoli w organizmach zarówno roślin jak i zwierząt jest działanie antyoksydacyjne poprzez eliminowanie wolnych rodników oraz reaktywnych form tlenu (Craft, 2015; Szymańska et al., 2019). Dzięki amfipatycznej budowie chronią one lipidy zawarte w błonach komórkowych przed peroksydacją i w konsekwencji u ludzi działają prewencyjnie względem chorób sercowo-naczyniowych. Ponadto ograniczają uszkodzenia struktury DNA komórek organizmu i zmniejszają prawdopodobieństwo rozwoju nowotworów. Oprócz tego regulują przepuszczalność błon komórkowych, uczestniczą w szlaku sygnałowym komórki i wpływają na ekspresję genów.

Powszechnie przyjmuje się (Niki & Traber, 2012; Szewczyk et al., 2021), że witamina E jest grupą ośmiu tokochromanoli – α -, β -, γ -, δ -tokoferolu oraz α -, β -, γ -, δ -tokotrienolu pomimo, że organizm człowieka preferuje α -tokoferol, który jako jedyny jest wykrywany w wysokim stężeniu w plazmie i w tkankach. Pozostałe homologi są degradowane i wydalane. Aktywność biologiczna wyrażona jako ekwiwalent α -tokoferolu (α -TE, mg) wynosi dla poszczególnych homologów tokoferoli α -T - 1,00; α -T3 - 0,50; β -T - 0,50; γ -T - 0,10; β -T3 - 0,05; δ -T - 0,03 (Craft, 2015). Niektórzy badacze (Azzi, 2018) sugerują, że określenie witamina E powinno być stosowane jedynie względem α -tokoferolu, ponieważ tylko ten homolog okazał się skuteczny w prewencji i zapobieganiu chorobom związanych z deficytem witaminy E. Jednocześnie przypuszcza się, że inne tokochromanole również mają

znaczenie dla organizmu (Szewczyk et al., 2021). Na przykład γ -tokoferol w przeciwieństwie do α -tokoferolu może wychwytywać reaktywne formy azotu, których wytwarzanie jest nasilone w stanie zapalnym (Szymańska et al., 2019). Ponadto niektóre badania dowodzą, że tokotrienole mogą wspomagać zwalczanie otyłości (Szewczyk et al., 2021) oraz mają większą aktywność przeciwnowotworową niż tokoferole (Szymańska et al., 2019). Dokładne wyjaśnienie wpływu tokochromanoli na organizm ludzki wymaga dalszych szeroko zakrojonych badań.

1.1.4. Związki fenolowe

Związki fenolowe składają się z jednego lub więcej pierścieni aromatycznych i zawierają co najmniej jedną grupę hydroksylową. Związki fenolowe zawierające co najmniej dwa pierścienie aromatyczne określamy jako polifenole (Cheynier, 2012). Mogą mieć prostą strukturę lub wysoko spolimeryzowaną. Większość naturalnych związków fenolowych występuje w formie glikozydów, estrów lub w innych połączeniach (Vuolo et al., 2018). Ze względu na zróżnicowaną budowę i wciąż rosnącą liczbę nowopoznanych związków fenolowych, w wielu pracach można znaleźć różne ich sposoby klasyfikacji. Jeden z nich zaprezentowano na Rys. 4. Dotychczas zidentyfikowano około 8000 roślinnych związków fenolowych, wśród których najbardziej rozpowszechnione są flawonoidy stanowiące około 60% związków fenolowych obecnych w produktach spożywczych. Flawonoidy składają się z dwóch pierścieni benzenowych (A i B) połączonych przez jeden pierścień piranu (C). Z kolei kwasy fenolowe stanowią około 30% związków fenolowych i składają się z jednego pierścienia benzenowego podstawionego co najmniej jedną grupą hydroksylową oraz co najmniej jedną grupą karboksylową. Ze względu na obecność pierścieni fenolowych w swojej strukturze związki fenolowe wykazują silne właściwości antyoksydacyjne zależne od liczby oraz układu podstawników hydroksylowych, które są różne dla poszczególnych klas i związków (Cheetangdee, 2019; de la Rosa et al., 2018; Silenzi et al., 2020). Zdolność do redukcji poziomu wolnych rodników oraz reaktywnych form tlenu w organizmie człowieka jest silnie powiązana z wpływem związków fenolowych na ograniczenie rozwoju wielu problemów zdrowotnych, w tym chorób sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych i nowotworowych. Inne prozdrowotne właściwości związków fenolowych obejmują działanie przeciwzapalne, przeciwalergiczne i przeciwmutagenne, a także polegające na regulowaniu pracy układu immunologicznego poprzez wpływ na proliferację i aktywność białych krwinek, a także produkcję cytokin (Gorzynik-Debicka et al., 2018). Niektóre związki fenolowe wpływają także na walory sensoryczne produktów spożywczych, takie jak smak gorzki lub cierpki, a także kolor.



Rys. 4. Struktura klas związków fenolowych (Ali Redha, 2021; Santos-Zea et al., 2019)

Jako duża grupa bioaktywnych składników związki fenolowe pełnią w roślinach różnorodne funkcje biologiczne istotne dla wzrostu oraz reprodukcji. Oprócz aktywności przeciwutleniającej i ochrony przed promieniowaniem UV należą do nich również zwalczanie pasożytów, odstraszenie szkodników i pasożytów, a także wabienie owadów zapylających. Pełnią również rolę wewnętrznych regulatorów i przekaźników chemicznych (Ignat et al., 2011; M. Murkovic, 2016).

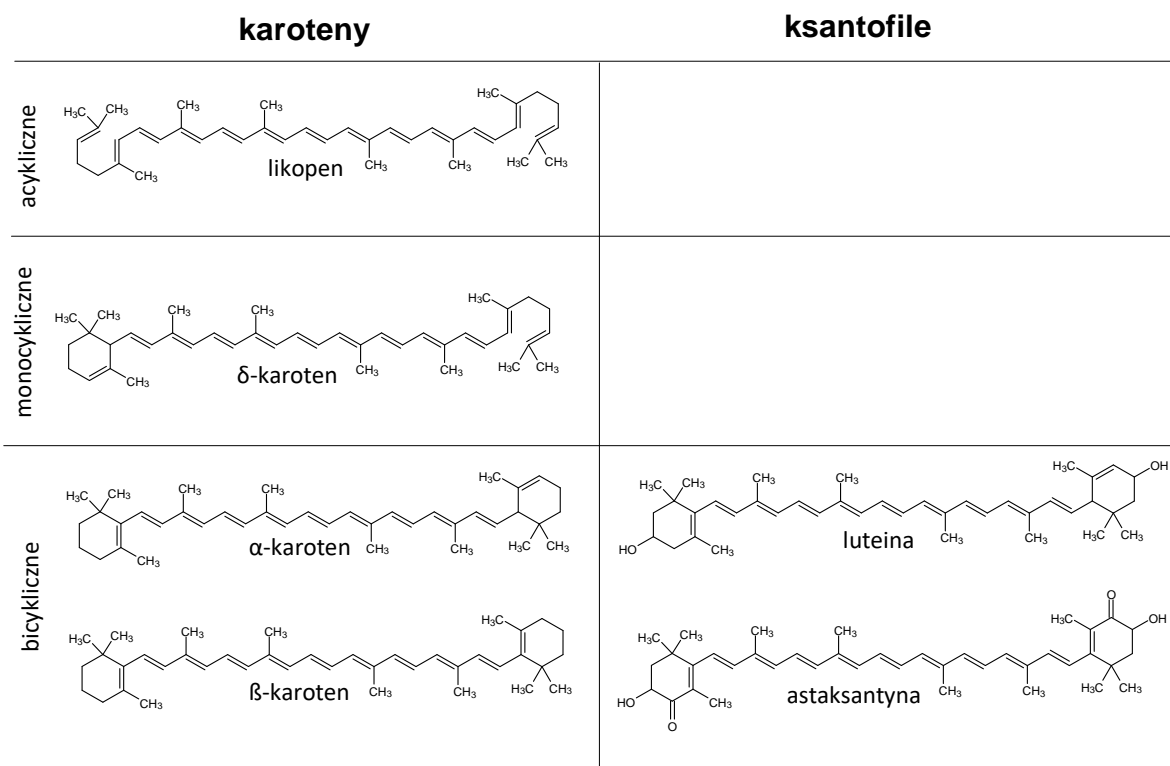
Biosynteza związków fenolowych jest oparta na szklaku kwasu szikimowego. Pierścień A powstaje z trzech jednostek malonyl CoA, natomiast pierścień B i chroman z fenyloalaniny. Biosynteza fenylopropanoidów prowadzi do powstania p-kumaroilo-CoA, który jest pierwszym kluczowym produktem pośrednim w dalszej syntezie wyższych polifenoli (naringina, flawonole, antocyjany i flawanole) (M. Murkovic, 2016).

Związki fenolowe są jedną z najbardziej rozpowszechnionych grup fitoskładników. W różnym stężeniu można je znaleźć w surowcach takich jak owoce, warzywa, herbata, zioła, przyprawy, nasiona oleiste czy produkty uboczne z rolnictwa i przemysłu (Alu'datt et al., 2017; Ignat et al., 2011; Vuolo et al., 2018). Szczególnie bogatym źródłem związków fenolowych jest oliwa z oliwek, która według różnych źródeł i w zależności od czynników takich jak odmiana, gatunek, czas zbioru, stopień dojrzałości, warunki agrotechniczne, region uprawy i wiele innych (D. Boskou, 2015; Serreli & Deiana, 2018) może zawierać od 50 do 801 mg GAE/kg (El Qarnifa et al., 2019; Yorulmaz & Konuskan, 2017). Główne klasy związków fenolowych w oliwie z oliwek to lignany takie jak acetoksypinorezinoł i pinorezinoł oraz sekoirydoidy, do których należą charakterystyczne dla oliwy z oliwek oleaceina i oleuropeina. Inne grupy związków fenolowych występujące w oliwie z oliwek to kwasy fenolowe (kwas galusowy, kwas protokatechowy, kwas p-hydroksybenzoesowy, kwas wanilinowy, kwas kawowy, kwas syringowy, kwas p- i o-kumarowy, kwas ferulowy, i kwas cynamonowy), flawonoidy (najbardziej skoncentrowane są luteolina i apigenina) oraz fenyloetanoidey (w tym typowy dla oliwy z oliwek oleocanthal). Ich stężenie początkowo jest niskie, ale podczas przechowywania oleju wzrasta na skutek hydrolizy sekoirydoidów (Serreli & Deiana, 2018). Oliwa z oliwek odznacza się unikalnym składem związków fenolowych, które zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* wykazują silne właściwości przeciwutleniające, a także działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwnowotworowe i przeciwzapalne (Morales & Lucas, 2010; Serreli & Deiana, 2018). Związki fenolowe występują także w innych olejach, szczególnie uzyskanych na drodze tłoczenia na zimno (Al Juhaimi et al., 2018).

1.1.5. Karotenoidy

Karotenoidy to grupa tetraterpenoidowych, rozpuszczalnych w tłuszczach pigmentów zwykle składających się z ośmiu jednostek izoprenowych, tworzących wielonienasycony łańcuch zawierający zwykle 40 atomów węgla, z układem sprzężonych wiązań podwójnych (Da Silveira Vasconcelos et al., 2020; Maoka, 2020; Ribeiro et al., 2018). Około 40 form karotenoidów, produkowanych przez niektóre gatunki archontów i nazywanych wyższymi karotenoidami zawiera do 50 atomów węgla w łańcuchu. Z kolei karotenoidy o łańcuchu składającym się z mniej niż 40 atomów węgla określane są apokarotenoidami. Są one wytwarzane przez pewne gatunki roślin, występują także u niektórych zwierząt jako produkty degradacji karotenoidów 40-węglowych (Maoka, 2020). Izoprenowy łańcuch jest zakończony obustronnie (karotenoidy bicykliczne) lub jednostronnie (karotenoidy monocykliczne) węglowodorowym pierścieniem bądź ugrupowaniem acyklicznym (karotenoidy alifatyczne) (Gramza-Michałowska et al., 2021). Karotenoidy możemy podzielić na podstawie struktury chemicznej na karoteny i ksantofile (Rys. 5). Karoteny to węglowodorowe związki niezawierające w swojej strukturze tlenu. Dotychczas zidentyfikowano około 50 karotenów występujących w naturze, do których zaliczamy m.in. α -karoten, β -karoten, γ -karoten oraz likopen. Natomiast ksantofile posiadają tlenowe grupy funkcyjne takie jak grupę hydroksylową, karbonylową, aldehydową, epoksydową, karboksylową lub furanotlenkową. Niektóre ksantofile występują w formie estrów z kwasami tłuszczowym, glikozydów, siarczków lub białkowych kompleksów. Zróżnicowana budowa i możliwe liczne modyfikacje sprawiają, że ksantofile są znacznie bardziej obszerną grupą karotenoidów niż karoteny – do roku 2018 poznano około 800 form ksantofili takich jak luteina, zeaksantyna, β -kryptoksantyna, astaksantyna,

fukoksantyna lub perydynina (Maoka, 2020). Należy również dodać, że ze względu na występowania tlenu w cząsteczce ksantofile odznaczają się większą polarnością niż karoteny (Da Silveira Vasconcelos et al., 2020).



Rys. 5. Struktura chemiczna wybranych karotenoidów (Siger et al., 2021; Z. Sun et al., 1996)

Karotenoidy są największą grupą wtórnych metabolitów (Da Silveira Vasconcelos et al., 2020), syntetyzowanych przez rośliny i niektóre mikroorganizmy (Neri-Numa et al., 2020). Ich obecność stwierdzono w liściach, owocach, warzywach, kwiatach, korzeniach oraz nasionach. U roślin wyższych występują w plastydach, zwłaszcza w chloroplastach, tkankach fotosyntetyzujących oraz chromoplastach owoców i kwiatów (Da Silveira Vasconcelos et al., 2020; Langi et al., 2018). Surowy olej palmowy należy do najbogatszych źródeł karotenoidów (500-700 mg/kg), w innych olejach roślinnych zawartość karotenoidów zwykle nie przekracza 100mg/kg oleju (Bozdoğan Konuşkan, 2020). Według danych prezentowanych w pracy przeglądowej (Aksoylu Özbek & Günç Ergönül, 2020) zawartość karotenoidów w zimnotłoczonym oleju z pestek dyni wynosiła 6,9–22,8mg/100g, a głównymi karotenoidami były luteina (ponad 8,8mg/100g) i γ -karoten (5,8mg/100g), w mniejszych ilościach występowały β -karoten (0,5–0,6mg/100g), α -karoten (1,7mg/100g), zeaksantyna (2,6–2,9mg/100g), kryptoksantyna (0,4–0,5mg/100g) i 9-cis- γ -karoten (1,8mg/100g).

Najbardziej istotną cechą struktury karotenoidów jest rozległa delokalizacja wiązania π w układzie sprzężonych wiązań podwójnych. Dzięki temu karotenoidy posiadające co najmniej siedem sprzężonych wiązań podwójnych mają zdolność pochłaniania światła widzialnego (Ribeiro et al., 2018; Zia-ul-haq, 2021). Długość układu chromoforowego określa spektrum absorpcji światła widzialnego przez cząsteczkę i decyduje o barwie surowców, która zmienia się od żółtej, przez

pomarańczową, do czerwonej (Fraser & Bramley, 2004; Ribeiro et al., 2018). Ponadto im dłuższy łańcuch sprzężonych wiązań podwójnych tym większa aktywność przeciwutleniająca, która w dużej mierze polega na zdolności do wygaszenia tlenu singletowego, ale wynika także z innych mechanizmów przeciwutleniających (Sandmann, 2021). Niektóre pierwotne karotenoidy, takie jak luteina, uczestniczą w procesie fotosyntezy przenosząc pochłoniętą energię na cząsteczki chlorofilu. Inne, wtórne karotenoidy, w tym astaksantyna i kantaksantyna chronią komórki przed nadmiernym promieniowaniem podczas fotosyntezy (Langi et al., 2018). Inną funkcją karotenoidów jest stabilizowanie błon komórkowych, dzięki obecności lipofilowego łańcucha oraz polarnych grup funkcyjnych (Sandmann, 2021)

Ludzie i zwierzęta nie posiadają zdolności syntetyzowania karotenoidów (Neri-Numa et al., 2020), dlatego muszą przyjmować je razem z pożywieniem lub suplementować. Podstawową funkcją karotenoidów w organizmie oprócz redukcji wolnych rodników i ograniczania peroksydacji lipidów dzięki właściwościom przeciwutleniającym jest rola prekursora witaminy A. Należy dodać, że aktywność prowitaminy A wykazują jedynie karotenoidy zawierające pierścieniowe ugrupowanie β -jononu. Zaliczamy do nich α -karoten, β -karoten, β -kryptoksantynę oraz γ -karoten (Maoka, 2020). Z kolei luteina i zeaksantyna są istotnymi składnikami plamki żółtej oka i wykazano, że dzięki zdolności pochłaniania światła niebieskiego ich wysoki poziom w krwi zapobiega chorobom narządu wzroku m.in. zwyrodnieniu plamki żółtej związanym z wiekiem oraz katarakcie (Eggersdorfer & Wyss, 2018; L. H. Li et al., 2020). Karotenoidy wykazują także inne właściwości prozdrowotne, w tym zmniejszają ryzyko wystąpienia nowotworów (np. likopen), osteoporozy, chorób układu sercowo-naczyniowego poprzez ograniczanie powstawania i utleniania lipoproteiny o niskiej gęstości, a także korzystnie wpływają na działanie funkcji poznawczych oraz układu immunologicznego (Bhatt & Patel, 2020; Eggersdorfer & Wyss, 2018; Manochkumar et al., 2021; Rowles & Erdman, 2020).

Biosynteza większości karotenoidów rozpoczyna się od jednostki izoprenowej, z której wytwarzany jest pirofosforan izopentenylu (IPP) i jego izomer allilowy pirofosforan dimetyloallilu (DMAPP). Trzy cząsteczki IPP są kolejno dodawane do DMAPP przez enzym transferazy prenylowej, z wytworzeniem pirofosforanu geranylogeranylu (GGPP, C20). Następnie w wyniku kondensacji dwóch cząsteczek GGPP powstaje pierwszy bezbarwny karotenoid 15-cis-fitoen (C40). Substancje te są wytwarzane w organizmach fotosyntetyzujących dwoma niezależnymi drogami: szlakiem miewalonianu (MVA) i szlakiem 4-fosforanu metyloerytrytolu (MEP) (Da Silveira Vasconcelos et al., 2020; Fernandes et al., 2018).

1.1.6. Fosfolipidy

Fosfolipidy to amfifiliowe estry glicerolu połączonego z dwoma kwasami tłuszczowymi oraz jednym kwasem fosforowym, który jednocześnie został zestyfikowany polarną grupą pochodzącą od alkoholu lub aminokwasu (N. Sun et al., 2018). Układ reszt kwasowych zestyfikowanych z grupami hydroksylowymi glicerolu kształtuje się następująco – w pozycji pierwszej reszta kwasu tłuszczowego, zwykle o nasyconym łańcuchu; w pozycji drugiej reszta kwasu tłuszczowego o łańcuchu nienasyconym; natomiast w pozycji trzeciej reszta kwasu fosforowego. Polarną grupą przyłączoną do kwasu fosforowego w fosfolipidach może być m.in. cholina w fosfatydylocholinie,

seryna w fosfatydyloserynie, etanoloamina w fosfatydyloetanoloaminie, lub inozytol w fosfatydyloinozytolu. Fosfolipidy różnią się również długością łańcucha węglowodorowego w kwasach tłuszczowych. Fosfolipidy powszechnie występują w nasionach wielu roślin oleistych m.in. soi, słonecznika, rzepaku, lnu oraz olejach z nich otrzymanych, a także w żółtku jaj oraz mleku (Drescher & van Hoogevest, 2020). Zawartość fosfolipidów w olejach jest bardzo zróżnicowana i może wynosić od 1,3 g/kg oleju (czarna porzeczka) (Zlatanov, 1999) do 49 g/kg oleju (kasztan jadalny) (Zlatanov et al., 2013). W większości olejów dominującym fosfolipidem jest fosfatydylocholina. W znacznych ilościach występują również fosfatydyloetanoloamina i kwasy fosfatydowe. W oleju z nasion aronii przeważający udział ma fosfatydyloinozytol. Fosfolipidy usuwane są z olejów w procesie rafinacji.

Budowa fosfolipidów ma kluczowe znaczenie dla ich aktywności biologicznej oraz ich wpływu na zdrowie człowieka. Badania na ludziach oraz badania przedkliniczne wykazały pozytywny wpływ diet wzbogaconych w fosfolipidy na funkcjonowanie procesów poznawczych zarówno u osób zdrowych jak objawiających pogorszenie w działaniu funkcji kognitywnych (Schverer et al., 2020). Istnieją dane wskazujące (N. Sun et al., 2018), że suplementacja fosfolipidami, a szczególnie fosfatydylocholiną i fosfatydyloetanoloaminą może korzystnie wpływać na działanie pamięci i opóźnić jej pogorszenie związane z podeszłym wiekiem. Wykazano, że fosfatydylocholina, fosfatydyloseryna zawierające w cząsteczce łańcuchy kwasu dokozaheksaenowego przywracały równowagę lipidową w mózgu myszy karmionych dietą wysokotłuszczową (Y. C. Zhao et al., 2020). Ponadto fosfolipidy (N. Sun et al., 2018), głównie fosfatydylocholina i lizofosfatydylocholina, są ważnymi składnikami śluzu jelitowego i mają istotną rolę w działaniu układu odpornościowego. Stwierdzono, że suplementacja fosfolipidami ma znaczny wpływ na reakcje przeciwzapalną organizmu oraz ma działanie immunomodulacyjne.

Fosfolipidy są głównymi składnikami wszystkich błon komórkowych, zarówno u ludzi jak i u roślin (Cowan, 2006; N. Sun et al., 2018). Stanowią barierę przed wnikaniem zewnętrznych czynników do wnętrza komórki (Vance et al., 2008). Budowa kwasów tłuszczowych przyłączonych do fosfolipidów wpływa na właściwości fizykochemiczne, płynność i przepuszczalność tych struktur (Ruelland et al., 2015). Ponadto u roślin fosfolipidy regulują wzrost i rozwój organizmu oraz jego odpowiedź na czynniki stresowe (Xue et al., 2009). Mają istotne znaczenie w szlaku sygnałowym, będąc prekursorami wtórnych przekazników, takich jak diacyloglicerole (DG) i inozytol-1,4,5-P₃ (Vance et al., 2008). Inne fosfolipidy mogą działać jako mediatory brasinosteroidów w roślinach. Na przykład lizofosfatydyloetanoloamina uczestniczy w kontroli wzrostu korzeni za pośrednictwem brasinosteroidów u rzodkiewnika pospolitego (Ruelland et al., 2015; yoon Jeong et al., 2012).

Główny szlak biosyntezy fosfolipidów, podobnie jak innych acylowych lipidów występujących w roślinach obejmuje acylację 3-fosforanu glicerolu w pozycji pierwszej i drugiej (Guschina et al., 2014).

1.1.7. Terpeny, terpenoidy i składniki olejków eterycznych

Olejki eteryczne to złożone mieszaniny lotnych substancji o właściwościach hydrofobowych (Masyta et al., 2022). Mogą być ekstrahowane z różnych części roślin, takich jak kora, pąki, kwiaty, owoce, liście, skórki, korzenie, gałązki czy nasiona. Można je również pozyskiwać z olejów otrzymanych z nasion. Składniki olejków eterycznych pod względem struktury można podzielić na cztery grupy: terpeny, terpenoidy, fenylopropanoidy i inne składniki. Podstawową jednostką budulcową terpenów jest 5-węglowa jednostka izoprenu. Terpeny klasyfikujemy w zależności od stopnia polimeryzacji (liczby tworzących je jednostek izoprenowych) i na tej podstawie wyróżniamy hemiterpeny, (5 atomów węgla), monotereny (10 atomów węgla), seskwiterpeny (15 atomów węgla), diterpeny (20 atomów węgla), triterpeny (30 atomów węgla) i tetraterpeny (40 atomów węgla). Monoterpeny są głównymi składnikami olejków eterycznych (90%). W mniejszych ilościach występują seskwiterpeny, oraz hemiterpeny, diterpeny, triterpeny, tetraterpeny i ich tlenowe pochodne. Terpenoidy są pochodnymi terpenów zawierającymi tlenowe grupy funkcyjne takie jak grupa hydroksylowa, nadtlenkowa, karbonylowa lub karboksylowa. Fenylopropanoidy składają się z aromatycznego pierścienia połączonego z propanowym łańcuchem, który często posiada wiązanie podwójne. Terpeny i terpenoidy są syntetyzowane na drodze szlaku kwasu malonowego, natomiast fenylopropanoidy powstają przez szlak szikimowy. Inne składniki występujące w olejkach eterycznych to pochodne aminokwasów takich jak alanina, izoleucyna, leucyna, walina oraz metionina. Inne rzadko spotykane składniki to poliketydy, jasmonidy takie jak kwas jasmonowy, jasmonian metylu, cis-jasmon.

Monoterpeny i ich pochodne są grupą ponad 30000 wtórnych metabolitów, które w roślinach mogą mieć funkcje allelopatyczne, wabiące owady zapylające, lub odstrasżające szkodniki (Graßmann, 2005). Olejki eteryczne wykazują szeroki zakres aktywności biologicznej w tym działanie przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwalergiczne oraz regulujące układ immunologiczny (Masyta et al., 2022).

Porównano (Hamed et al., 2017; Kiralan et al., 2021) skład olejków eterycznych otrzymanych przez hydrodestylację olejów z nasion czarnuszki siewnej wyłoczonych z zastosowaniem prasy hydraulicznej oraz ślimakowej. W obu próbach zidentyfikowano 16 związków, większość z nich była terpenami. Głównymi składnikami były tymochinon (odpowiednio 56,29 i 68,13%) oraz p-cymene (odpowiednio 26,20 i 20,11%). Oleje wyłoczono z wydajnością 20,5% (w prasie hydraulicznej) i 21,1% (w prasie ślimakowej). Natomiast wydajność olejków eterycznych wynosiła 1,78% (oleju wyłoczonego za pomocą prasy hydraulicznej) i 2,6% (oleju wyłoczonego za pomocą prasy ślimakowej). W innej pracy (Ivanova-Petropulos et al., 2015) zbadano skład związków lotnych w olejach z nasiona słonecznika, lnu, rzepak, sezamu oraz pestki dyni. W sumie oznaczono 97 związków, z czego 41 stanowiło terpeny i większość z nich wykryto w olejach z nasion słonecznika oraz pestek dyni. Zidentyfikowano także kwasy, alkohole, aldehydy, alkany, alkeny, estry, furany, pirazyny oraz związki siarki.

2. Metody otrzymywania olejów

2.1. Tłoczenie

Jedną z pierwszych metod otrzymywania olejów było tłoczenie. Proces ten polega na wyciskaniu oleju z rozdrobnionego surowca pod wpływem ciśnienia wytworzonego w prasie ślimakowej lub hydraulicznej. Wykorzystując prasy hydrauliczne surowiec musi zostać w pierwszej kolejności rozdrobniony, a następnie poddany procesowi tłoczenia. Wykorzystując prasy ślimakowe proces rozdrabniania może zostać pominięty. Wynika to z sposobu pracy prasy ślimakowej, gdzie surowiec jest rozdrabniany bezpośrednio w urządzeniu. Tłoczenie oleju może odbywać się dwiema metodami – tłoczenie na zimno (w temperaturze do 49°C) lub tłoczenie na gorąco (w temperaturze od 90 do 100°C). Tłoczenie na gorąco umożliwia uzyskanie większej wydajności w porównaniu do tłoczenia na zimno, ale jednocześnie negatywnie wpływa na jakość otrzymanego oleju, ponieważ wysoka temperatura tłoczenia powoduje degradację oleju (powstanie wolnych kwasów tłuszczowych, produktów utleniania TAG) oraz wydobyć większą ilość niepożądanych substancji zawartych w nasionach takich jak metale ciężkie lub wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne. Z kolei tłoczenie na zimno ma mniejszą wydajność (Yilmaz & Güneşer, 2017), ale umożliwia zmniejszenie strat substancji bioaktywnych, które naturalnie występują w nasionach i przechodzą do oleju podczas tłoczenia (Bozdoğan Konuşkan, 2020). W ten sposób jest możliwe otrzymanie produktu o unikalnych walorach sensorycznych oraz o zwiększonej wartości dodanej. Do zalet tej metody należą również stosunkowo niski koszt aparatury oraz niestosowanie rozpuszczalników chemicznych, co jest dobrze przyjmowane przez konsumentów i zmniejsza uciążliwość procesu produkcyjnego dla środowiska. Jednak należy pamiętać, że jakość oleju otrzymanego tą metodą jest zmienna i zależy w dużej mierze od czynników zewnętrznych niezwiązanych z samym procesem tłoczenia m.in. jakości nasion (Nde & Anuanwen, 2020). Produktami procesu tłoczenia zarówno metodą tłoczenia na zimno jak i na gorąco są olej oraz wyłok (nazywany również makuchem).

W przypadku tłoczenia na zimno otrzymany olej jest nazywany olejem zimnotłoczonym. Olej pozyskany metodą tłoczenia na gorąco, ze względu na zawartość zanieczyszczeń nie jest zdatny do spożycia i należy poddać go oczyszczaniu (rafinacji). Proces ten składa się z czterech etapów – odśluzowania, odkwaszania, bielenia i odwaniania. Olej otrzymany po rafinacji jest nazywany olejem rafinowanym.

2.2. Ekstrakcja chemiczna rozpuszczalnikiem organicznym

Ekstrakcję chemiczną rozpuszczalnikiem organicznym można zastosować w produkcji oleju rafinowanego w celu zwiększenia wydobywania oleju z makuchów. Jako rozpuszczalnik obecnie zwykle stosuje się n-heksan ze względu na jego liczne zalety takie jak łatwość oddzielenia od oleju, niskie ciepło parowania (330 kJ/kg), wąski zakres temperatur wrzenia (63–69°C) oraz niepolarny charakter (Rani et al., 2021). Otrzymaną mieszaninę oleju i rozpuszczalnika (miscela) podaje się destylacji w celu usunięcia rozpuszczalnika. Uzyskany olej jest określany olejem ekstrakcyjnym, natomiast pozostałość po procesie ekstrakcji to śruta ekstrakcyjna. Olej ekstrakcyjny oraz olej z tłoczenia na gorąco łączy się otrzymując olej surowy, który jest mocno zanieczyszczony (ekstrakcja chemiczna dodatkowo zwiększa wydobyć niepożądanych substancji) i wymaga rafinacji, aby mógł być wykorzystywany w celach spożywczych.

2.3. Ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym

Alternatywną metodą produkcji olejów jest ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym (ang. supercritical fluid extraction, SFE), jest to szczególny rodzaj ekstrakcji rozpuszczalnikowej, w której płyn w stanie nadkrytycznym pełni rolę rozpuszczalnika. Substancja chemiczna znajduje się w stanie nadkrytycznym, gdy jej temperatura i ciśnienie przekroczą właściwe dla danej substancji wartości (punkt krytyczny). W takich warunkach ciecz i gaz nie występują jako odrębne fazy, a właściwości substancji w stanie nadkrytycznym są pośrednie pomiędzy gazem i cieczą - jej lepkości jest zbliżona do gazów, a gęstość podobna do cieczy. Dzięki temu płyn nadkrytyczny może przenikać stałą matrycę jak gaz i jednocześnie rozpuszczać jej składniki jak ciecz (Ahangari et al., 2021; Janiszewska & Witrowa-Rajchert, 2005; Rój, 2000). W rezultacie transfer masy w SFE zachodzi dużo szybciej, a czas procesu ulega znacznemu skróceniu w porównaniu do klasycznej ekstrakcji chemicznej (nawet z kilku godzin lub dni do kilkadziesiąt minut). Przewagą SFE jest także wysoka selektywność względem ekstrahowanych składników oraz czystość końcowego produktu, którą uzyskuje się sterując parametrami procesu i w efekcie odpowiednio modyfikując siłę solwatacji. Do zalet należy również możliwość prowadzenia procesu z dobrą efektywnością w stosunkowo niskich temperaturach, co znacznie ogranicza straty termolabilnych składników. Ponadto SFE nie stosuje uciążliwych dla środowiska rozpuszczalników lub ich wielokrotnie mniejsze objętości w porównaniu do klasycznej ekstrakcji chemicznej (Sahena et al., 2009). SFE umożliwia otrzymanie olejów o bardzo dobrej jakości, jednak jest to metoda dużo bardziej kosztowna w porównaniu do dwóch pozostałych, dlatego dotychczas nie znalazła zastosowania na szerszą skalę. Jako rozpuszczalnik najczęściej stosowany jest CO₂, ze względu na cechy takie jak nietoksyczność, niepalność, niski koszt, łatwość usunięcia po procesie ekstrakcji oraz neutralny wpływ na ekstrahowane substancje. Skompresowany CO₂ ma charakter niepolarny, dlatego olej ekstrahowany w ten sposób będzie miał niską zawartość polarnych składników frakcji nieglicerynowej np. związków fenolowych. Jednak jest możliwe zmodyfikowanie selektywności procesu w kierunku wzbogacenia oleju w pożądane polarne substancje poprzez dodatek współrozpuszczalnika np. etanolu (Ahangari et al., 2021).

2.4. Porównanie metod otrzymywania olejów

Porównano (Koubaa et al., 2017) oleje z nasion opuncji czerwonej pozyskane przez ekstrakcję heksanem oraz ekstrakcję SFE-CO₂. Stwierdzono, że ilość związków fenolowych w oleju otrzymanym z zastosowaniem SFE-CO₂ jest ponad dwukrotnie wyższa (172,2 µg GAE/g oleju) niż w oleju ekstrahowanym heksanem (76,1 µg GAE/g oleju). Jednocześnie aktywność przeciwutleniająca mierzona metodą DPPH była zbliżona w obu olejach.

Oceniono (Gao et al., 2018) skład olejów z orzecha włoskiego otrzymanych jedną z pięciu metod, poprzez tłoczenie na zimno, tłoczenie orzechów prażonych, ekstrakcję heksanem, ekstrakcję nadkrytyczną butanem oraz SFE-CO₂. Wykazano, że badane oleje nie różniły się istotnie składem frakcji lipidowej, zawartością fitosteroli oraz skwalenu. Natomiast najwyższą zawartością związków fenolowych oraz najwyższą aktywnością przeciwutleniającą mierzona metodami DPPH, FRAP i ABTS odznaczał się olej tłoczony z orzechów prażonych (odpowiednio 84,49 mg/kg; 574,73; 111,80; 498,53 µmol TE/kg). Z kolei najwyższą zawartość tokoferoli odnotowano w oleju pozyskanym metodą SFE-CO₂ (474,19 mg/kg).

W innych badaniach (Ixtaina et al., 2011; Lopes & Bernardo-Gil, 2005) stwierdzono, że olej otrzymany przez klasyczną ekstrakcję rozpuszczalnikową charakteryzował się wyższą lub porównywalną zawartością tokoferoli, fitosteroli oraz związków fenolowych w porównaniu do oleju uzyskanego metodą SFE-CO₂.

Odmienne wyniki uzyskano w kolejnej pracy (Belayneh et al., 2017), w której porównano zawartość substancji bioaktywnych w olejach z Inianki siewnej otrzymanych w wyniku ekstrakcji heksanem, tłoczenia na zimno, SFE-CO₂ bez współrozpuszczalnika oraz z etanolem jako współrozpuszczalnikiem. Ekstrakcje nadkrytyczną wykonano w różnych warunkach temperaturowych (50 i 70°C), ciśnienia (35 i 45 MPa), oraz przy różnym stężeniu etanolu (0-10% w/w). Olej pozyskany metodą SFE-CO₂ w temperaturze 50°C i przy ciśnieniu 35 MPa bez udziału etanolu zawierał najwięcej tokoferoli i fitosteroli (odpowiednio 800 mg/kg i 7000 mg/kg). Natomiast dodatek już małej ilości etanolu w procesie ekstrakcji nadkrytycznej zwiększał zawartość związków fenolowych, oprócz wariantu przeprowadzonego w warunkach 50°C i 35 MPa.

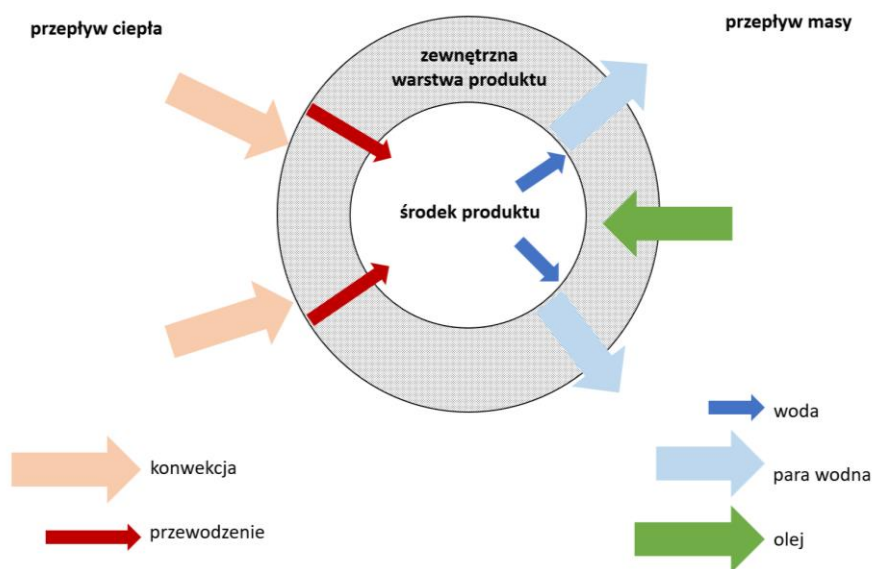
Zbadano (Cuco et al., 2019) wpływ temperatury i ciśnienia w procesie SFE-CO₂ na skład olejów otrzymanych z pestek dyni oraz z mieszanki pestek i skórek dyni. Wyniki odniesiono do danych dla olejów pozyskanych w wyniku klasycznej ekstrakcji heksanem i wspomaganą ultradźwiękami. Oleje otrzymane metodą SFE-CO₂ charakteryzowały się wyższą zawartością związków fenolowych, tokoferoli i fitosteroli, przy czym więcej substancji bioaktywnych zawierał olej otrzymany z mieszanki pestek i skórek dyni.

W kolejnej pracy (Mohammed et al., 2016) porównano jakość olejów otrzymanych przez tłoczenie na zimno oraz SFE-CO₂ nasion czarnuszki. Olej uzyskany metodą SFE-CO₂ zawierał więcej tymochinonu i związków fenolowych (odpowiednio 6,37 mg/ml i 160,51 mg/100ml GAE) oraz odznaczał się wyższą aktywnością przeciwutleniającą mierzoną metodą FRAP i jednocześnie niższą aktywnością przeciwutleniającą wyrażoną jako DPPH IC₅₀ (odpowiednio 1,58 mg/ml i 538,67 mmol/100 mL).

3. Proces smażenia

Smażenie polega na ogrzewaniu produktu spożywczego w gorącym tłuszczu. Podczas tego procesu dochodzi do wymiany ciepła, a także wymiany masy (Rys. 6), ponieważ składniki potrawy przenikają do oleju, z kolei olej penetruje potrawę nadając jej charakterystyczny smak i zapach. Szybkość wymiany ciepła zależy od różnicy temperatur między olejem a produktem spożywczym i jest opisywana przez współczynnik przenikania ciepła ($Wm^{-2} K^{-1}$). W pierwszym etapie, gdy produkt jest zanurzony w gorącym oleju o temperaturze od 160 do 190°C, a ciepło jest przekazywane konwekcyjnie poprzez graniczną warstwę oleju temperatura produktu wzrasta do 100°C w ciągu zaledwie paru sekund. Szybkość wymiany ciepła zależy również od lepkości oleju – jest ona tym większa im niższa jest lepkości oleju, ponieważ olej o niskiej lepkości tworzy cieńszą warstwę graniczną. Kolejnym etapem jest wrzenie, podczas którego woda równomiernie rozproszona w produkcie odparowuje z jego powierzchni, jednocześnie wzrasta współczynnik przenikania ciepła. Usunięcie wody oraz ulatniające się pęcherzyki pary wodnej, które drażą mikrokanaliki umożliwiają

powstanie chrupkiej skórki. W następnym etapie woda jest stopniowo usuwana z głębszych warstw produktu, co ułatwiają powstałe wcześniej mikrokanaliki. Współczynnik przenikania ciepła zmniejsza się i pomimo, że parowanie zachodzi mniej intensywnie niż wcześniej to jednak ciśnienie pary wciąż jest dość wysokie, aby zapobiec chłonięciu tłuszczu przez potrawę. Ciepło wewnątrz produktu, od jego powierzchni do środka jest przekazywane na drodze przewodzenia. Im wyższa temperatura i bardziej gwałtowne odparowanie wody tym struktura produktu staje się bardziej porowata i chrupka. Po wyjęciu produktu z tłuszczu następuje jego ochłodzenie, a tłuszcz zaadsorbowany na powierzchni tłuszczu wnika w porowatą strukturę produktu powstałą po odparowaniu wody (Fellows, 2017; Korczak & Kmiecik, 2016).



Rys. 6. Schemat wymiany ciepła i masy w produkcie podczas procesu smażenia (Al Faruq et al., 2022)

Istnieje kilka metod smażenia różniących się ilością tłuszczu smaźalniczego, rodzajem stosowanego naczynia, sposobem ogrzewania lub rodzajem potrawy. Różni autorzy przedstawiają różne sposoby ich klasyfikacji. Rozróżnia się dwie zasadnicze metody smażenia. Pierwsza, to smażenie w cienkiej warstwie (ang. shallow frying), w którym ciepło jest przekazywane poprzez cienką warstwę oleju (1-10 mm). Proces jest najczęściej prowadzony na patelni (ang. pan frying). Drugim popularnym sposobem smażenia jest smażenie głębokie (ang. deep-frying), w którym produkt jest całkowicie zanurzony w gorącym tłuszczu (Fellows, 2017). Inni autorzy prezentują nieco bardziej szczegółowy podział (Korczak & Kmiecik, 2016):

- smażenie kontaktowe, bez tłuszczu, bezpośrednio na nagrzanej do temperatury 150-300°C powierzchni naczynia lub urządzenia, pokrytej powłoką zapobiegającą przywieraniu. W ten sposób mogą być przygotowywane m.in. potrawy z ciasta lanego takie jak naleśniki lub gofry;
- smażenie w cienkiej warstwie tłuszczu, gdzie tłuszcz stanowi 5-10% masy smażonej potrawy i jego główną rolę jest zapobieganie przywieraniu potrawy do nagrzanej powierzchni oraz miejscowemu jej przegrzewaniu. Temperatura procesu wynosi 170-220°C, a mechanizmem przekazywania ciepła od gorącej powierzchni do powierzchni potrawy jest przewodnictwo.

Tym sposobem otrzymuje się m.in. procjowane potrawy mięsne, potrawy z ciasta lanego oraz wstępnie podsmażane warzywa;

- smażenie w średniej warstwie tłuszczu, w temperaturze 160-190°C, gdzie tłuszcz stanowi 10-30% masy smażonej potrawy, a jego rolą jest nie tylko zapobieganie przywieraniu potrawy do nagrzanej powierzchni oraz miejscowemu jej przegrzewaniu, ale także w pewnym stopniu, tworzenie środowiska przekazujące ciepło do produktu. W ten sposób smaży się procjowane potrawy z mięsa mielonego, a także ryby i warzywa;
- smażenie głębokie nazywane również smażeniem zanurzeniowym, lub we fryturze, w którym stosunek masy tłuszczu do masy produktu mieści się w granicach od 4:1 do 10:1. Tłuszcz pełni rolę medium przekazującego konwekcyjnie ciepło od gorącej powierzchni do powierzchni potrawy. Temperatura procesu wynosi 130-180°C. W ten sposób przygotowuje się m.in. frytki, chipsy, pączki.

Szczególną, wywodzącą się z krajów dalekowschodnich techniką smażenia jest stir-frying, podczas którego stosuje się patelnie typu wok. W tej metodzie potrzebne jest nieco mniej oleju niż podczas tradycyjnego smażenia na patelni, temperatura oleju jest wyższa (230°C), a czas smażenia krótszy (Y. Cui et al., 2017; Devi et al., 2021).

Opracowano wiele innowacyjnych metod smażenia potraw. Ich stosowanie ma celu głównie poprawę jakości otrzymanych potraw, w tym ograniczenie niepożądanych przemian typowych dla procesu smażenia. Do najbardziej popularnych, alternatywnych metod należą (Al Faruq et al., 2022):

- smażenie mikrofalowe (ang. microwave frying) – transfer ciepła odbywa się z zastosowaniem promieniowania mikrofalowego, dzięki jednemu z dwóch zjawisk – polaryzacji orientacyjnej lub przewodnictwu jonowu. Międzynarodowy Związek Telekomunikacyjny (ang. International Telecommunications Union) zaleca, aby zakres promieniowania mikrofalowego w warunkach domowych wynosił 2,45 GHz, natomiast w warunkach przemysłowych 915 MHz lub 2,45 GHz;
- smażenie próżniowe (ang. vacuum frying) – proces jest prowadzony w szczelnie zamkniętym układzie, przy niskim ciśnieniu (6,65kPa). Umożliwia to obniżenie temperatury smażenia (90-120°C). Z kolei niska temperatura i zminimalizowanie ekspozycji na tlen przyczyniają się do zredukowania niepożądanych przemian w oleju i potrawie podczas smażenia;
- smażenie w gorącym powietrzu (ang. air frying) – to alternatywna metoda, w której zamiast zanurzać potrawę w gorącym oleju, jest ona pokrywana cienką warstwą oleju i umieszczana w strumieniu gorącego powietrza o wysokiej prędkości przepływu. Uzyskane produkty zawierają 45-50% mniej oleju, ale jednocześnie ich cechy organoleptyczne często znacząco różnią się od produktów otrzymanych tradycyjną metodą;
- smażenie z zastosowaniem promieniowania podczerwonego (ang. radiant frying) – w tej metodzie ciepło jest przekazywane od źródła podczerwieni do produktu, dzięki emisji promieniowania o częstotliwości w zakresie od 0,78 do 1000 μm . Trudność stanowi utrzymanie ciągłości w przekazywaniu ciepła. Rozwiązaniem tego problemu może być technika smażenia z zastosowaniem kontrolowanej dynamicznej emisji promieniowania

podczerwonego. Stwierdzono, że pozwala to uzyskać produkty o mniejszej zawartości oleju oraz o porównywalnej ogólnej ocenie sensorycznej;

- smażenie próżniowe wspomagane ultradźwiękami (ang. ultrasound-assisted frying) – to hybrydowa technologia umożliwiająca poprawę jakości produktów, dzięki obniżeniu temperatury i skróceniu czasu smażenia. Uzyskane potrawy zawierają mniej tłuszczu i są lepiej oceniane pod względem tekstury i koloru. Ponadto jest to rozwiązanie bardziej efektywne energetycznie w porównaniu do konwencjonalnych metod;
- metody kombinowane takie jak smażenie mikrofalowo-próżniowe (ang. microwave vacuum frying), smażenie mikrofalowo-próżniowe wspomagane ultradźwiękami (ang. ultrasound combined with microwave vacuum frying).

4. Przemiany chemiczne podczas procesu smażenia

Wymiana masy pomiędzy składnikami potrawy i oleju w wysokiej temperaturze i w obecności tlenu prowadzi to szeregu złożonych interakcji pomiędzy składnikami medium smaźalniczego a tłuszczem występującym w smażonym produkcie oraz pozostałymi, nietłuszczowymi składnikami (Sánchez-Muniz et al., 2007). Te interakcje znacznie komplikują mechanizm przemian oraz generują szereg różnorodnych produktów. Mogą one mieć zarówno pozytywny jak i negatywny wpływ na jakość potrawy pod względem zdrowotnym oraz organoleptycznym, co zostanie szerzej omówione w kolejnych rozdziałach. Reakcje zachodzące podczas procesu smażenia możemy podzielić na trzy grupy (Zeb, 2019a):

- interakcje typu olej-olej – reakcje chemiczne pomiędzy składnikami oleju, zostaną szczegółowo omówione w rozdziale 4.1 Przemiany degradacyjne olejów roślinnych podczas smażenia;
- interakcje typu żywność-żywność – reakcje chemiczne pomiędzy składnikami potrawy, zachodzące pod wpływem wysokiej temperatury. Ich produktami są m.in. 5-hydroksymetylo-2-furfural (HMF), heterocykliczne aminy aromatyczne (HAA) i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), a także produkty reakcji nieenzymatycznego brunatnienia zachodzące pomiędzy białkami i cukrami redukującymi (tzw. reakcje Maillarda);
- interakcje typu żywność-olej – reakcje chemiczne pomiędzy składnikami potrawy i składnikami oleju, ich produkty można podzielić dalej na dwie podgrupy. Do pierwszej podgrupy należą związki nietlotne, które powstają w wyniku reakcji Maillarda pomiędzy białkami lub aminokwasami a produktami utleniania lipidów, takimi jak aldehydy, epoksydy, hydroksyketony i związki dikarbonylowe. Produktami końcowymi są makrocząsteczki nadające brązowe zabarwienie. Druga podgrupa obejmuje związki lotne, które mogą nadawać potrawie zarówno pożądany jak i niepożądany smak i zapach (C. Dobarganes et al., 2000).

Reakcje Maillarda to złożona grupa reakcji nieenzymatycznego brunatnienia, zachodzących podczas procesów obróbki termicznej (smażenie, ale także pieczenie, grillowanie) produktów spożywczych pomiędzy białkami, a cukrami redukującymi, ewentualnie pomiędzy białkami a

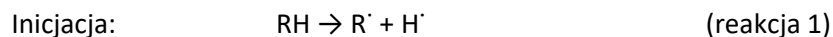
produktami utleniania lipidów zawierającymi karbonylowe grupy funkcyjne. Produkty reakcji Maillarda to szerokie spektrum substancji, takich jak melanoidyny, ketony, aldehydy i związki heterocykliczne, które mogą mieć zarówno pozytywny jak i negatywny wpływ na właściwości odżywcze i sensoryczne potrawy (X. Liu et al., 2020). Cały proces można podzielić na trzy etapy. W pierwszym dochodzi do kondensacji pomiędzy wolnymi grupami aminowymi białek i/lub aminokwasów z karbonyłowymi grupami cukrów redukujących z wydzieleniem cząsteczki wody. Produktem tej reakcji jest zasada Schiffera ulegająca cyklizacji do niestabilnej cząsteczki N-podstawionej glikozyloaminy. Następnie w wyniku przegrupowania Amadoriego lub przegrupowania Heynsa powstają pierwsze stabilne produkty, odpowiednio 1-amino-1-deoksy-2-ketoza lub 2-amino-2-deoksyaldoza. Są one bezbarwne i nie wpływają na właściwości sensoryczne potrawy. Przebieg drugiego etapu zależy od wartości pH środowiska. Poniżej pH 7 w wyniku 1,2-enolizacji powstają hydroksymetylofurfural lub furfural, natomiast powyżej pH 7 w następstwie 2,3-enolizacji powstają reduktony (np. 4-hydrokso-5-metylo-2,3-dihydrofuran-3-on, HMFon) oraz produkty rozszczepienia (np. aldehyd pirogronowy). Substancje te mają żółtą barwę i zmieniają smak oraz zapach potrawy. W ostatnim etapie dochodzi do kondensacji aldorowej wcześniej powstałych produktów i wytworzenia melanoidyn – wielkocząsteczkowych substancji o brązowym zabarwieniu (Nooshkam et al., 2019). Reakcje Maillarda zachodzące podczas smażenia w głębokim tłuszczu bez udziału cukrów redukujących prowadzą do powstania głównie lotnych związków heterocyklicznych zawierających azot, takich jak pirazyny, pirydyny czy pirole (Tamanna & Mahmood, 2015).

Ogół związków lotnych powstających podczas smażenia potraw jest złożoną mieszaniną kilkudziesięciu, a nawet kilkuset różnych składników, które mogą powstawać w efekcie każdej z trzech rodzajów interakcji (olej-olej, żywność-żywność, żywność-olej), dlatego jednoznaczne określenie szlaku ich powstawania jest stosunkowo trudne (C. Dobarganes et al., 2000). Podczas analizy składu aldehydowych związków lotnych (Q. Zhang et al., 2015) powstałych w wyniku ogrzewania oleju sojowego, głębokiego smażenia ciasta pszennego lub głębokiego smażenia kurczaka łącznie zidentyfikowano 25 aldehydowych związków lotnych. Stanowiły one odpowiednio 71,25; 66,54; i 71,77 % wszystkich związków lotnych wykrytych w tych próbach. W drugiej części badań (Q. Zhang et al., 2018) wykryto odpowiednio 283, 208 i 151 niealdehydowych związków lotnych, w tym alkany, alkeny, alkiny, alkohole, ketony, związki zawierające azot i inne. W kolejnym badaniu (Tian et al., 2021) wśród związków lotnych powstających podczas smażenia szalotki w różnych temperaturach wykryto w sumie 93 związków lotnych, w tym 23 aldehydy, 15 alkoholi, 25 związków zawierających azot, 11 związków zawierających siarkę, 6 fenoli, 5 ketonów, 4 furany, 2 kwasy i 2 inne związki.

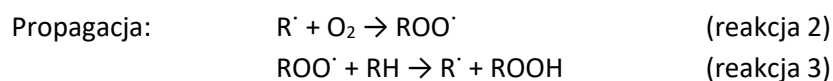
4.1. Przemiany degradacyjne olejów roślinnych podczas smażenia

Podczas wytwarzania i magazynowania nienasyconego oleju w obecności tlenu zostaje zapoczątkowany proces autooksydacji. Mechanizm tego procesu opiera się na wolnorodnikowej reakcji łańcuchowej, która obejmuje trzy etapy – inicjacji, propagacji i terminacji (Talbot, 2016). W pierwszym etapie następuje oderwanie atomu wodoru od łańcucha kwasu tłuszczowego, zwykle

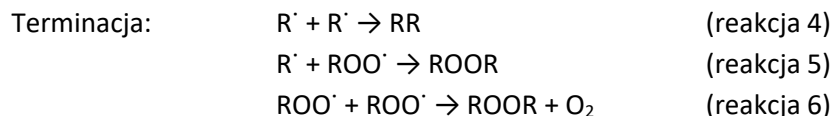
przy metylenowym atomie węgla w pozycji α względem wiązania podwójnego, w wyniku czego powstaje rodnik alkilowy (reakcja 1).



Następnie na etapie propagacji rodnik alkilowy reaguje z tlenem co prowadzi do wytworzenia rodnika nadtlenkowego (peroksyłowego, ROO^\cdot) (reakcja 2). Jest on bardzo reaktywny i może oderwać kolejny atom wodoru od tej samej cząsteczki TAG (jeśli posiada ona więcej wiązań wielokrotnych) lub od innej cząsteczki TAG (zawierającej nienasycone kwasy tłuszczowe). W efekcie powstaje wodoronadtlenek TAG oraz kolejny rodnik alkilowy (reakcja 3), który może ulegać dalszym analogicznym przemianom kontynuując etap propagacji reakcji łańcuchowej, poprzez wielokrotne powtarzanie opisanych reakcji.



Ostatnim etapem jest terminacja, podczas której nagromadzone rodniki reagują ze sobą w różnych kombinacjach tworząc nierodnikowe produkty utlenienia TAG (reakcje 4-6).



W niskich i średnich temperaturach proces utleniania zachodzi stosunkowo powoli, a jego głównymi produktami są wodoronadtlenki TAG (ROOH), pierwotne (pierwszorzędowe) produkty degradacji oleju. Pod wpływem wysokiej temperatury podczas smażenia rozpuszczalność tlenu w oleju maleje, ale jednocześnie następuje przyspieszenie i pogłębienie niepożądanych przemian, które możemy podzielić w następujący sposób (Chen et al., 2021; Kmiecik & Korczak, 2010):

- przemiany oksydacyjne (pod wpływem kontaktu z tlenem),
- przemiany termiczne (pod wpływem wysokiej temperatury),
- przemiany hydrolityczne (pod wpływem wody pochodzącej z produktów).

Wszystkie wymienione reakcje zachodzą podczas smażenia jednocześnie i z dużą intensywnością, powodując wytworzenie niezwykle złożonej mieszaniny produktów.

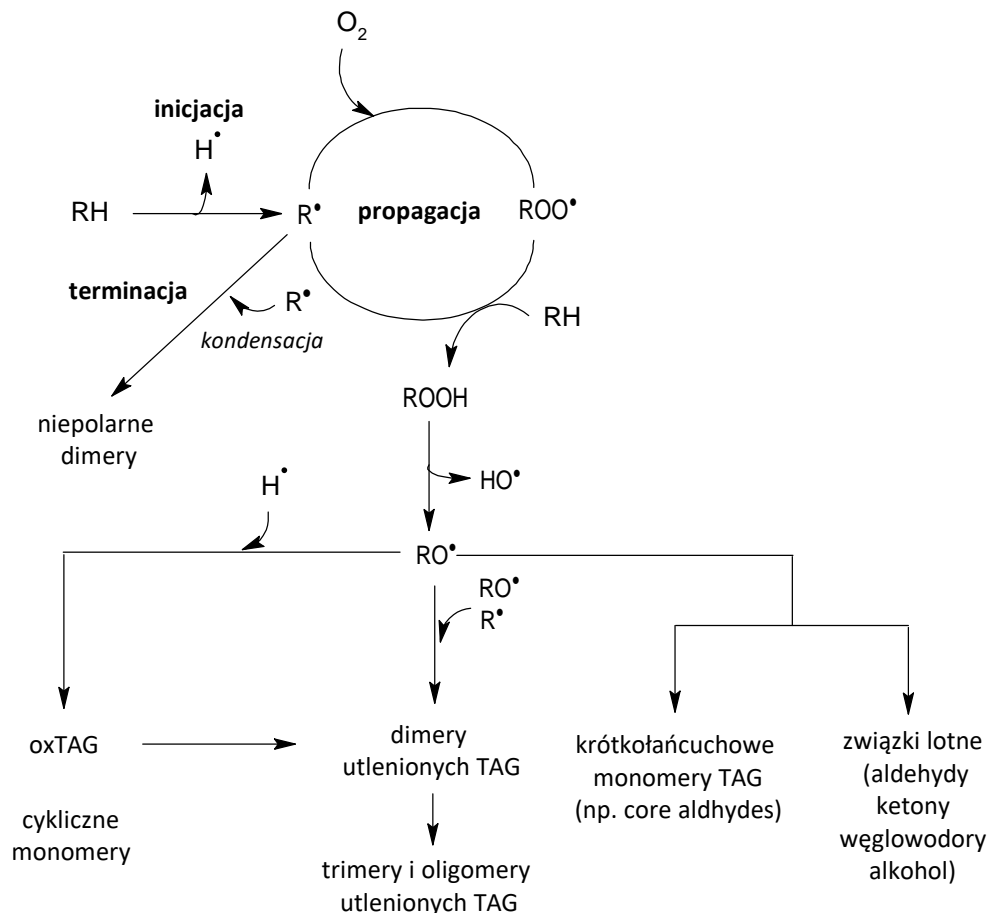
Produkty degradacji TAG występujące w olejach smaźalniczych można pogrupować ze względu na masę cząsteczkową w następujący sposób (Hosseini et al., 2016; Márquez-Ruiz et al., 2010):

- związki lotne o masie cząsteczkowej niższej niż 1,8 kDa powstałe przez oderwanie fragmentu cząsteczki TAG, to związki o najniższej masie cząsteczkowej spośród innych produktów degradacji TAG (np. aldehydy, ketony, małowcząsteczkowe węglowodory).
- związki nielotne, o masie cząsteczkowej wyższej niż 1,8 kDa

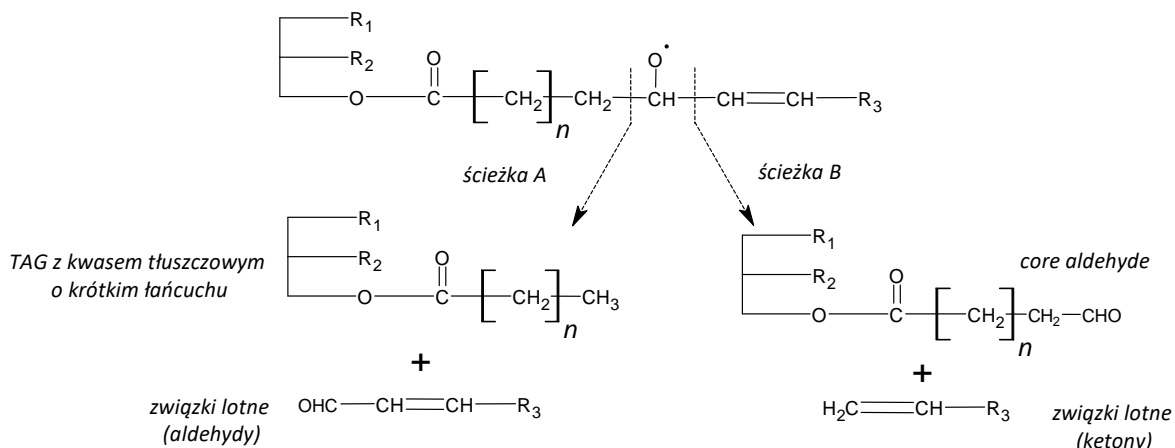
- o utlenione monomery TAG to zmodyfikowane TAG powstałe przez przyłączenie co najmniej jednej grupy funkcyjnej, ich masa cząsteczkowa jest zbliżona do niezmodyfikowanych TAG
- o dimery i oligomery TAG powstające w wyniku połączenia rodników TAG, ich masa cząsteczkowa jest wyższa niż pierwotnych, niezmodyfikowanych TAG

4.1.1. Przemiany oksydacyjne

Przemiany oksydacyjne zachodzą szczególnie intensywnie w cienkiej warstwie lub w głębokim tłuszczu, ale blisko powierzchni kontaktu oleju z powietrzem. Nakładanie się działania wysokiej temperatury i tlenu powoduje, że wodoronadtlenki TAG stają bardzo niestabilne i szybko ulegają dalszym przemianom z wytworzeniem wtórnych (drugorzędowych) produktów (mogą powstawać również w temperaturze pokojowej, ale w mniejszym stopniu). Należą do nich monomery utlenionych TAG (ang. monomeric oxidized triacylglycerols, oxTAG) – są to triacyloglicerole zmodyfikowane przez przyłączenie co najmniej jednej tlenowej grupy funkcyjnej np. grupy hydroksylowej, epoksydowej, aldehydowej lub ketonowej (Rys. 7).



Rys. 7. Schemat oksydacyjnych przemian tłuszczów podczas obróbki cieplnej (Velasco et al., 2009)



Rys. 8. Reakcja homolitycznego rozszczepienia wiązania C-C w łańcuchu kwasu tłuszczowego TAG oraz możliwe produkty (Brühl, 2014; Velasco et al., 2009)

Konsekwencją rozpadu wodoronadtlenków może być również homolityczne rozszczepienie wiązań C-C w łańcuchach kwasów tłuszczowych TAG (Rys. 7; Rys. 8). Prowadzi to do wytworzenia szeregu związków lotnych takich jak aldehydy, ketony, alkany i ich pochodne (mogą one wpływać na właściwości sensoryczne oleju i potrawy) oraz krótkołańcuchowych monomerów TAG. Są to produkty utleniania TAG, w których jeden z łańcuchów został skrócony do kwasu tłuszczowego o krótkim łańcuchu (ang. short chain fatty acid) (ścieżka A) lub został skrócony i zmodyfikowany przez grupę aldehydową bądź ketonową (ang. short chain aldehydic acid lub short chain keto acid tzw. core aldehydes) (ścieżka B) (Brühl, 2014; Velasco et al., 2009).

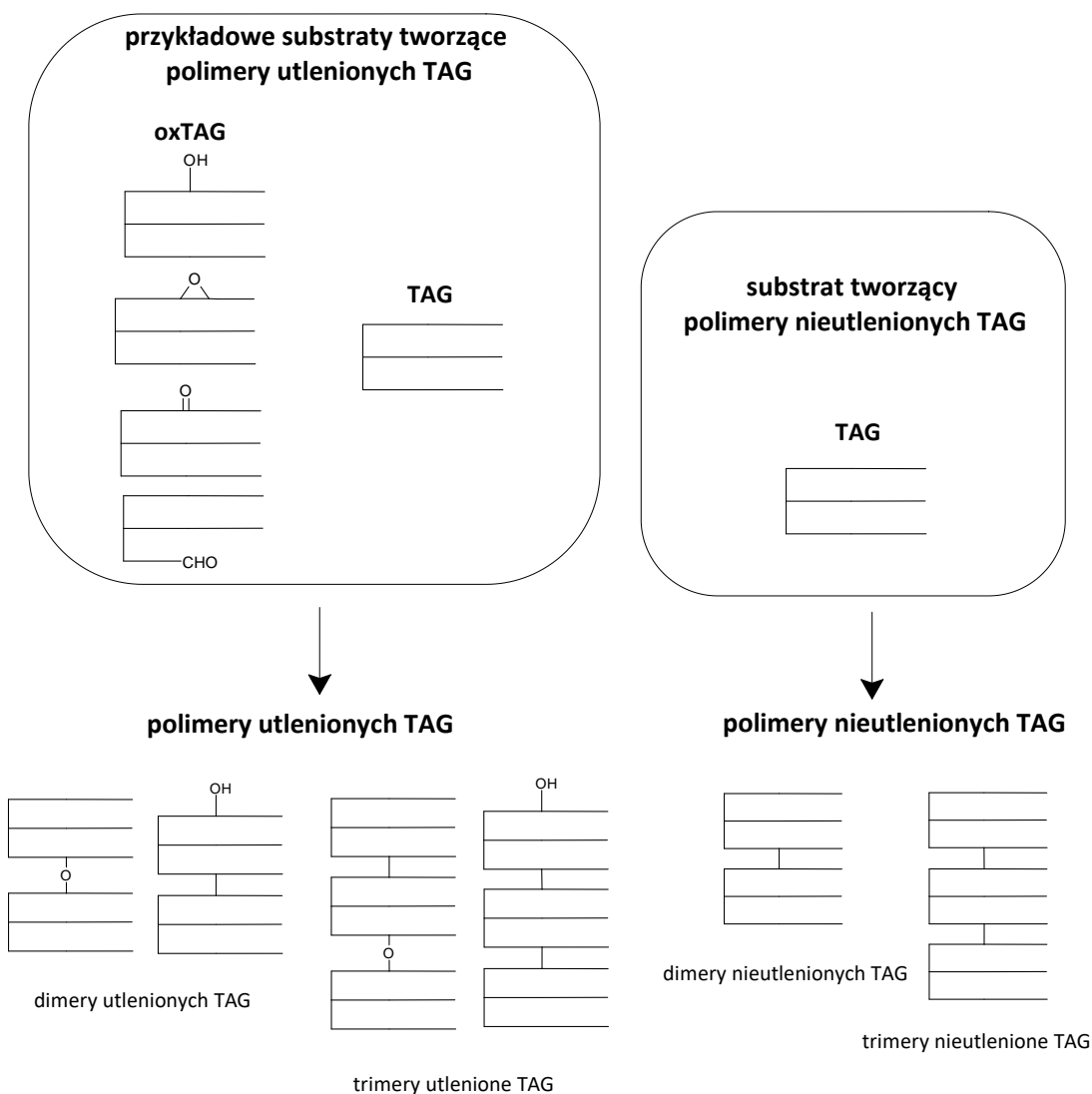
4.1.2. Przemiany termiczne

Wśród przemian termicznych największe znaczenie ma polimeryzacja TAG. Jest to reakcja połączenia dwóch (dimery), trzech (trimery) lub więcej (oligomery) cząsteczek triacylogliceroli, poprzez wiązania typu -C-C-, -C-O-C lub -C-O-O-C- (E. Choe & Min, 2007). Powstałe w wyniku tych reakcji polimery TAG to wielocząsteczkowe związki, o masie cząsteczkowej w zakresie 690-1,600 Da, charakterystyczne dla procesów wysokotemperaturowych (powstają wyłącznie pod wpływem wysokiej temperatury). Ich zawartość oraz stopień polimeryzacji rosną wraz z postępowaniem tego procesu, dlatego są to dobre wyznaczniki jakości tłuszczu smaźalniczego. Przyjmuje się, że ich graniczny dopuszczalny poziom nie powinien przekroczyć 10–16%. Polimery tworzą brązową, przypominającą żywicę pozostałość na ściankach naczynia smaźalniczego, która z czasem jest bardzo trudna do usunięcia (C. S. P. Santos et al., 2017).

Produkty polimeryzacji dzielimy na polimery utlenionych TAG oraz polimery nieutlenionych TAG (Rys. 9). Polimery utlenionych TAG mają charakter polarny ze względu na obecność dodatkowego atomu tlenu modyfikującego cząsteczkę co najmniej jednego meru. Powstają poprzez połączenie dwóch lub więcej cząsteczek TAG, wśród których co najmniej jedna z nich została uległa utlenieniu (dlatego zaliczamy je również do produktów przemian oksydacyjnych, (Rys. 7). Dodatkowy atom tlenu występuje w tlenowej grupie funkcyjnej przyłączonej do łańcucha jednego z kwasów tłuszczowych lub w wiązaniu łączącym dwa mery. Do tej grupy zaliczamy dimery, trimery i oligomery utlenionych TAG. Głównym mechanizmem stosowanym do opisu powstawania acyklicznych

polimerów utlenionych TAG podczas smażenia jest reakcja rodnikowa (Hwang et al., 2020; Q. Zhang et al., 2012). Powstałe w wyniku utleniania triacylogliceroli alkilowe wodorotlenki TAG (ROOH) lub dialkilowe nadtlenuki TAG (ROOR) rozpadają się odpowiednio do rodników alkoksylowych (RO \cdot) i hydroksylowych (OH \cdot) lub rodników nadtlenkowych (peroksylowych, ROO \cdot) i alkilowych (R \cdot). Rodnik alkoksylowy (RO \cdot) i nadtlenkowy (ROO \cdot) może połączyć się z rodnikiem alkilowym (R \cdot) tworząc odpowiednio oksydymery i peroksydymery. Przebieg procesu polimeryzacji zależy od rodzaju oleju, temperatury i czasu procesu (E. Choe & Min, 2007). Struktura polimerów utlenionych TAG wciąż nie została precyzyjnie objaśniona. Trudność stanowi niejednorodność tej grupy związków, co wynika z następujących czynników (M. C. Dobarganes & Márquez-Ruiz, 2007):

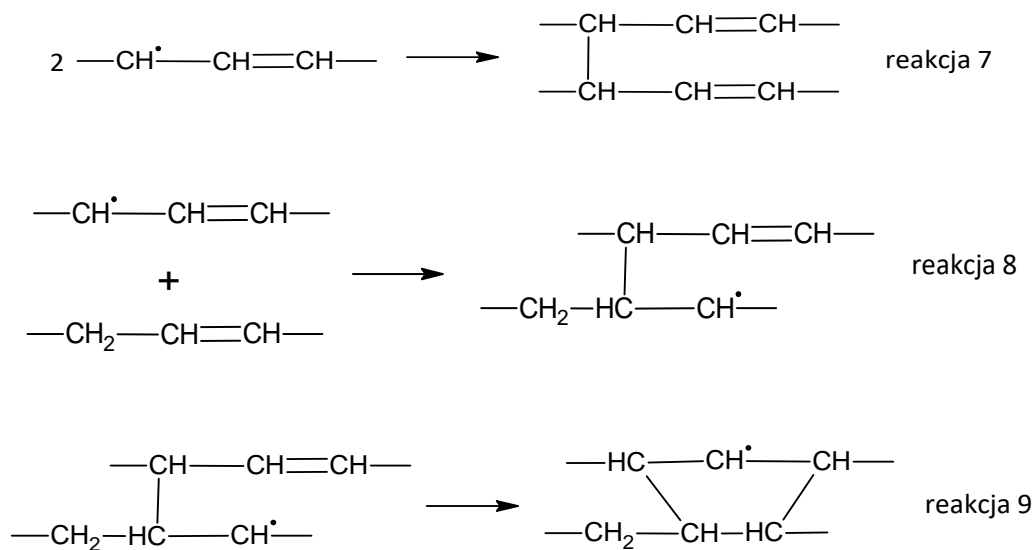
- w reakcji dimeryzacji uczestniczą monomery zmodyfikowane przez różne grupy funkcyjne;
- więcej niż jedna grupa funkcyjna może występować w tej samej cząsteczce dimeru;
- monomery tworzące polimery mogą łączyć się poprzez wiązania tlenowe (-C-O-C-, -C-O-O-C-) lub beztlenowe (-C-C-).



Rys. 9. Struktura przykładowych polimerów oraz ich substratów (Velasco et al., 2009)

Polimery nieutlenionych TAG nie zawierają dodatkowego atomu tlenu w cząsteczce, więc mają charakter niepolarny. Powstają bez udziału tlenu, głównie w głębokich warstwach oleju, w wyniku reakcji rodnikowych z rodników allilowych. Zaproponowano trzy główne mechanizmy ich powstawania (M. C. Dobarganes & Márquez-Ruiz, 2007):

- dimery powstają w wyniku połączenia dwóch rodników allilowych (reakcja 7),
- niecykliczne dimery powstają poprzez addycję rodnika allilowego do wiązania podwójnego w nienasyconym łańcuchu TAG (reakcja 8),
- cykliczne dimery powstają przez addycję wewnątrzcząsteczkową rodnika dimerowego do wiązania podwójnego w tej samej cząsteczce (reakcja 9).

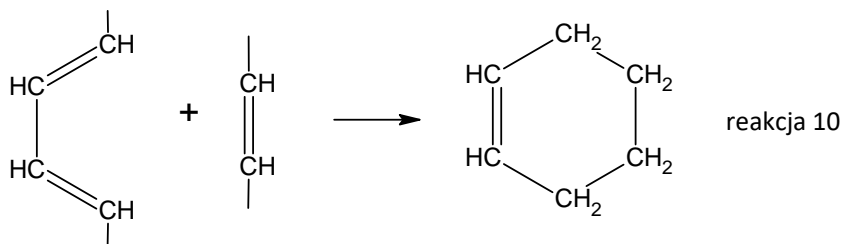


Skład polimerów zależy od zastosowanych warunków podczas procesu smażenia. Wykazano, że w temperaturze 140°C powstają głównie dehydrodimery. Z kolei powyżej temperatury 250°C w znacznych ilościach powstają mono-, di-, i tricykliczne dimery, natomiast nie wykryto dehydroksydimerów (M. C. Dobarganes & Márquez-Ruiz, 2007).

Do tej grupy zaliczamy dimery, trimery i oligomery nieutlenionych TAG. Należy zaznaczyć, że podczas złożonego procesu degradacji oleju zachodzącego w czasie smażenia polimery nieutlenionych TAG mogą ulec utlenieniu i tym samym przekształcić się w polimery utlenionych TAG.

Polimery TAG mogą powstawać również w wyniku reakcji Dielsa-Aldera (reakcja 10). Reakcja ta zachodzi w obecności sprzężonych wiązań podwójnych (M. C. Dobarganes & Márquez-Ruiz, 2007). Uczestniczą w niej dwie cząsteczki, jedna z wiązaniem podwójnym przyłącza się do drugiej zawierającej wiązania sprzężone. W efekcie powstają cykliczne sześcioczłonowe dimery. Sprzężone wiązania podwójne w świeżych olejach roślinnych zwykle występują jedynie w niewielkich ilościach, ale ich zawartość wzrasta podczas utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, a więc wraz z postępującą degradacją olejów (Q. Zhang et al., 2012). Jednak wielu autorów wskazuje, że nie

stwierdziło występowania produktów reakcji Dielsa-Aldera w olejach poddanych działaniu wysokiej temperatury (Hwang et al., 2020).



Produktami przemian termicznych mogą być również inne związki cykliczne. Mechanizm cyklizacji łańcuchów kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach oparty jest na reakcji rodnikowej i polega na wewnątrzcząsteczkowym przegrupowaniu poprzez zamknięcie pierścienia w wyniku utraty jednego wiązania podwójnego. Wykazano, że związki cykliczne powstające z łańcucha kwasu linolowego podczas smażenia odznaczają się dużą różnorodnością i mają strukturę pierścieni cyklopentanowych i cykloheksanowych (gdy cyklizacja zachodzi w kierunku przeciwnym do drugiego podwójnego wiązania) lub cyklopentenowych (gdy cyklizacja zachodzi w kierunku do drugiego wiązania podwójnego), przy czym nie wykryto związków o budowie cykloheksenowej. Oprócz tego w produktach degradacji kwasu linolowego wykryto również nasycone związki bicykliczne. Natomiast wśród związków cyklicznych powstających z łańcucha kwasu linolenowego w znacznych ilościach wykryto jedynie cztery dieny – dwa z pierścieniem cyklopentenowym i dwa z pierścieniem cykloheksenowym i różniły się one między sobą położeniem wiązania podwójnego oraz konformacją pierścienia. Stwierdzono również występowanie niewielkich ilości nasyconych, monocyklicznych kwasów tłuszczowych powstałych z łańcucha kwasu oleinowego. Według różnych danych zawartość związków cyklicznych w olejach posmażalniczych jest stosunkowo niska i kształtuje się w granicach 0,01-0,66% (Christie & Dobson, 2000; Velasco et al., 2009).

4.1.3. Przemiany hydrolityczne

Przemiany hydrolityczne w olejach roślinnych mogą rozpocząć się już w surowcu przeznaczonym do pozyskania oleju, szczególnie jeśli surowiec jest nieodpowiednio przechowywany. Hydroliza w olejach roślinnych polega na rozpadzie wiązań estrowych triacylogliceroli pod wpływem wody podchodzącej z nasion lub z produktu podanego smażeniu. W pierwszej kolejności od cząsteczki TAG odłącza się jeden łańcuch kwasu tłuszczowego, następnie wraz z postępem hydrolizy oddzielane są drugi i trzeci łańcuch. W efekcie w ostatnim, najbardziej zaawansowanym stadium, produkty hydrolizy są mieszaniną diacylogliceroli, monoacylogliceroli, glicerolu oraz wolnych kwasów tłuszczowych. Uwolnione kwasy tłuszczowe są bardzo reaktywne i szybko ulatniają się podczas smażenia, mogąc negatywnie oddziaływać na właściwości sensoryczne potrawy. Wzrost temperatury nasila intensywność hydrolizy, jednak stwierdzono, że podczas smażenia ziemniaków nawet z bardzo wysoką zawartością wody udział produktów hydrolizy był niewielki w stosunku do innych produktów degradacji oleju (Zeb, 2019b).

5. Aspekty zdrowotne procesu smażenia

Niektóre produkty termicznej obróbki olejów roślinnych zostały uznane za substancje potencjalnie szkodliwe dla organizmu ludzkiego pod względem żywieniowym (Q. Zhang et al., 2012). Wykazano, że utlenione produkty degradacji olejów zwiększają stres oksydacyjny w układzie pokarmowym (Perez-Herrera et al., 2013) i podwyższają ryzyko występowania nowotworów i stanów zapalnych. Szereg badań wskazuje również na możliwy związek pomiędzy spożywaniem produktów utleniania lipidów a występowaniem miażdżycy, nadciśnienia, a także choroby Alzheimera, choroby Parkinsona, stwardnienia zanikowego bocznego i innych chorób neurologicznych (Butterfield et al., 2010; Hosseini et al., 2016; Shamoto-Nagai et al., 2007). Ponadto liczne badania dowodzą, że spożycie smażonej żywności może przyczynić się do wielu innych schorzeń m.in. cukrzycy, zespołu metabolicznego, nadwagi i otyłości (Cahill et al., 2014; Gadiraju et al., 2015; Sayon-Orea et al., 2013, 2014). Na podstawie powyższych badań, trudno jest określić wpływ na zdrowie poszczególnych substancji powstających podczas smażenia, ponieważ tworzą one bardzo złożoną mieszaninę produktów interakcji typu olej-olej, żywność-żywność oraz żywność-olej. Poniżej omówiono wpływ na zdrowie niektórych z nich na podstawie badań z udziałem zwierząt i ludzi. Należy jednak wziąć pod uwagę, dwie kwestie. Po pierwsze działanie substancji wyizolowanej może różnić się od jej działania w matrycy. Po drugie ludzie mają inny metabolizm niż zwierzęta, dlatego badania na modelach zwierzęcych nie można w pełni odnieść do ludzi.

Badania związków polarnych wyizolowanych z olejów smaźalniczych wykazały, że mogą one przyczynić się do wielu problemów zdrowotnych takich jak nadciśnienie, zaburzenia układu hormonalnego, stres oksydacyjny w organizmie, zmiany w metabolizmie glukozy, lipidów oraz w funkcjonowaniu wątroby u zwierząt, a także nieprawidłowości w rozwoju płodu (Chen et al., 2021). Największy udział wśród związków polarnych mają oxTAG, które są łatwo adsorbowane w układzie pokarmowym (Gloria Márquez-Ruiz & Dobarganes, 2007).

Małocząsteczkowe aldehydy, ketony, alkohole, kwasy tłuszczowe i węglowodory powstają w wyniku wszystkich trzech typów interakcji występujących podczas smażenia tzn. olej-olej, żywność-żywność oraz żywność-olej. Jest to grupa lotnych substancji będących produktami interakcji olej-olej powstających w efekcie homolitycznego rozczepienia łańcuchów nienasyconych kwasów tłuszczowych podczas obróbki termicznej olejów. Szczególnie negatywny wpływ na zdrowie mają utlenione, wielokrotnie funkcjonalizowane α,β -nienasycone aldehydy takie jak: 4-hydroksyheksenal, 4-hydroksyoktenal, 4-hydroksynonenal (HNE), 4-hydroperoksynonenal, 4-oksononenal (ONE) i 4,5-epoksynonenal. Ze względu na toksyczność spośród nich najlepiej zbadanych został HNE, który ma działanie mutagenne, cytotoksyczne i genotoksyczne, co z kolei można powiązać z występowaniem licznych schorzeń w tym miażdżycy, katarakty oraz choroby Alzheimera i Parkinsona. HNE może modyfikować białka, kwasy nukleinowe oraz inne białcząceczki zmieniając w ten sposób ich integralność i funkcjonalność. Ponadto dezaktywuje różne enzymy i hamuje proliferację komórek (F. Aladedunye, 2016; Esterbauer, 1993). 2,4-dekadial to kolejny α,β -nienasycony aldehyd. Dane na temat jego toksyczności nie są spójne. Niektóre prace wskazują, że zwiększa stres oksydacyjny oraz ma działanie cytotoksyczne, mutagenne i genotoksyczne (G.

Boskou et al., 2006; P. Lin et al., 2014). Jednak w innej pracy nie potwierdzono jego genotoksyczności (Bastaki et al., 2019).

Polimery TAG są grupą produktów powstających podczas termicznej obróbki olejów. Mają skomplikowaną strukturę, dlatego dokładna identyfikacja ich poszczególnych form jest bardzo trudna (Chen et al., 2021). W związku z tym nie ma wielu danych na temat ich wpływu na szlaki metaboliczne, z wyjątkiem prac dotyczących ich absorpcji w układzie pokarmowym i strawności. Zbadano strawność oleju słonecznikowego ogrzewanego przez 50 godzin w temperaturze 180°C u szczurów rasy Wistar i odnotowano, że rzeczywista strawność polimerów, dimerów i sumy polimerów w ogrzonym oleju słonecznikowym wynosi odpowiednio 30%, 59%, i 38%. Natomiast rzeczywista strawność monomerów TAG nie uległa zmianie po ogrzaniu (González-Muñoz et al., 2003). Inni autorzy (G. Márquez-Ruiz et al., 1998) wykazali, że utlenione monomery TAG łatwo ulegały hydrolizie przez lipazę trzustkową w warunkach *in vitro*. Jednocześnie dimery i oligomery były mniej podatne na hydrolizę, co wskazuje na duże znaczenie masy cząsteczkowej w strawności składników olejów posmażalniczych. Co więcej zauważono, że hydroliza nieutlenionych TAG przez lipazę trzustkową w warunkach *in vivo* była utrudniona w obecności polimerów TAG. W kolejnej pracy (G. Márquez-Ruiz et al., 1992) oceniono strawność niepolarnych monomerów, utlenionych monomerów, niepolarnych dimerów oraz utlenionych dimerów i polimerów TAG. Spośród tych pięciu grup najmniej adsorbowane były niepolarne dimery TAG, natomiast najwyższą adsorpcją niespodziewanie odznaczały się utlenione dimery i polimery TAG. Według publikacji (Billek, 2000) dimery i polimery TAG ze względu na niską szybkość resorpcji nie stanowią zagrożenia. Jednak inni autorzy (C. Dobarganes & Márquez-Ruiz, 2015) zauważyli, że zwiększony poziomem niestrawionych i niewchłoniętych w przewodzie pokarmowym lipidów może mieć potencjalnie negatywny wpływ na komórki nabłonka i metabolizm mikroflory. Stwierdzono, że zarówno lipidy zalegające w układzie pokarmowym, jak i kwasy żółciowe wydzielane w pod wpływem dużego spożycia tłuszczu mogą powodować uszkodzenie błony śluzowej jelita, a metabolity kwasów żółciowych wytwarzane przez bakterie jelitowe mogą działać jako promotory nowotworów. W kolejnych badaniach (López-Varela et al., 1995; Sánchez-Muniz et al., 1998) zauważono, że dieta o zwiększonej zawartości TPC i polimerów TAG miała negatywny wpływ na profil lipidowy krwi oraz powodowała uszkodzenie wątroby u szczurów laboratoryjnych. Według innych autorów (Cao et al., 2013) wysokie stężenie polimerów TAG może zmniejszyć liczbę żywych komórek i zahamować ich aktywność fagocytarną. Może to oznaczać, że dimery i oligomery TAG mają negatywny wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego. Oprócz tego wraz ze wzrostem zawartość polimerów w oleju odnotowano wzrost jego lepkości i gęstości (Hwang et al., 2020), co zwiększa adsorpcję oleju przez potrawę i tym samym podwyższa jej kaloryczność. Ponadto zwiększone spożycie oleju oznacza również większą ilość produktów degradacji przyjętych razem z potrawą.

Furan będący cyklicznym dienylowym eterem oraz jego pochodne to lotne związki, powstające podczas wysokotemperaturowej (powyżej 150°C) obróbki żywności w wyniku złożonych reakcji, takich jak utlenianie lipidów, termiczna degradacja węglowodanów oraz reakcje Maillarda pomiędzy aminokwasami i cukrami redukującymi. Związki te mają niski próg wyczuwalności zapachowej i często nadają potrawom pożądany aromat określany jako słodki, dymny czy karmelowy (C. Chang et al., 2020; Koszucka & Nowak, 2019). Liczne badania *in vitro* i *in vivo* na zwierzętach

udokumentowały genotoksyczne i rakotwórcze działanie furanu (Bakhiya & Appel, 2010; Batool et al., 2021). Zaobserwowano hepatoksyczne działanie furanu u szczurów przy ostrym oraz przewlekłym narażeniu. Stwierdzono, że może być wchłaniany i metabolizowany przez cytochrom P450 CYP2E1 do cis-2-buteno-1,4-diolu (BDA), który ma zdolność do wiązania się z DNA i białkami (Batool et al., 2021). Uważa się, że ten metabolit jest w głównej mierze odpowiedzialny za toksyczne działanie furanu (Koszucka & Nowak, 2019). Jednak jego wpływ na zdrowie ludzi nadal jest niejednoznaczny. Międzynarodowa Agencja do Badań nad Rakiem zakwalifikowała furan do Grupy 2B jako czynnik przypuszczalnie rakotwórczy. Ponadto pochodne furanu takie jak 2-acetylofuran, furfural i alkohol furfurylowy zostały rozpoznane jako toksyczne i uznane za genotoksyczne przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) (Condurso et al., 2018).

Wielkopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA, inaczej policykliczne węglowodory aromatyczne) składają się z dwóch lub więcej skondensowanych pierścienia aromatycznych. Powstają w wyniku reakcji niepełnego spalania węgla, gazu, oleju drzewnego, tytoniu, a także żywności (Koszucka & Nowak, 2019), m.in. podczas smażenia (Jong-Sun et al., 2020), zwłaszcza wykonywanego wielokrotnie na tym samym oleju (Ganesan et al., 2019). Mechanizm powstawania WWA podczas obróbki termicznej oleju polega na aromatyzacji i dehydrocyklizacji nienasyconych kwasów tłuszczowych (L. Singh et al., 2016). WWA są grupą ponad 100 związków organicznych, słabo rozpuszczalnych w wodzie i zwykle o niskiej lotności (Koszucka & Nowak, 2019). Natomiast dobrze rozpuszczają się w tłuszczach, dzięki czemu są łatwo wchłaniane przez układ pokarmowy ssaków i akumulowane szczególnie w tkance tłuszczowej. Są genotoksyczne i powodują mutacje, które mogą prowadzić do rozwoju nowotworów (Zeb, 2019c). Jeden z mechanizmów opisujących kancerogenne działanie WWA zakłada, że mogą one wiązać się z DNA w określonych miejscach, tworząc duże, stabilne lub niestabilne kompleksy nazywane adduktami DNA. Stabilne addukty mogą powodować błędy w replikacji DNA, natomiast niestabilne addukty DNA rozpadają się eliminując zasadę purynową z nici DNA. Takie mutacje jeśli nie zostaną naprawione stymulują onkogenezę i w konsekwencji rozwój nowotworów. Międzynarodowa Agencja do Badań nad Rakiem zakwalifikowała benzo[a]piren do Grupy 1, czyli jako czynnik rakotwórczy dla ludzi, natomiast dibenzo[ah]antracen do Grupy 2A jako prawdopodobnie rakotwórczy. Niektóre WWA zakwalifikowane do Grupy 3 jako nierakotwórcze, wykazują szkodliwe oddziaływanie w innych obszarach np. na układ odpornościowy lub gospodarkę hormonalną (Koszucka & Nowak, 2019).

Heterocykliczne aminy aromatyczne (HAA) składają się z trzech heterocyklicznych pierścieni, z których co najmniej dwa są aromatyczne i w które wbudowane są atomy azotu (Ur Rahman et al., 2014). Powstają podczas obróbki termicznej (zwykle podczas smażenia na patelni lub grillowania) wysokobiałkowych surowców, takich jak mięso, jajka lub ryby (Ganesan et al., 2019). Można je podzielić na dwie grupy: polarne (amino amidazo azoareny) i niepolarne (amino karboliny) (Michael Murkovic, 2004; Ur Rahman et al., 2014). Polarne HAA mają strukturę imidazo-chinoliny lub imidazo-chinoksaliny i powstają w wyniku reakcji Maillarda pomiędzy aminokwasami, kreatyną i hektozami w temperaturze 150-300°C. Natomiast niepolarne HAA o strukturze pirydoindolu i dipirydoimidazolu powstają w wyniku pirolitycznych reakcji bez udziału kreatyniny w temperaturze powyżej 300°C. Zidentyfikowano około 20 związków zaliczanych do HAA. Ustalono, że MeIQx (2-amino-3,8-dimetyloimidazo[4,5-f]chinoksalina) i PhIP (2-amino-1-metylo-6-fenylimidazo[4,5-

b]pirydyna) stanowią 48% wszystkich HAA powstających w mięsie (Dana & Saguy, 2001). Kolejny związek, IQx (2-amino-3-metyloimidazo[4,5-f]chinoksalina), pomimo, że powstaje podczas smażenia w niewielkich ilościach, to jest uważany za najbardziej rakotwórczy spośród HAA (Sabally et al., 2016). HAA samodzielnie nie mają działania mutagennego, jednak mogą zostać aktywowane przez enzymy metabolizujące cytochrom 450, uszkodzając w ten sposób DNA, powodując jego mutacje i tym samym zwiększając ryzyko wystąpienia różnych nowotworów (A. Ali et al., 2019). Kilka długoterminowych badań in vitro, a także in vivo na zwierzętach wykazało występowanie korelacji między spożyciem HAA a zachorowaniami na nowotwory (Dana & Saguy, 2001; Zeb, 2019c). Jednak należy zaznaczyć, że wyniki badań na temat wpływu HAA na zdrowie ludzi są sprzeczne i aspekt ten wciąż nie został jednoznacznie wyjaśniony (Anderson et al., 2005; Augustsson et al., 1999; Butler et al., 2003; Rohrmann et al., 2009; Sinha et al., 2000). Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem zaklasyfikowała osiem HAA jako możliwe czynniki rakotwórcze dla ludzi (Grupa 2B), natomiast 2-amino-3-metyloimidazo[4,5-f]chinolon (IQ) oceniła jako prawdopodobny czynnik rakotwórczy dla ludzi (Grupa 2A) (Koszucka & Nowak, 2019).

Akrylamid to nienasycony amid, o niskiej masie cząsteczkowej, będący jednym z produktów pośrednich reakcji Maillarda. Powstaje podczas różnych procesów obróbki termicznej (powyżej 120°C), takich jak smażenie lub pieczenie w produktach spożywczych bogatych w cukry redukujące oraz białka (zwłaszcza ze znacznym udziałem asparaginy) (Koszucka & Nowak, 2019). Akrylamid może powstawać również w wyniku utleniania lipidów, szczególnie podczas smażenia w głębokim tłuszczu (Q. Zhang et al., 2012). Stwierdzono, że wysokie dawki akrylamidu mogą mieć działanie neurotoksyczne, w niższych dawkach nie zaobserwowano takiego efektu. Jednocześnie nieznanym jest jego wpływ na układ nerwowy przy niewielkim, ale długotrwałym i regularnym spożywaniu oraz jego akumulacji w organizmie (Kopanska et al., 2018). Istnieją również doniesienia, że akrylamid może mieć działanie genotoksyczne, mutagenne i rakotwórcze (Aljahlali & Carbonero, 2019; Q. Zhang et al., 2012), jednak dostępne dotychczas dane nie są pod tym względem spójne (Zeb, 2019d). Według jednej z publikacji (Besaratina & Pfeifer, 2004) mutagenne działanie akrylamidu na komórki ludzkie i zwierzęce wynika ze zdolności glycidamidu, będącego epoksydowym metabolitem akrylamidu do tworzenia trwałych adduktów DNA, które indukują kancerogenezę. W pracy przeglądowej (Ganesan et al., 2019) zaprezentowano badanie kohortowe obrazujące związek między ilością spożytego akrylamidu a ryzykiem zachorowania na raka jelita grubego oraz cztery kolejne badania kohortowe i dwa badania kliniczno-kontrolne wykazujące występowanie pozytywnej korelacji pomiędzy spożyciem akrylamidu a ryzykiem zachorowania na raka prostaty. Jednocześnie przedstawiono inne badania, które nie potwierdziły związku między spożywaniem akrylamidu a występowaniem nowotworów jamy ustnej, krtani i przełyku, płuc, piersi, jelita grubego oraz żołądka (Ganesan et al., 2019). Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem zaklasyfikowała akrylamid jako prawdopodobny czynnik rakotwórczy dla ludzi (grupa 2A) (Koszucka & Nowak, 2019).

Pozytywnym aspektem smażenia pod względem żywieniowym, w porównaniu do innych metod przygotowywania potraw, jest brak strat składników mineralnych, a także ze względu na stosunkowo krótki czas procesu w przypadku smażenia na patelni zredukowanie strat

termolabilnych witamin (Márquez-Ruíz et al., 2010). Ponadto wiele publikacji donosi, że niektóre produkty reakcji Maillarda, w tym zwłaszcza melanoidyny posiadają właściwości antyoksydacyjne (Nooshkam et al., 2019; Tamanna & Mahmood, 2015; Vhangani & Van Wyk, 2016), które wynikają ze zdolności do przerywania łańcucha reakcji rodnikowej, wyłapywania reaktywnych form tlenu, rozkładania wodoronadtlenków oraz chelowania metali (Vhangani & Van Wyk, 2016). Co więcej melanoidyny mogą wykazywać również inne właściwości prozdrowotne w tym przeciwdrobnoustrojowe, prebiotyczne i przeciwnadciśnieniowe (Nooshkam et al., 2019).

6. Aspekty sensoryczne i technologiczne procesu smażenia

Smażenie ma istotny wpływ na właściwości sensoryczne żywności, powoduje pożądane lub niepożądane zmiany w wyglądzie, teksturze, kolorze i smaku potraw smażonych. Są one następstwem reakcji Maillarda oraz reakcji utleniania tłuszczu. Przebieg tych reakcji jest złożony i wieloetapowy, a ich produkty – zarówno lotne jak i nielotne - bardzo liczne. W efekcie trudno jest jednoznacznie określić ścieżkę powstawania poszczególnych produktów. Większość lotnych produktów jest usuwana na różnych etapach procesu smażenia, pod wpływem wysokiej temperatury oraz z parą wodną. Mimo to substancje te mają istotne znaczenie dla walorów sensorycznych potrawy. Nadają przyrządzanym produktom aromat określany jako owocowy, trawiasty, maślany, dymny, orzechowy lub rybny (Márquez-Ruíz et al., 2010).

Stwierdzono, że czas procesu, ilość cykli smażenia, a także profil kwasów tłuszczowych oleju smaźalniczego mają istotny wpływ na cechy sensoryczne potrawy. Zauważono, że kwas linolenowy przyczynia się do występowania nieprzyjemnego, rybiego posmaku. Można temu zapobiec stosując olej zawierający mniej niż 3% kwasu linolenowego. Natomiast kwas linolowy, pomimo że sprzyja procesowi utleniania i degradacji oleju z powodu dwóch nienasyconych wiązań w łańcuchu, to jednak korzystnie wpływa na smak potrawy, ze względu na udział w tworzeniu 2,4-dekadienu (E. Choe & Min, 2007; Márquez-Ruíz et al., 2010). Jest to α,β -nienasycony aldehyd, który spożywany w nadmiernych ilościach może mieć szkodliwy wpływ na zdrowie człowieka, jednak jednocześnie w dużej mierze odpowiada za pożądany aromat potrawy. Ponadto kwas linolowy ze względu na dwa nienasycone wiązania w łańcuchu węglowym promuje powstawanie innych, potencjalnie szkodliwych i obniżających walory organoleptyczne substancji. W związku z tym przyjmuje się, że optymalna zawartość kwasu linolowego w oleju przeznaczonym do smażenia wynosi 20-30%. Porównano zawartość trans,trans-2,4-dekadienu powstającego podczas ośmiu cykli smażenia ziemniaków w głębokim tłuszczu i na patelni z zastosowaniem oleju słonecznikowego, bawełnianego, palmowego i oliwy z oliwek. W każdym przypadku zawartość 2,4-dekadienu była wyższa w oleju oraz w ziemniakach pochodzących z głębokiego smażenia (G. Boskou et al., 2006). Z kolei zbyt wysoka zawartość kwasu oleinowego, pomimo jego wyższej stabilności oksydacyjnej i termicznej, również nie jest korzystna, ponieważ nadaje smażonym potrawom słaby, mało wyrazisty smak (E. Choe & Min, 2007; Márquez-Ruíz et al., 2010).

Porównano właściwości fizykochemiczne pasztecików wołowych i roślinnych otrzymanych przez smażenie na patelni oraz w gorącym powietrzu i w piekarniku. Stwierdzono, że metoda obróbki

termicznej nie miała istotnego wpływu na teksturę pasztecików, natomiast paszteciki obu rodzajów usmażone na patelni były znacznie ciemniejsze niż paszteciki otrzymane pozostałymi metodami (Vu et al., 2022). Podobne wyniki pod względem tekstury uzyskano w innym badaniu (Serrano et al., 2007), w której steki wołowe poddano obróbce termicznej przez smażenie na patelni, pieczenie w piekarniku, w mikrofalówce oraz na grillu elektrycznym. W kolejnej pracy (Heredia et al., 2014) oceniono właściwości mechaniczne i optyczne frytek otrzymanych przez smażenie w głębokim tłuszczu i w gorącym powietrzu. Analiza tekstury z zastosowaniem testu przebicia wykazała, że w pierwszym etapie procesu następowało miękniecie lub utrata jędrności wynikające z kleikowania skrobi. Natomiast w drugim etapie zaobserwowano wzrost siły maksymalnej co było efektem pojawienia na powierzchni chrupkiej skórki. Przy czym należy zaznaczyć, że podczas głębokiego smażenia zmiany zachodziły bardziej gwałtownie – w ciągu 2 pierwszych minut zanotowano gwałtowny spadek siły maksymalnej. Natomiast podczas smażenia na patelni utrata jędrności zachodziła stopniowo i najniższą wartość siły maksymalnej uzyskano między 15 a 21 minutą procesu. Ponadto analiza barwy wykazała, że wartości parametrów a^* i b^* , określających chromatyczność wzrastały podczas procesu smażenia obiema metodami. Przy czym smażenie w głębokim tłuszczu powodowało większy przyrost parametru a^* , co można powiązać z intensywnym przebiegiem reakcji Maillarda.

Jak już wspomniano postępująca polimeryzacja TAG podczas smażenia powoduje wzrost lepkości oleju. Technologicznym aspektem tego zjawiska jest obniżenie konwekcyjnego współczynnika ciepła i pogorszenie transportu ciepła między olejem a potrawą (Kalogianni et al., 2011). To z kolei przyczynia się do podwyższonej adsorpcji tłuszczu przez potrawę, która wydaje się wówczas rozmoczona, tłusta i nieapteczna (Orthofer & List, 2007). Oprócz tego podczas smażenia obserwuje się pienienie oleju co przypisuje się rosnącej zawartości utlenionych polimerów, TPC oraz uwalnianiu się lotnych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (An et al., 2017; Negishi et al., 2003). Innym objawem rosnącego poziomu TPC jest wzrost stałej dielektrycznej (X. Li et al., 2020). Ponadto należy wziąć pod uwagę, że intensywne zmiany właściwości fizycznych oleju oraz wzrost zawartości produktów degradacji podczas smażenia niekorzystnie wpływają nie tylko na żywieniową wartość przygotowanych potraw, ale także obniżają ich stabilność podczas przechowywania.

7. Substancje o działaniu przeciwutleniającym i antypolimeryzacyjnym

7.1. Definicja przeciwutleniaczy, ich klasyfikacja oraz mechanizm działania

Przeciwutleniacz jest definiowany jako każda substancja, która występując w niskim stężeniu, jest zdolna do hamowania lub znacznego opóźniania utleniania podatnych na ten proces substratów. Przeciwutleniacz jest określany również jako jakakolwiek substancja, która opóźnia bądź usuwa uszkodzenia oksydacyjne innej cząsteczki lub im zapobiega. Zgodnie z jeszcze inną definicją przeciwutleniacz to substancja, która bezpośrednio wychwytuje reaktywne formy tlenu lub działa pośrednio poprzez hamowanie produkcji reaktywnych form tlenu lub w inny sposób zwiększa ochronę przeciwutleniającą (Gulcin, 2020). Ta mnogość definicji wynika ze złożoności właściwości przeciwutleniających, co jest również przyczyną licznych i różnorodnych sposobów klasyfikacji

przeciwutleniaczy opartych na mechanizmie ich działania. Jeden z bardziej kompleksowych sposobów wyróżnia (Bensid et al., 2022; Berdahl et al., 2010; Kmiecik et al., 2011; Korczak & Nogal-Kałucka, 2015; Oroian & Escriche, 2015):

- przeciwutleniacze pierwotne (właściwe) – przerywają łańcuch reakcji rodnikowej poprzez przekazanie atomu wodoru lub elektronu reaktywnym rodnikom. Mechanizmy te określa się odpowiednio jako mechanizm przeniesienia atomu wodoru (ang. hydrogen atom transfer HAT) oraz mechanizm przeniesienia pojedynczego elektronu (ang. single electron transfer SET). W efekcie przeciwutleniacz staje się rodnikiem, który jest stabilizowany przez układ rezonansowy i jest wystarczająco stabilny (niskoenergetyczny) aby nie kontynuować propagacji reakcji rodnikowej. Jest to główny mechanizm przeciwutleniającego działania m.in. związków fenolowych, syntetycznych fenolowych antyoksydantów oraz tokoferoli;
- przeciwutleniacze wtórne – działające według innego mechanizmu niż przerwanie łańcucha reakcji rodnikowej:
 - dezaktywatory nadtlenków – dezaktywują wodoronadtlenki, przekształcając je w bardziej stabilne, nierodnikowe produkty. Przykładami dezaktywatorów nadtlenków są organiczne związki siarki m.in. białka, peptydy i aminokwasy takie jak cysteina lub metionina
 - chelatory metali – wiążą się z metalami i zapobiegają powstawaniu rodników. Przykładami chelatorów metali są kwas wersenowy, kwas cytrynowy, kwas fitynowy i kwas fosforowy, a także fosfolipidy oraz produkty reakcji Mailarda;
 - wygaszacze tlenu singletowego – dezaktywują tlen singletowy posiadający wysoką energię i przekierowują tę energię w innym bardziej bezpiecznym kierunku. Taką zdolność posiadają m.in. karotenoidy, a także tokoferole, flawonoidy, aminokwasy, peptydy, produkty reakcji Mailarda oraz syntetyczne antyoksydanty – BHA i BHT (Korczak & Nogal-Kałucka, 2015);
 - substancje wychwytyjące tlen – reagują z tlenem i obniżają jego lokalne stężenie. Przykładem jest kwas askorbinowy;
 - synergenty – samodzielnie nie posiadają właściwości przeciwutleniających, ale zwiększają aktywność innych przeciwutleniaczy lub regenerują przeciwutleniacze, które uległy dezaktywacji. Na przykład regeneracja α -tokoferolu przez dioleoilofosfatydyloetanoloamine (DOPE) (L. Cui et al., 2015).

Inny sposób klasyfikacji przeciwutleniaczy wyróżnia (Korczak & Nogal-Kałucka, 2015):

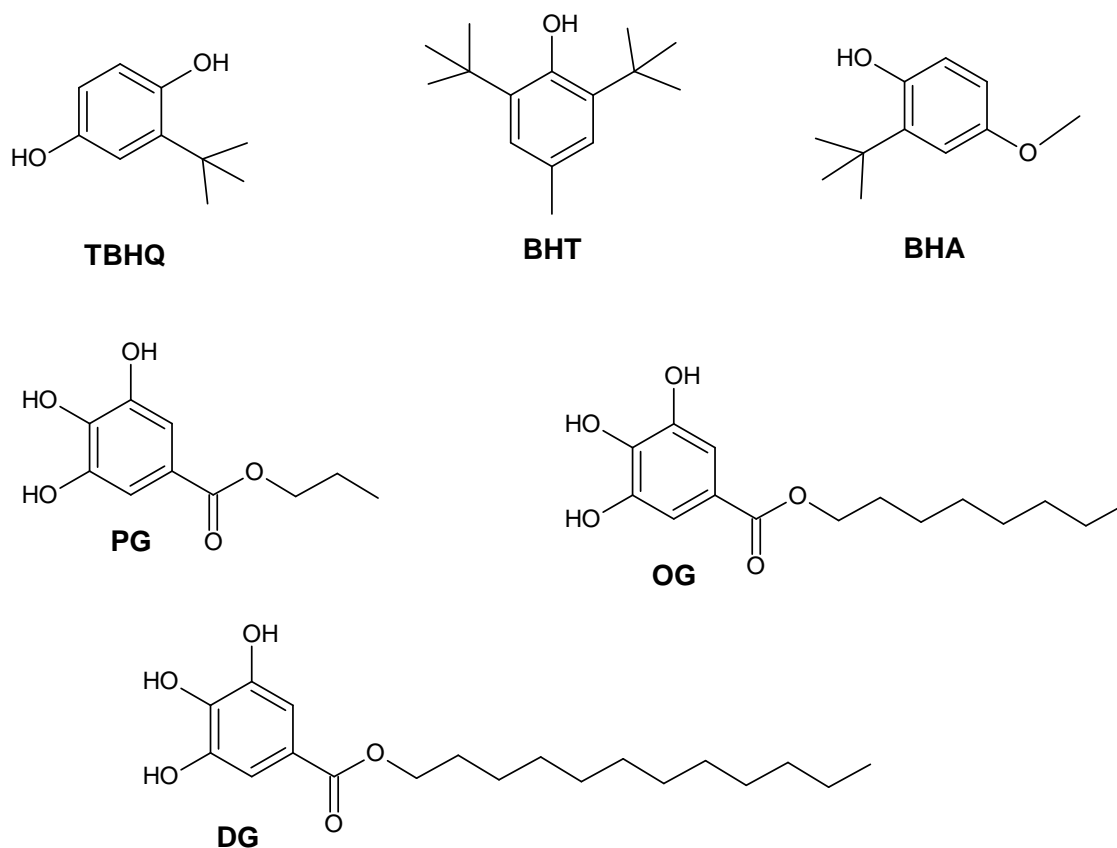
- przeciwutleniacze prewencyjne – hamują proces utleniania na etapie jego rozpoczęcia, konkurując w wiązaniu tlenu z substratem podatnym na utlenianie lub wygaszając jego reaktywne formy;
- przeciwutleniacze interwencyjne – powstrzymują propagację reakcji autoutleniania, poprzez rozkład lub wiązanie rodników, tworzenie nierodnikowych stabilnych produktów, blokowanie katalizatorów reakcji utleniania lub stabilizowanie wodoronadtlenków.

Należy dodać, że niektóre przeciwutleniacze mogą działać wg więcej niż jednego mechanizmu (Berdahl et al., 2010). Na przykład głównym mechanizmem przeciwutleniającym tokoferoli i

flawonoidów jest przerwanie łańcucha reakcji rodnikowej, ale mogą one być również wygaszaczami tlenu singletowego. Z kolei kwasy fenolowe mogą wygaszać wolne rodniki, ale także wiązać jony metali (Korczak & Nogal-Kałucka, 2015).

7.2. Syntetyczne antyoksydanty

Syntetyczne antyoksydanty są powszechnie stosowane w przemyśle spożywczym i odznaczają się niską ceną, łatwością produkcji oraz wysoką aktywnością przeciwutleniającą (Xu et al., 2021). Większość z nich ma strukturę związku fenolowego (Rys. 10) tak jak tert-butylohydrochinon (TBHQ), butylohydroksytoluen (BHT), butylohydroksyanizol (BHA), galusan propylu (PG), galusan oktylu (OG) i galusan dodecyłu (DG), które należą do najczęściej stosowanych syntetycznych antyoksydantów (Makahleh et al., 2015). Porównano wpływ TBHQ, BHT, BHA, α -tokoferolu, δ -tokoferolu oraz komercyjnego naturalnego antyoksydantu na stabilność oksydacyjną TAG wyizolowanych z oleju z ogórecznika i wiesiołka. Stwierdzono, że wszystkie syntetyczne antyoksydanty były bardziej efektywne niż naturalne, a najbardziej skuteczne okazał się TBHQ. Natomiast najmniejszą stabilnością oksydacyjną odznaczała się próba kontrolna bez dodatków (Khan & Shahidi, 2001). W innym badaniu olej w ciasteczkach z dodatkiem 1000 ppm olejku eterycznego z pszczelnika (*Dracocephalum kotschyi*) charakteryzował się wyższą stabilnością oksydacyjną niż olej w ciasteczkach bez dodatków i z dodatkiem TBHQ (Hematian Sourki et al., 2022).



Rys. 10. Struktura wybranych syntetycznych antyoksydantów (Makahleh et al., 2015), TBHQ - tert-butylohydrochinon, BHT - butylohydroksytoluen, BHA - butylohydroksyanizol, PG - galusan propylu, OG - galusan oktylu, DG - galusan dodecyłu

Bezpieczeństwo stosowania syntetycznych antyoksydantów jest często kwestionowane z powodu na ich potencjalnie toksyczne i rakotwórcze działanie, zarówno w stosunku do ludzi jak i zwierząt (Bensid et al., 2022; N. A. Santos et al., 2012), jednak wyniki badań nie są pod tym względem spójne (Bensid et al., 2022; Zehiroglu & Ozturk Sarikaya, 2019). Według jednej z prac BHT, TBHQ, PG oraz 2-tert-butylo-4-metylofenol (TBMP) mogą tworzyć kompleksy molekularne z kwasami nukleinowymi i w ten sposób powodować uszkodzenia podwójnej helisy DNA (Shahidi & Ambigaipalan, 2017). Ponadto stwierdzono, że BHA oraz TBHQ będący metabolitem BHA mogą mieć działanie estrogenne (W. Wang et al., 2021). W Kanadzie stosowanie TBHQ nie jest dozwolone ze względu na jego znaczenie w zmniejszaniu ilości cząsteczek hemoglobiny oraz przyczynianie się do hiperplazji komórek (N. A. Santos et al., 2012). Jednocześnie część prac zauważa przeciwnowotworowe działanie TBHQ (Gharavi et al., 2006). W innych badaniach stwierdzono, że TBHQ, BHT i BHA mają działanie rakotwórcze tylko w dużych dawkach i/lub przy długotrwałej ekspozycji (Gharavi et al., 2006; Zehiroglu & Ozturk Sarikaya, 2019). Należy wziąć pod uwagę, że zbyt niskie stężenie substancji antyoksydacyjnej może okazać się niewystarczająco skuteczne w ochronie stabilności olejów w warunkach wysokiej temperatury (Hwang & Winkler-Moser, 2016).

Niejasny wpływ syntetycznych antyoksydantów na zdrowie powoduje, że obecnie często rezygnuje się z ich stosowania w żywności i poszukuje innych skutecznych i jednocześnie nieszkodliwych dla konsumentów alternatywnych substancji antyoksydacyjnych.

7.3. Substancje pochodzenia naturalnego

7.3.1. Sterole

Fitosterole oznaczają się wysoką stabilnością termiczną i mogą ograniczać degradację olejów poddanych działaniu wysokiej temperatury, przy czym stwierdzono, że są bardziej skuteczne w olejach o wyższym stopniu nienasyconości (M. A. Ali & Chew, 2022; Jill K Winkler & Warner, 2008). Powstało kilka teorii objaśniających mechanizm ochronnego działania fitosteroli względem olejów, jednak do tej pory żadna z nich nie została jednoznacznie potwierdzona. Niektórzy autorzy (Gordon & Magos, 1983; Sims et al., 1972) twierdzą, że fitosterole takie jak awenasterol, fukosterol, wernosterol i citrostadienol posiadające w łańcuchu bocznym grupę etyldenową mogą wychwytywać wolne rodniki dzięki zdolności do tworzenia rodnika allilowego przy C-29, który ulega izomeryzacji do stosunkowo stabilnego rodnika przy C-24. Stwierdzono (Kochhar & Gertz, 2004), że efekt ochronny grupy etyldenowej działa jedynie w wysokich temperaturach - powyżej 120°C, w temperaturze poniżej 120°C nie występuje lub jest bardzo niewielki. Prawdopodobnie wynika to z wyższej dyfuzyjności tlenu w oleju w temperaturze pokojowej, co prowadzi do wytworzenia rodnika nadtlennego niezdolnego do przzerwiania łańcuchowej reakcji wolnorodnikowej. Natomiast wraz ze wzrostem temperatury dyfuzyjność tlenu maleje, umożliwiając powstanie stabilnego rodnika przy C-29 (Kochhar, 2000). Według innych badań właściwości antypolimeryzacyjne wernosterolu (Blekas & Boskou, 2016; A. Singh, 2013) mogą wynikać ze współwystępowania grupy etyldenowej w łańcuchu bocznym i dwóch endocyklicznych wiązań podwójnych przy C-8 i C-14, dzięki czemu przy C-11 i C-16 są dostępne dwa kolejne atomy wodoru, których odszczepienie może prowadzić do terminacji łańcuchowej reakcji utleniania lipidów. Inni autorzy (Jill Kristine Winkler & Warner, 2008) zauważyli, że fukosterol nie wpłynął na obniżenie poziomu polimerów TAG, pomimo obecności

grupy etyldenowej w jego strukturze, jednocześnie zaobserwowali niewielkie ograniczenie polimeryzacji TAG pod wpływem ergosterolu zawierającego trzy wiązania podwójne (jedno w grupie etyldenowej i dwa w pierścieniu B). Ponadto stwierdzono (A. Singh, 2013), że dodatek sitosterolu jest skuteczny w obniżaniu poziomu polimerów TAG, co można przypisać konwersji sitosterolu do steradienu przez reakcje eliminacji wody.

7.3.2. Tokochromanole

Wszystkie tokochromanole są dobrze rozpuszczalne w tłuszczach i wykazują właściwości przeciwutleniające. Powszechnie uważa się, że wynikają one z dobrze poznanego mechanizmu polegającego na przekazaniu aktywnym wolnym rodnikom atomu wodoru przez grupę fenolową w układzie redoks tokoferol-semichinon tokoferylu. Przy niskiej liczbie nadtlencowej jedna cząsteczka tokoferolu może chronić od 103 do 108 cząsteczek wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Stężenie tokoferoli przy którym stabilność olejów smaźalnicych jest największa wynosi 500–1000 $\mu\text{g/g}$ w zależności od rodzaju oleju (M. A. Ali & Chew, 2022). Skuteczność działania tokoferoli i ich optymalne stężenie pod względem aktywności przeciwutleniającej są różne dla poszczególnych homologów – im mniej stabilny jest homolog tym niższe jest jego optymalne stężenie (Eunok Choe & Min, 2006). Stwierdzono, że α -tokoferol jest najbardziej skuteczny w niskich stężeniach i po przekroczeniu pewnego progu działa prooutleniająco. Efekt ten można objaśnić prooksydacyjnym wpływem utlenionej formy powstającej z α -tokoferolu przy jego wysokim stężeniu oraz w obecności prooksydantów takich jak metale przejściowe lub wodoronadtlenki TAG. Homologi α -, γ - i δ -najwyższą stabilność oksydacyjną wykazują przy stężeniach odpowiednio 100, 250 and 500 ppm (Mishra et al., 2021). Zależność tą można powiązać z energią odłączenia atomu wodoru od cząsteczki tokoferolu, która kształtuje się w następującym porządku $\alpha < \beta \approx \gamma < \delta$ i wynosi odpowiednio -11.3 , -9.4 , -8.9 i -7.3 kcal/mol. Podstawienie pierścienia benzenowego grupami metylowymi w pozycji orto i/lub para ułatwia homolityczne rozszczepienie wiązania O-H, co z jednej strony zwiększa zdolność do reagowania z innymi rodnikami, ale także zmniejsza stabilność cząsteczki tokoferolu. α -tokoferol z dwoma grupami metylowymi w pozycji orto i z najniższą energią odłączenia atomu wodoru jest uważany za homolog o największej zdolności do przerywania łańcucha reakcji wolnorodnikowej, ale jednocześnie najbardziej podatny na degradację. Bardziej stabilne są β - i γ -tokoferol z jednym podstawnikiem metylowym w pozycji orto. Z kolei δ -tokoferol, niepodstawiony grupami metylowymi w pozycji orto i z najwyższą energią odłączenia atomu wodoru, pomimo zazwyczaj niskiej zawartości w oleju jest najbardziej stabilny, ale jednocześnie jest najmniej reaktywnym homologiem (Barouh et al., 2022; Kmiecik et al., 2019). Aktywność antyoksydacyjna poszczególnych homologów tokoferoli w warunkach in vitro kształtuje się w porządku $\delta\text{-T} > \gamma\text{-T} \approx \beta\text{-T} > \alpha\text{-T}$, natomiast w układach in vivo ustala się w porządku przeciwnym $\alpha\text{-T} > \beta\text{-T} > \gamma\text{-T} > \delta\text{-T}$ (Siger et al., 2021).

Przyjmuje się, że największy wpływ na aktywność przeciwutleniającą tokochromanoli ma struktura układu chromanolowego, natomiast budowa łańcucha prenylowego ma niewielkie znaczenie. Jest to zgodne z wynikami badań, według których tokoferole i tokotrienole odznaczają się podobną zdolnością do zmiatania wolnych rodników. Jednak część publikowanych prac jest sprzeczna z tymi danymi (Barouh et al., 2022) wskazując, że tokotrienole są silniejszymi

antyoksydantami niż odpowiadające im homologi tokoferoli (Lars et al., 2010; Wagner et al., 2001). Trudno jednoznacznie określić przyczyny tych zmienności, jednak nie ma wątpliwości, że oleje o wysokiej zawartości endogennych tokochromanoli lub / i wzbogacone dodatkiem tokochromanoli odznaczają się wyższą stabilnością podczas obróbki cieplnej (Javad et al., 2018; Kiran et al., 2015). Ponadto dowiedziono (Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996; Kmieciak et al., 2019), że mieszanina tokoferoli ma lepsze właściwości ochronne w stosunku do składników oleju niż poszczególne homologi występujące w oleju samodzielnie, co może wskazywać na występowanie pewnych synergicznych oddziaływań.

Oprócz tego inni autorzy podają, że przeciwutleniający mechanizm działania tokoferoli polegający na przekazaniu aktywnym wolnym rodnikom atomu wodoru przez grupę fenolową z wytworzeniem stabilnego, ale nieposiadającego właściwości antyoksydacyjnych rodnika semichinonu tokoferylu występuje jedynie w temperaturze pokojowej i średniej. Natomiast pod wpływem wysokiej temperatury dwie cząsteczki γ -tokoferolu mogą przekształcić się do jednego z dwóch dimerów – dimeru biphenylo- γ -tokoferolu lub eterowego dimeru γ -tokoferolu i oba również posiadają właściwości przeciwutleniające. Podobnym przemianom może ulec γ -tokotrienol. Z kolei rozkład α -tokoferolu zachodzi dużo szybciej i prowadzi do powstania czterech produktów, spośród których tylko jeden dimer α -tokoferol-etan ma właściwości przeciwutleniające. Ten odmienny mechanizm działania tokoferoli w wysokiej temperaturze może wyjaśnić silniejsze właściwości ochronne γ -tokoferolu w porównaniu do α -tokoferolu podczas obróbki termicznej olejów (Kochhar, 2000).

7.3.3. Związki fenolowe

Liczne badania dowiodły (F. Aladedunye & Matthäus, 2014; Asadi & Farahmandfar, 2020; Manzoor et al., 2022; Sordini et al., 2019), że wprowadzenie do medium smażalniczego nawet małych ilości związków fenolowych w formie ekstraktów roślinnych efektywnie ogranicza niekorzystne przemiany zachodzące pod wpływem wysokiej temperatury i kontaktu z tlenem. Zaproponowano (Wu et al., 2019) trzy mechanizmy antyoksydacyjnego działania związków fenolowych podczas smażenia. Największe znaczenie ma wygaszanie wolnych rodników, które polega na przekazaniu rodnikom lipidowym atomów wodoru. Związki fenolowe mogą również wychwytywać związki karbonylowe, przy czym skuteczność ich działania jest większa, gdy zawierają grupy o większej nukleofilowości. Trzecim mechanizmem antyoksydacyjnego działania związków fenolowych są reakcje nierodnikowe, ale pełne wyjaśnienie ich przebiegu wymaga dalszych badań. Ponadto związki fenolowe z wbudowaną strukturą katecholu (orto–difenolu), takie jak kwas kawowy lub hydroksytyrozol mają zdolność chelatowania metali i również w ten sposób mogą wpływać na zmniejszenie utleniania olejów (F. A. Aladedunye & Przybylski, 2013). Sezamolina jest związkiem fenolowym z grupy lignanów wstępującym w znacznych ilościach w oleju sezamowym. W środowisku kwaśnym pod wpływem wysokiej temperatury ulega rozkładowi, przy czym energia aktywacji tej reakcji jest niższa niż energia aktywacji reakcji dimeryzacji TAG, dlatego ta reakcja ma pierwszeństwo i w ten sposób ogranicza pogorszenie jakości tłuszczu smażalniczego (Kochhar & Gertz, 2004). Ponadto sezamolina jest nazywana prekursorem antyoksydantów ponieważ produktami jej rozkładu podczas smażenia są sezamol (w obecności wody) lub sezaminol (w

środowisku bezwodnym), które wykazują silniejsze właściwości antyoksydacyjne niż sezamolina i mogą skutecznie ograniczać termiczną degradację olejów (F. A. Aladedunye & Przybylski, 2013; Kochhar, 2000; Wu et al., 2019).

Porównano wpływ wybranych ekstraktów etanolowych na zmniejszenie polimeryzacji TAG podczas ogrzewania rafinowanego oleju rzepakowego i stwierdzono, że najbardziej efektywny był dodatek ekstraktu z liści zielonej herbaty, które są bogatym źródłem związków fenolowych (Kmieciak et al., 2018). Można przypuszczać, że ich efekt antypolimeryzacyjny jest powiązany z działaniem przeciwutleniającym. Silne właściwości antypolimeryzacyjne przypisuje się proantocyjanidynom. Wykazano, że dodatek ekstraktu z włókna karbowego bogatego w proantocyjanidyny ogranicza tworzenie związków polarnych oraz polimerów w oleju smaźalniczym o ponad 50% (Zulim Botega et al., 2009). Przypuszcza się (F. Aladedunye & Gruczynska, 2018) że polimeryzacja polifenoli wpływa na strukturę ich powierzchni oraz inne właściwości fizyczne. Dzięki temu działanie ochronne proantocyjanidynów względem olejów wynika nie tylko z ich właściwości przeciwutleniających, ale także przy odpowiednio dużym stopniu spolimeryzowania z ich zdolności do tworzenia bariery ograniczającej dostęp tlenu na granicy faz powietrze-olej, podobnie jak ma to miejsce przy stosowaniu polidimetylosiloksanu (PDMS).

7.3.4. Karotenoidy

Właściwości antyoksydacyjne karotenoidów wynikają z obecności długiego układu sprzężonych wiązań podwójnych, który dzięki zdolności do delokalizacji niesparowanych elektronów, umożliwia karotenoidom tworzenie stabilnych rodników. Antyoksydacyjny mechanizm działania karotenoidów polega na wygaszaniu tlenu singletowego oraz wychwytywaniu wolnych rodników (Gramza-Michałowska et al., 2021). Zaproponowano dwa sposoby objaśnienia aktywności karotenoidów względem rodników lipidowych w podwyższonej temperaturze (M. A. Ali & Chew, 2022). Według pierwszego sposobu lipidowy rodnik nadtlenkowy (ROO^{*}) może być neutralizowany przez przyłączenie do wielonienasyconego łańcucha karotenoidu (CAR). Prowadzi to do wytworzenia rodnika ROO-CAR^{*}, który w warunkach beztlenowych jest stabilny. Jednak, gdy stężenie tlenu cząsteczkowego w układzie jest zbyt wysokie rodnik ROO-CAR^{*} ulega dalszym przemianom z wytworzeniem kolejnego rodnika ROO-CAR-OO^{*}, który nie jest stabilny i może inicjować reakcje łańcuchową, czemu przypisuje się prooksydacyjne działanie karotenoidów przy wysokim stężeniu tlenu cząsteczkowego w układzie. Według drugiego sposobu zdolność neutralizacji wolnych rodników przez karotenoidy wynika z możliwości przekazaniu im atomu wodoru. Jednak stwierdzono (Eunok Choe & Min, 2006), że wysoki potencjał redukcyjny β-karotenu utrudnia mu przekazanie atomu wodoru rodnikom o niższym potencjale, takim jak rodnik alkilowy lub nadtlenkowy rodnik wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Jednocześnie, β-karoten może być donorem atomów wodoru dla innych rodników, o wyższym potencjale redukcyjnym, w tym rodnika hydroksylowego.

7.3.5. Fosfolipidy

Budowa fosfolipidów determinuje ich aktywność antyoksydacyjną. Właściwości przeciwutleniające fosfolipidów przypisuje się obecności grupy aminowej, która może być donorem

wodoru i przerywać w ten sposób łańcuch reakcji rodnikowej. Podobne działanie mają produkty reakcji Maillarda powstające podczas smażenia z węglowodanów i aminokwasów, jednak aminofosfolipidy są bardziej hydrofobowe i dlatego wykazują większe powinowactwo do tłuszczu. Fosfolipidy mogą mieć działanie antyoksydacyjne lub prooksydacyjne w zależności od budowy przyłączonych kwasów tłuszczowych (M. A. Ali & Chew, 2022). Korzystny wpływ fosfolipidów na stabilność olejów zaobserwowano, gdy były zestryfikowane kwasami tłuszczowym o długim łańcuchu lub niskim stopniu nienasycenia. Antyoksydacyjne właściwości fosfolipidów wiążą się również ze zdolności do wiązania metali grup przejściowych. Stężenie fosfolipidów poniżej 0,2% wpływa na poprawę stabilności oleju podczas smażenia (F. A. Aladedunye & Przybylski, 2013). Jednak zbyt wysokie stężenie fosfolipidów (Julian & Eric, 2013) może mieć również efekt prooksydacyjny. Stwierdzono (Julian & Eric, 2013), że powyżej krytycznego stężenia 1,2-dioleoilosn-glicero-3-fosfocholiny (DOPC) tworzą w olejach odwrócone micelle (mikroemulsje, koloidy asocjacyjne), które powodują obniżenie napięcia powierzchniowego, w konsekwencji zwiększają dyfuzyjność tlenu w oleju i w ten sposób stają się miejscami łatwego i szybkiego utleniania lipidów. Jednak w kolejnych badaniach zauważono, że DOPC w połączeniu z związkami fenolowymi (Rokosik, Siger, Rudzińska, & Dwiecki, 2020; Rokosik, Siger, Rudzińska, Siejak, et al., 2020) tworzy odwrócone micelle, które wykazują synergiczne działanie antyoksydacyjne – dostarczenie przeciwutleniaczy do centrów utleniania lipidów, jakimi są koloidy asocjacyjne zwiększa stabilność oleju. Ponadto związki fenolowe samodzielnie słabo rozpuszczają się w tłuszczach, ale włączone w odwrócone micelle z amifiliowymi fosfolipidami mogą migrować wewnątrz oleju do obszarów o wysokim stężeniu rodników nadtlenkowych. W innym badaniu wykazano silne antyoksydacyjne działanie synergiczne fosfatydylocholiny i α -tokoferolu (Kim et al., 2015), co powiązano ze zdolnością fosfolipidów posiadających aminowe grupy funkcyjne do oddania atomu wodoru, dzięki czemu mogą one przekształcić semichinon tokoferylu do jego nieutlenionej formy i zregenerować α -tokoferol (N. Sun et al., 2018).

II. CEL PRACY

Celem głównym pracy było zbadanie możliwości otrzymania olejów roślinnych o zwiększonej odporności na termiczną degradację w tym polimeryzację triacylogliceroli poprzez wzbogacanie rafinowanego oleju rzepakowego lipofilowymi dodatkami pochodzenia naturalnego w postaci olejów tłoczonych na zimno, olejów uzyskanych na drodze ekstrakcji nadkrytycznej CO₂ oraz olejku eterycznego z czarnuszki.

Cele szczegółowe:

1. Ocena wpływu wysokojednonienasyconych olejów zimnotłoczonych na proces utleniania i polimeryzacji triacylogliceroli rafinowanego oleju rzepakowego podczas ogrzewania.
2. Ocena wpływu olejów otrzymanych metodą ekstrakcji nadkrytycznej CO₂ na proces utleniania i polimeryzacji triacylogliceroli rafinowanego oleju rzepakowego podczas ogrzewania.
3. Ocena wpływu zimnotłoczonego oleju z nasion czarnuszki oraz olejku eterycznego z czarnuszki na proces utleniania i polimeryzacji triacylogliceroli rafinowanego oleju rzepakowego podczas ogrzewania.

III. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

10. Materiał badany

Rafinowany olej rzepakowy (Kujawski, Kruszwica) zakupiono w lokalnym sklepie spożywczym. Zimnotłoczone oleje z nasion rzepaku (Olini), kolendry (Efavit), czarnuszki (SEMCO) i pestek moreli (Olini) zakupiono bezpośrednio u producentów. Oleje z nasion czarnuszki i łubinu otrzymano metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE) w Instytucie Urządzeń Ekstrakcyjnych w Makowie Mazowieckim. W celu pozyskania oleju z nasion łubinu zastosowano odmianę Boros (pochodzącą z Hodowli Roślin Smolice Sp. z o.o. Grupa IHAR) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego i obniżonej zawartości alkaloidów. Warunki procesu ekstrakcji SFE były następujące: temperatura 50°C i ciśnienie 300 bar oraz etanol jako współrozpuszczalnik, który następnie odparowano za pomocą wyparki rotacyjnej BUCHI Rotavapor R-100.

11. Metodyka badań

11.1. Model badań

W celu oceny możliwości przygotowania olejów o zwiększonej stabilności na prodesy degradacji oleju w czasie ogrzewania badania podzielono na trzy zasadnicze etapy.

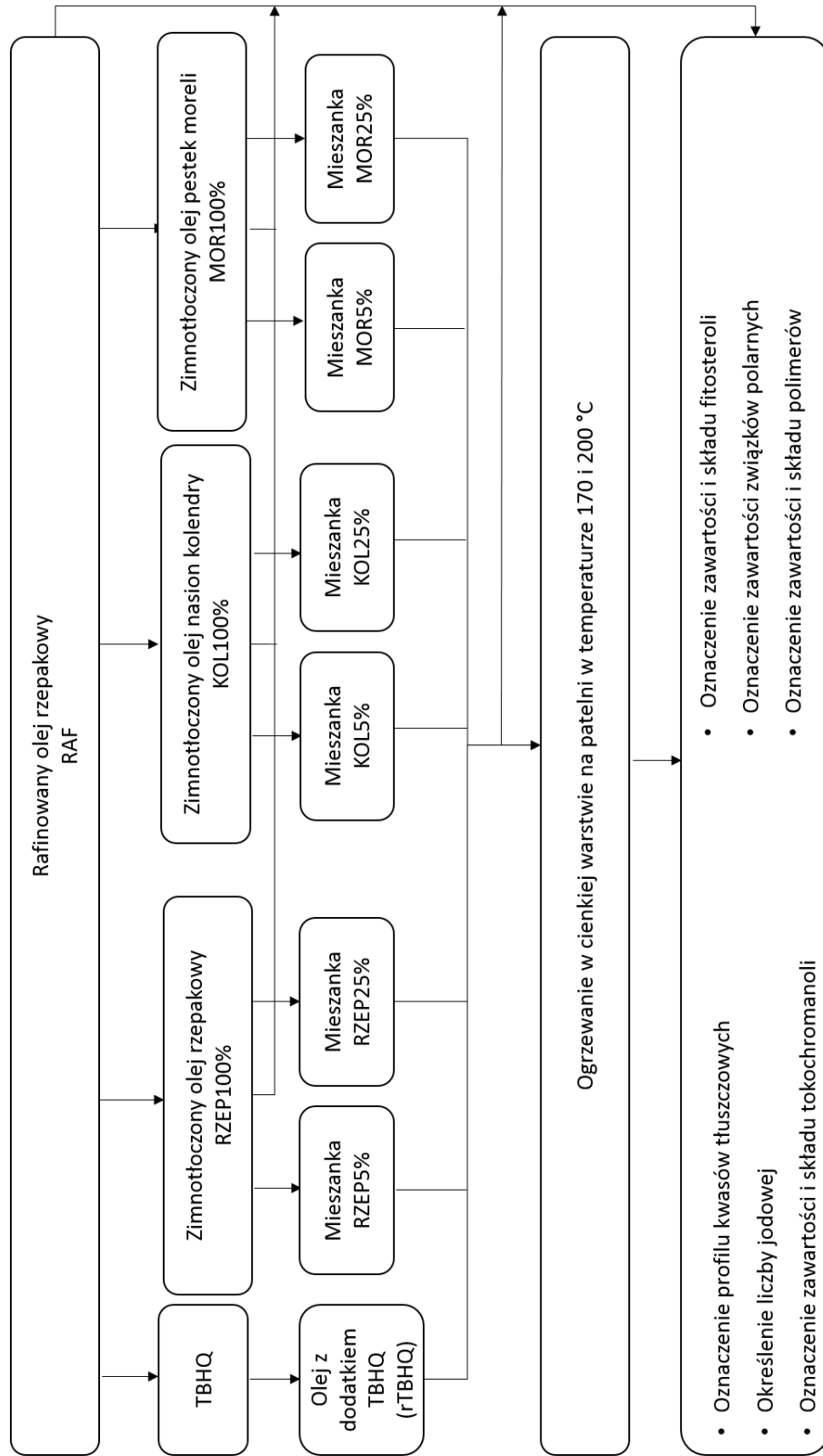
W I etapie badań kryterium wyboru dodatku do rafinowanego oleju rzepakowego był profil kwasów tłuszczowych. Jako dodatki wytypowano oleje zimnotłoczone z przeważającym udziałem jednonienasyconych kwasów tłuszczowych, ze względu na ich wyższą stabilność podczas ogrzewania, w porównaniu do kwasów tłuszczowych wielonienasyconych. Jako aktywne dodatki zastosowano olej z nasion rzepaku, z nasion kolendry oraz pestek moreli.

W II etapie badań wykorzystano oleje otrzymane metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE). Metodę ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym wybrano w celu zwiększenia zawartości substancji o działaniu przeciwutleniającym i antypolimeryzacyjnym, głównie związków fenolowych, w otrzymanych olejach. Ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym poddano nasiona łubinu oraz nasiona czarnuszki. Oleje te wytypowano także na podstawie danych literaturowych wskazujących na występowanie w nich wysokiej zawartości związków bioaktywnych, takich jak lupeol oraz tokotrienole.

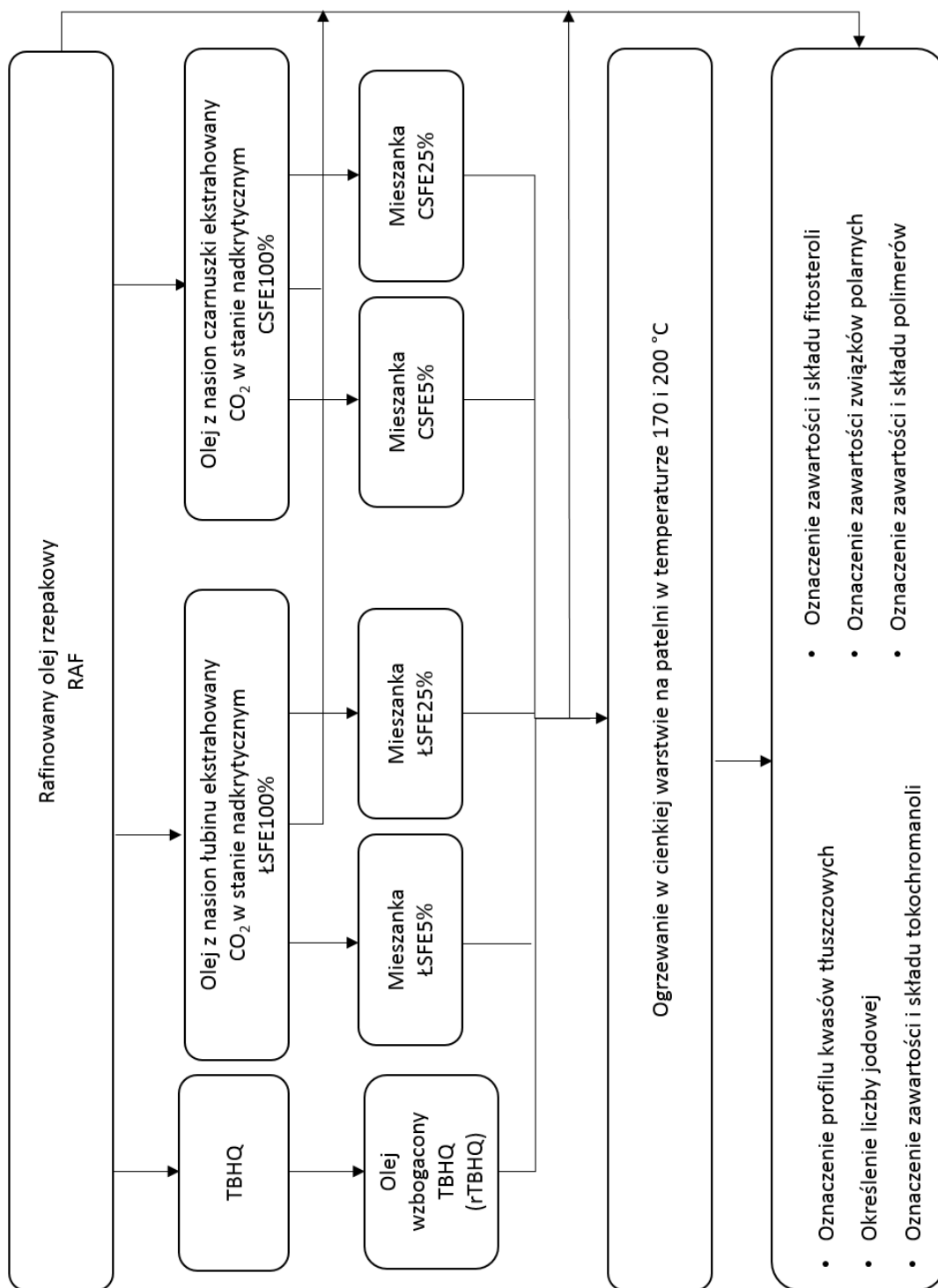
W III etapie badań wykorzystano zimnotłoczony olej z czarnuszki oraz pozyskany z niego olejek eteryczny. Dodatek olejku eterycznego miał na celu wprowadzenie substancji o charakterze przeciwutleniającym, bez istotnego wpływu na zmianę profilu kwasów tłuszczowych otrzymanej mieszanki w porównaniu do rafinowanego oleju rzepakowego. Olejek eteryczny z czarnuszki uzyskano poprzez hydrodestylację oleju zimnotłoczonego. Ilość olejku eterycznego zastosowanego do wzbogacenia rafinowanego oleju rzepakowego odpowiadała ilości tego olejku wprowadzonej przez dodanie zimnotłoczonego oleju z czarnuszki. Pozwoliło to na ocenę oraz porównanie działania zimnotłoczonego oleju z czarnuszki oraz wyizolowanego z niego olejku eterycznego.

W II etapie badań stwierdzono, że dodatek 5% oleju z czarnuszki wpłynął na obniżenie poziomu produktów utleniania i polimeryzacji TAG, ale w ograniczonym zakresie. Z tego powodu w III etapie badań zastosowano dodatek 10% oleju z czarnuszki, aby zweryfikować zasadność stosowania większego stężenia tego dodatku. Badania w II etapie pokazały również, że dodatek 25% oleju z czarnuszki znacząco zwiększał stopień nienasycenia mieszanki, co negatywnie wpłynęło na jej stabilność termiczną. Z tego powodu w III etapie badań zastosowano dodatek 20% oleju z czarnuszki, aby ocenić możliwość występowania efektu przeciwutleniającego i antypolimeryzacyjnego przy mniejszym stężeniu tego dodatku. Dodatkowo zmniejszenie stężenia dodatku miało na celu zmniejszenie wpływu olejku eterycznego z czarnuszki na cechy organoleptyczne otrzymanych mieszanek.

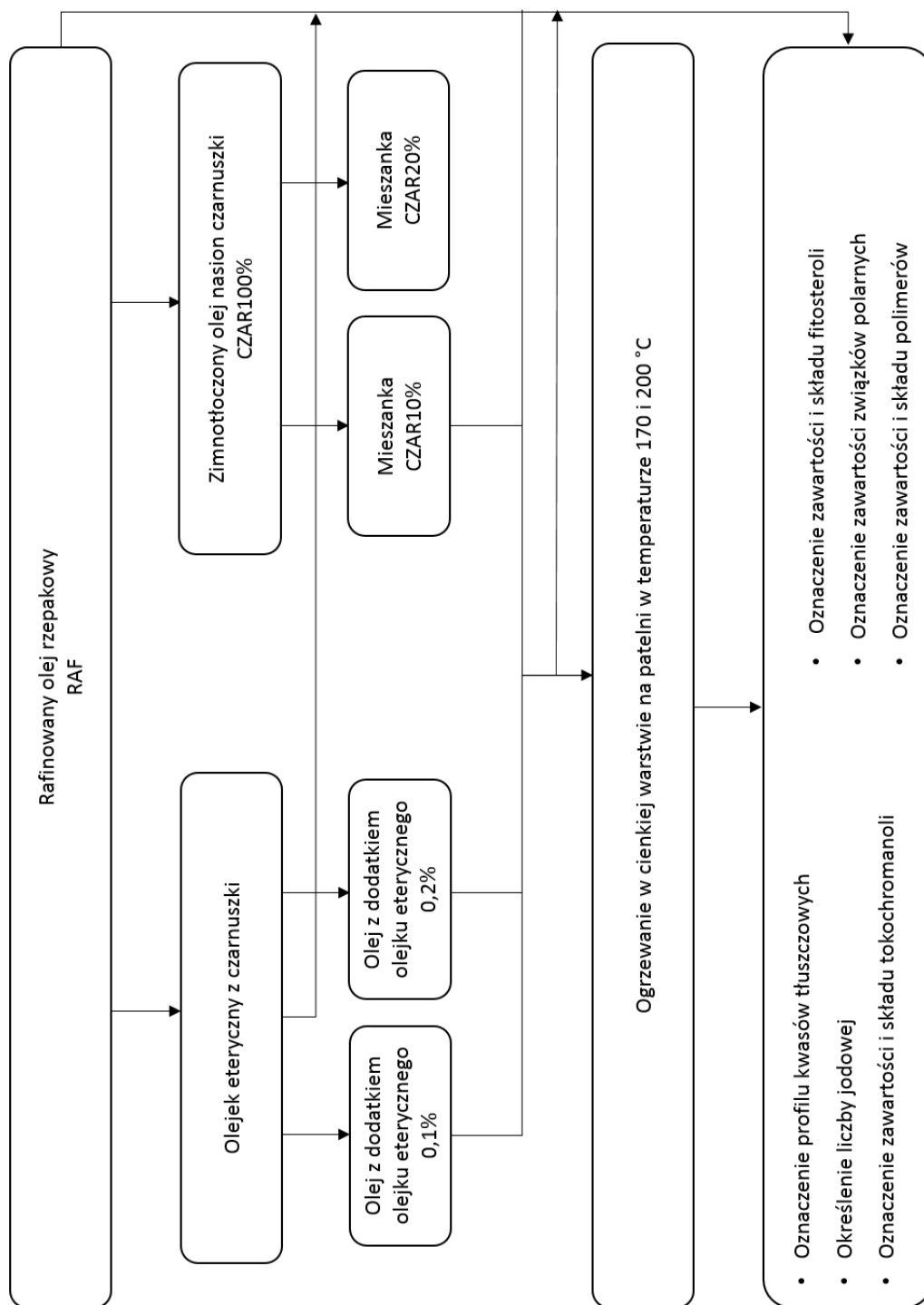
Otrzymane mieszanki poddano ogrzewaniu w cienkiej warstwie w temperaturze 170 i 200°C. Następnie próby nieogrzone i ogrzone oraz próby olejów wyjściowych poddano następującym analizom: oznaczenie profilu kwasów tłuszczowych, oznaczenie zawartości i składu tokochromanoli, oznaczenie zawartości i składu fitosteroli, oznaczenie całkowitej zawartości związków polarnych, oznaczenie zawartości i składu polimerów TAG. Schematy przeprowadzonych badań w poszczególnych etapach pracy zaprezentowano na Rys. 11, Rys. 12 i Rys. 13.



Rys. 11. Schemat I etapu badań: analiza mieszanek rafinowanego oleju rzepakowego z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi



Rys. 12. Schemat II etapu badań: analiza mieszanek rafinowanego oleju rzepakowego z olejami otrzymanymi metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE)



Rys. 13. Schemat III etapu badań: analiza mieszanek rafinowanego oleju rzepakowego z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz oleje z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

11.2. Przygotowanie prób do badań

11.2.1. Otrzymanie olejku eterycznego z oleju z czarnuszki

Olejek eteryczny z czarnuszki otrzymano z zimnotłoczonego oleju z nasion czarnuszki w Katedrze Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu zgodnie wcześniej opisaną metodyką (Edris, 2010; Myszką et al., 2017). Do kolby zawierającej 250ml zimnotłoczonego oleju z nasion czarnuszki dodano 250ml wody destylowanej i poddano dwugodzinnej hydrodestylacji, za pomocą aparatu typu Clevengera. Otrzymano 1ml olejku eterycznego w przeliczeniu na 1l oleju zimnotłoczonego. Otrzymany olejek został zamknięty w szklanym naczyniu i był przechowywany w warunkach chłodniczych (4°C) do czasu przygotowania mieszanek z olejem rzepakowym. Otrzymany olejek eteryczny poddano analizie składu chemicznego za pomocą metody GC/MS.

11.2.2. Przygotowanie mieszanek i olejów z dodatkami

Próby kontrolne

Rafinowany olej bez dodatków (próba RAF) oraz rafinowany olej z dodatkiem TBHQ (próba rTBHQ) stanowiły odpowiednio negatywną i pozytywną próbę kontrolną. Próbę rTBHQ otrzymano dodając do rafinowanego oleju rzepakowego TBHQ (200 mg/kg oleju) rozpuszczony w etanolu i następnie przedmuchując próbę azotem do zaniku zapachu. Wolną przestrzeń w butelce wypełniono azotem i następnie mieszano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej, za pomocą wytrząsarki IKA, KS 501. Po wymieszaniu próby pozostawiono na 24 h w celu równomiernego rozprowadzenia dodatku.

Mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi (I etap badań)

Do rafinowanego oleju rzepakowego dodano zimnotłoczony olej rzepakowy w dwóch stężeniach: 5 i 25% (v/v). Wolną przestrzeń w butelce wypełniono azotem i następnie mieszano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej, za pomocą wytrząsarki IKA, KS 501. Po wymieszaniu próby pozostawiono na 24 h w celu równomiernego rozprowadzenia dodatku. Analogicznie przygotowano mieszanki z zimnotłoczonymi olejami z nasion kolendry i z pestek moreli. Próby przygotowywano w szklanych, ciemnych, zamykanych butelkach. Przygotowane mieszanki przechowywano w warunkach chłodniczych (4°C) do czasu rozpoczęcia procesu ogrzewania. Oznakowanie prób w I etapie badań przedstawiono w Tabela 1.

Tabela 1. Oznakowanie prób w I etapie badań: mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi

Kod próby	Rodzaj próby
RAF	rafinowany olej rzepakowy bez dodatków (negatywna próba kontrolna)
rTBHQ	rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu (pozytywna próba kontrolna)
RZEP5%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju rzepakowego
RZEP25%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego
RZEP100%	zimnotłoczony olej rzepakowy (olej wyjściowy)
KOL5%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry
KOL25%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z nasion kolendry
KOL100%	zimnotłoczony olej z nasion kolendry (olej wyjściowy)
MOR5%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli
MOR25%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z pestek moreli
MOR100%	zimnotłoczony olej z pestek moreli (olej wyjściowy)

Mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z olejami otrzymanymi metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE) (II etap badań)

Do rafinowanego oleju rzepakowego dodano olej z nasion łubinu ekstrahowanego CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE) w dwóch w stężeniach 5 i 25% (v/v), wolną przestrzeń w butelce wypełniono azotem i następnie mieszano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej, za pomocą wytrząsarki IKA, KS 501. Po wymieszaniu próby pozostawiono na 24 h w celu równomiernego rozprowadzenia dodatku. Analogicznie przygotowano mieszanki z olejem z nasion czarnuszki SFE. Próby przygotowywano w szklanych, ciemnych, zamykanych butelkach. Przygotowane mieszanki przechowywano w warunkach chłodniczych (4°C) do czasu rozpoczęcia procesu ogrzewania. Oznakowanie prób w II etapie badań przedstawiono w Tabela 2.

Tabela 2. Oznakowanie prób w II etapie badań: mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z olejami otrzymanymi metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE).

Kod próby	Rodzaj próby
RAF	rafinowany olej rzepakowy bez dodatków (negatywna próba kontrolna)
rTBHQ	rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu (pozytywna próba kontrolna)
ŁSFE5%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE;
ŁSFE25%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE;
ŁSFE100%	olej z nasion łubinu SFE (olej wyjściowy)
CSFE5%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE
CSFE25%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion czarnuszki SFE;
CSFE100%	olej z nasion czarnuszki SFE (olej wyjściowy)

Mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz oleje z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki. (III etap badań)

Do rafinowanego oleju rzepakowego dodano zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki w dwóch w stężeniach 10 i 20% (v/v). Następnie przygotowano dwa oleje z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki. W celu uzyskania porównywalnej zawartości olejku eterycznego w mieszankach z zimnotłoczonym olejem oraz w olejach z dodatkiem olejku eterycznego; do rafinowanego oleju rzepakowego dodano 0,1 i 0,2% (v/v) olejku eterycznego, co odpowiadało dodatkowi 10% i 20% zimnotłoczonego oleju z czarnuszki. Następnie wolną przestrzeń w butelce wypełniono azotem i mieszano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej, za pomocą wytrząsarki IKA, KS 501. Po wymieszaniu próby pozostawiono na 24 h w celu równomiernego rozprowadzenia dodatku. Próby przygotowywano w szklanych, ciemnych, zamykanych butelkach. Przygotowane mieszanki przechowywano w warunkach chłodniczych (4°C) do czasu rozpoczęcia procesu ogrzewania. Oznakowanie prób w III etapie badań przedstawiono w Tabela 3.

Tabela 3. Oznakowanie prób w III etapie badań: mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz oleje z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

Kod próby	Rodzaj próby
RAF	rafinowany olej rzepakowy bez dodatków (negatywna próba kontrolna)
E0,1%	rafinowany olej rzepakowego z dodatkiem 0,1% olejku eterycznego z czarnuszki
E0,2%	rafinowany olej rzepakowego z dodatkiem 0,2% olejku eterycznego z czarnuszki
CZAR10%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju z nasion czarnuszki;
CZAR20%	mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju z nasion czarnuszki;
CZAR100%	zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki (olej wyjściowy)

11.2.3. Ogrzewanie mieszanek i olejów z dodatkami

Rafinowany olej bez dodatków, rafinowany olej z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu oraz wszystkie mieszanki poddano ogrzewaniu w dwóch temperaturach 170 i 200°C. Próbkę o objętości 50 cm³ ogrzewano w cienkiej warstwie, na patelni o średnicy dna 20 cm, za pomocą płyt grzewczej CAT H 30/30 D. Eksperymentalnie sprawdzono, że 7 min jest potrzebne na doprowadzenie temperatury oleju do 170°C i 9 min do 200°C. Następnie oleje ogrzewano przez 10 min utrzymując temperaturę 170 lub 200°C. Rzeczywistą temperaturę oleju na patelni podczas ogrzewania kontrolowano korzystając z termometru elektronicznego TESTO 104. Ogrzane próby zostały przeniesione do plastikowych pojemników i przechowywane w atmosferze azotu, bez dostępu światła w temperaturze – 30°C do czasu wykonania analiz.

11.3. Metody badawcze

11.3.1. Skład olejku eterycznego

Skład olejku eterycznego z czarnuszki określono wykonując analizę GC/MS (Myszka et al., 2017). Wykorzystano chromatograf gazowy Hewlett-Packard HP 7890A GC sprzężony z spektrometrem masowym 5975C (Agilent Technologies) oraz z kolumną DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 urn) (Agilent Technologies). Warunki pracy dla GC/MS były następujące: przepływ helu, 0,8 ml/min; początkowa temperatura pieca, 40°C (1 min), podwyższona do 280°C z szybkością 9°C/min, utrzymywana przez 3 min w warunkach izotermicznych. Dla wszystkich pików obliczono wskaźniki retencji w celu porównania wyników uzyskanych metodą GC/MS z danymi literaturowymi. Wskaźniki retencji obliczono dla każdego związku stosując serie homologiczne n-alkanów C7 – C20. Widma masowe rejestrowano w trybie zderzenia elektronów (70 eV) w zakresie skanowania m/z 33-350.

11.3.2. Profil kwasów tłuszczowych

Skład kwasów tłuszczowych został określony zgodnie z metodyką AOCS Ce 1h-05 (AOCS, 2005). Próbki oleju rozpuszczono w heksanie i transestryfikowano metanolanem sodu. Analizę estrów metylowych kwasów tłuszczowych (FAME) wykonano z zastosowaniem chromatografu gazowego Agilent 7820A GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) i kolumnę kapilarną SLB-IL111 (Supelco, Bellefonte, PA, USA) (100 m, 0,25 mm, 0,20 µm). Rozdział FAME przeprowadzono w następujących warunkach: początkowa temperatura pieca wynosiła 150°C i rosła z szybkością 1,5°C/min do 200°C; temperatura portu nastrzykowego i detektora wynosiła 250°C; gazem nośnym był hel przy przepływie 1 ml/min. Estrы metylowe kwasów tłuszczowych (FAME) zidentyfikowano przez porównanie z wzorcem GC Analysis of a Grain Fatty Acid Methyl Ester (FAME) Mix on SP™-2560 (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Wyniki zostały wyrażone jako udział procentowy poszczególnych kwasów w próbce oleju.

11.3.3. Liczba jodowa

Liczba jodowa jest miarą stopnia nienasylenia tłuszczu. Została obliczona zgodnie z oficjalną metodyką AOCS Cd 1c-85 (AOCS, 2009a), na podstawie zawartości procentowej kwasu heksadecenowego, kwasu oktadecenowego, kwasu oktadekadecenowego, kwasu oktadekatrienowego, kwasu eikozanoidowego i kwasu dokozenowego.

11.3.4. Zawartość i skład tokochromanoli

Analizę zawartości i składu tokochromanoli wykonano zgodnie z wcześniej zaprezentowaną metodyką (Siger et al., 2016). Próbki olejów rozpuszczono w n-heksanie i poddano analizie z zastosowaniem chromatografu cieczonego Waters HPLC (Waters, Milford, MA) wyposażonego w detektor fluorymetryczny (Waters 474). Rozdział badanych związków przeprowadzono za pomocą kolumny LiChrosorb Si 60 (Merck, Darmstadt, Niemcy) (250 mm, 4,6 mm, 5 μ m). Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę n-heksanu z 1,4-dioksanem w stosunku 96:4 (v/v), przy natężeniu przepływu 1,0 ml/min. Detekcję tokochromanoli wykonano przy długości fali wzbudzenia $\lambda=295$ nm oraz długości fali emisji $\lambda=330$ nm. W celu identyfikacji tokochromanoli użyto wzorców Merck (Darmstadt, Niemcy).

11.3.5. Zawartość i skład fitosteroli

Analizę fitosteroli wykonano zgodnie z wcześniej opisaną metodyką (Kmiećik et al., 2020). Próbki olejów poddano zmydleniu z użyciem 1 M KOH w metanolu, w temperaturze pokojowej przez 18 godzin. Frakcję niezmydlającą się ekstrahowano dwukrotnie mieszaniną heksan/eter metylo-tert-butylowy (1:1, v/v). Następnie pobierano warstwę heksanową, a rozpuszczalnik odparowano w atmosferze azotu. Do otrzymanych prób dodawano odczynnik siliujący (BSTFA z 1% TCMS, Thermo Scientific) oraz pirydynę (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) i analizowano z zastosowaniem chromatografu Agilent 7820A GC (Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA) wyposażonego w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) oraz kolumnę kapilarną DB-35MS (Agilent Technologies, 30 m, 0.20 mm, 0.33 μ m). Zastosowano następujące parametry analizy: początkową temperaturę pieca 100°C utrzymano przez 5 min., następnie zwiększono 25°C/min do 250°C, a potem 3°C/min do 290°C, temperatura detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID) wynosiła 250°C; gazem nośnym był hel przy przepływie 1 ml/min. Jako standard wewnętrzny stosowano 5 α -cholestan. Fitosterole identyfikowano poprzez porównanie czasów ich retencji z odpowiednimi wzorcami.

11.3.6. Rozdział frakcji niepolarnej i polarnej

Próbki olejów rozdzielono na frakcję niepolarną i polarną na kolumnach z żelalem krzemionkowym, zgodnie z wcześniej opisaną metodyką (Kmiećik et al., 2018). Naważone próbki oleju (0,5 g) rozpuszczono w toluenie i wprowadzono na szczyt kolumny z żelalem krzemionkowym. Frakcję niepolarną eluowano mieszaniną heksanu oraz eteru diizopropylowego (82:18, v:v), a frakcję polarną czystym eterem diizopropylowym. Obie frakcje zbierano do zakręcanych próbek. Czystość obu frakcji oraz dokładność rozdziału zweryfikowano metodą chromatografii cienkowarstwowej. Płytkę TLC z żelalem krzemionkowym wywołano mieszaniną heksan:eter diizopropylowy (82:18, v:v), spryskano roztworem siarczynu miedzi, kwasu fosforowego metanolu i ogrzano do 120°C.

11.3.7. Zawartość związków polarnych (TPC)

Analizę zawartości związków polarnych przeprowadzono zgodnie z wcześniej opisaną metodyką (Kmieciak et al., 2018). Rozpuszczone w toluenie próbki tłuszczu rozdzielano na kolumnie chromatograficznej wypełnionej żelalem krzemionkowym. Frakcję niepolarną eluowano za pomocą mieszaniny heksanu oraz eteru diizopropylowego (82:18, v:v) i zebrano na szalkach aluminiowych. Otrzymaną w ten sposób frakcję niepolarną poddano odparowaniu w celu usunięcia rozpuszczalnika i zważono. Następnie zawartość frakcji polarnej w próbkach oleju obliczono na podstawie różnicy masy próbki i frakcji niepolarnej, jako udział procentowy w próbce oleju.

11.3.8. Skład i zawartość polimerów tricylogliceroli

Zawartość dimerów TAG we frakcji polarnej określono zgodnie z wcześniej opisaną metodyką (Kmieciak et al., 2018). Analizę przeprowadzono stosując technikę wysokosprawnej chromatografii wykluczania (HPSEC) z zastosowaniem chromatografu cieczowego Infinity 1290 HPLC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) wyposażonego w detektor ELSD (Evaporative Light Scattering Detector). Rozdział analizowanych związków wykonano za pomocą dwóch połączonych ze sobą kolumn Phenogel (100 Å i 500 Å, 5 μ, 300 × 7,8 mm) (Phenomenex, Torrance, Kalifornia, USA). Temperatura pieca kolumn wynosiła 30°C, temperatura detektora ELSD wynosiła 30°C. Fazą ruchomą był dichlorometanem (DCM) o przepływie 1 ml/min.

11.4. Metody analizy statystycznej i opracowanie wyników

Proces ogrzewania przygotowanych mieszanek prowadzono równolegle, na dwóch niezależnych patelniach. Wszystkie analizy przeprowadzono w dwukrotnym powtórzeniu. Wyniki dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± odchylenie standardowe (SD). Wyniki dla prób ogranych wyrażono jako średnie z czterech oznaczeń ± SD. Istotność statystyczną różnic między średnimi określono z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA), przy zastosowaniu testu Tukeya ($p < 0,05$). Przeprowadzono wielowymiarową analizę statystyczną z zastosowaniem analizy głównych składowych (PCA). Obliczenia oraz wykresy wykonano w programach Statistica 13.3 i MS Excel 2019.

12. Wyniki

12.1. Wyniki I etapu badań – mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z olejami zimnotłoczonymi o wysokiej zawartości jednonienasyconych kwasów tłuszczowych

12.1.1. Profil kwasów tłuszczowych i liczba jodowa

Głównymi kwasami tłuszczowymi w badanych próbach były kwasy z rodziny C18:1, których udział w nieogranych mieszankach i próbach kontrolnych wynosił od 65,56% (RZEP25%) do 69,71% (KOL25%) oraz 66,61, 82,18 i 70,22% odpowiednio w RZEP100%, KOL100% i MOR100% (Tabela 4). Drugim, trzecim, czwartym i piątym w kolejności były kwasy linolowy, linolenowy, palmitynowy i stearynowy których, udział w mieszankach i próbach kontrolnych wynosił odpowiednio 15,96-19,34%; 6,32-9,11%; 4,11-4,32% i 1,35-1,90%. Łączny udział pozostałych zidentyfikowanych kwasów nie przekraczał 2%. Najwyższym stopniem nienasylenia określanym przez wartość liczby jodowej spośród prób nieogranych oraz olejów wyjściowych odznaczały się próby RAF (112,82) i rTBHQ (112,69), natomiast najniższą wartość tego parametru stwierdzono w próbce KOL100% (85,73).

Udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych pod wpływem ogrzewania w 170 i 200°C zmniejszył się we wszystkich próbach odpowiednio o 0,30-0,97% i 0,44-1,31% (Tabela 5). Z kolei udział jednonienasyconych zwiększył się odpowiednio o 0,13-0,91% i 0,41-1,08%. We wszystkich przypadkach różnice udziałów PUFA i MUFA między próbami nieogrzewanymi, próbami ogrzewanymi w 170 oraz w 200°C były istotne statystycznie, z wyjątkiem prób rTBHQ. Udział nasyconych kwasów tłuszczowych zwiększył się pod wpływem ogrzewania w 170 i 200°C we wszystkich próbach odpowiednio o 0,01-0,08% i 0,20-0,23%. Pod tym względem nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między próbami rTBHQ nieogrzewanymi, ogrzewanymi w 170 oraz 200°C. Jednocześnie wykazano istotne statystycznie różnice między wszystkimi próbami MOR5%. Wśród pozostałych mieszanek, próby ogrzane w 200°C różniły się istotnie statystycznie względem prób nieogrzewanych i prób ogrzanych w 170°C. Natomiast między próbami nieogrzewanymi i próbami ogrzewanymi w 170°C nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic.

Tabela 4. Profil kwasów tłuszczowych [%] w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogranych i ogranych mieszankach

	RAF	rTBHQ	RZEP5%	RZEP25%	RZEP100%	KOL5%	KOL25%	KOL100%	MOR5%	MOR25%	MOR100%	
C16	nieogrzewane	4,21±0,03aBC	4,20±0,04aABC	4,15±0,02aABC	4,20±0,00aABC	4,14±0,02AB	4,16±0,04aABC	4,32±0,03aD	4,72±0,00F	4,11±0,00aA	4,24±0,03aCD	4,43±0,01E
	170°C	4,22±0,02aABC	4,33±0,16aBC	4,20±0,02aAB	4,23±0,01aABC	-	4,19±0,01aA	4,35±0,01aC	-	4,15±0,02bA	4,25±0,01aABC	-
	200°C	4,32±0,03bA	4,31±0,01aA	4,30±0,02bA	4,36±0,01bB	-	4,29±0,01bA	4,44±0,01bD	-	4,24±0,01cC	4,38±0,01bB	-
C18	nieogrzewane	1,40±0,01aCD	1,42±0,02aAD	1,47±0,01aAB	1,50±0,00aB	1,67±0,02G	1,60±0,01aF	1,90±0,01aH	3,21±0,04I	1,47±0,01aAB	1,35±0,01bC	1,06±0,00E
	170°C	1,41±0,01aB	1,43±0,03aB	1,48±0,01aA	1,50±0,01aA	-	1,61±0,01aD	1,92±0,01abE	-	1,50±0,01bA	1,35±0,01bC	-
	200°C	1,43±0,01aA	1,44±0,01aA	1,52±0,01bB	1,54±0,01bD	-	1,65±0,00bE	1,93±0,01bF	-	1,51±0,00bB	1,38±0,01bC	-
C18:1	nieogrzewane	65,36±0,03aA	65,34±0,03aA	65,86±0,02aC	65,56±0,01aB	66,61±0,05D	67,60±0,05aF	69,71±0,05aH	82,18±0,09J	67,12±0,08aE	67,97±0,06aG	70,22±0,01I
	170°C	65,78±0,03bA	65,45±0,19aB	66,15±0,06bC	65,83±0,05bA	-	67,90±0,02bE	69,97±0,05bG	-	67,49±0,06bD	68,30±0,06bF	-
	200°C	66,44±0,05cB	66,26±0,10bA	66,95±0,05cD	66,58±0,06cC	-	68,60±0,03cF	70,74±0,05cH	-	68,21±0,03cE	68,98±0,04cG	-
C18:2	nieogrzewane	18,68±0,05cB	18,63±0,05bB	18,37±0,00cA	18,21±0,02cG	16,72±0,02E	17,53±0,01cF	15,96±0,01cD	7,83±0,02C	18,33±0,03cA	19,34±0,00cH	23,33±0,02I
	170°C	18,47±0,03bD	18,92±0,24bE	18,20±0,02bA	18,08±0,03bA	-	17,36±0,01bC	15,78±0,02bB	-	18,09±0,02bA	19,14±0,02bF	-
	200°C	18,08±0,05aE	18,17±0,05aF	17,71±0,02aA	17,58±0,03aD	-	16,91±0,02aC	15,31±0,02aB	-	17,66±0,02aA	18,62±0,01aG	-
C18:3	nieogrzewane	9,10±0,02cA	9,08±0,01aA	8,83±0,01cG	9,11±0,01cA	9,13±0,00A	7,84±0,01cB	6,80±0,00cF	0,33±0,01D	7,85±0,04cB	6,32±0,01cE	0,07±0,00C
	170°C	8,89±0,02bA	8,44±0,76aA	8,65±0,02bA	8,94±0,02bA	-	7,67±0,01bC	6,66±0,02bB	-	7,65±0,03bC	6,16±0,02bB	-
	200°C	8,49±0,02aB	8,57±0,04aF	8,19±0,01aE	8,50±0,04aB	-	7,30±0,02aA	6,28±0,02aD	-	7,27±0,01aA	5,85±0,01aC	-
inne	nieogrzewane	1,25±0,01aB	1,34±0,01aA	1,31±0,01aA	1,42±0,00aG	1,73±0,00C	1,26±0,01aB	1,31±0,00aA	1,72±0,02C	1,11±0,00aF	0,78±0,00aD	0,90±0,00E
	170°C	1,23±0,02aAC	1,43±0,15aC	1,32±0,02aAB	1,42±0,01aC	-	1,27±0,01aAC	1,32±0,01aAB	-	1,12±0,02aC	0,79±0,01aD	-
	200°C	1,25±0,02aA	1,25±0,01aA	1,33±0,01aE	1,44±0,02aF	-	1,25±0,01aA	1,29±0,02aD	-	1,11±0,01aC	0,80±0,01aB	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; RZEP5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP100% - zimnotłoczony olej rzepakowy; KOL5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; KOL25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z nasion kolendry; KOL100% - zimnotłoczony olej z nasion kolendry; MOR5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli; MOR25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z pestek moreli; MOR100% - zimnotłoczony olej z pestek moreli; inne - C14:0, C16:1, C20:0, C20:1, C22:0, C22:1. Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogranych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami. Średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami

Tabela 5. Udziały nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [%] oraz wartości obliczonej liczby jodowej w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych, w ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach

		RAF	rTBHQ	RZEP5%	RZEP25%	RZEP100%	KOL5%	KOL25%	KOL100%	MOR5%	MOR25%	MOR100%
SFA	nieogrzewane	6,31±0,03aA	6,37±0,07aAB	6,36±0,03aAB	6,43±0,00aABC	6,53±0,04C	6,45±0,04aBC	6,93±0,03aG	8,89±0,04H	6,16±0,01aF	5,91±0,04aE	5,63±0,01D
	170°C	6,31±0,04aAC	6,57±0,27aB	6,42±0,03aABC	6,46±0,01aAB	-	6,49±0,02aAB	6,98±0,02aE	-	6,23±0,04bC	5,93±0,03aD	-
	200°C	6,44±0,05bA	6,45±0,01aA	6,58±0,03bB	6,66±0,02bC	-	6,63±0,01bBC	7,08±0,03bF	-	6,33±0,01cE	6,09±0,02bD	-
MUFA	nieogrzewane	65,73±0,03aA	65,72±0,03aA	66,24±0,01aB	65,89±0,00aA	66,81±0,05C	68,02±0,04aE	70,16±0,04aG	82,92±0,08I	67,52±0,07aD	68,37±0,05aF	70,96±0,01H
	170°C	66,14±0,02bA	65,85±0,21aB	66,53±0,06bC	66,16±0,05bA	-	68,32±0,02bE	70,42±0,05bG	-	67,89±0,06bD	68,70±0,06bF	-
	200°C	66,80±0,04cA	66,63±0,09bB	67,32±0,05cC	66,91±0,06cA	-	69,00±0,03cE	71,17±0,06cG	-	68,59±0,02cD	69,37±0,04cF	-
PUFA	nieogrzewane	27,78±0,07cC	27,71±0,04bD	27,20±0,01cE	27,32±0,01cF	25,86±0,02A	25,37±0,01cG	22,76±0,01cH	8,16±0,03B	26,18±0,07cI	25,66±0,01cA	23,39±0,02B
	170°C	27,36±0,04bC	27,36±0,51abC	26,85±0,04bC	27,03±0,05bAC	-	25,03±0,01bB	22,44±0,04bD	-	25,74±0,04bE	25,30±0,04bB	-
	200°C	26,57±0,07aG	26,74±0,09aH	25,90±0,03aE	26,08±0,07aF	-	24,21±0,03aB	21,60±0,04aA	-	24,93±0,03aD	24,47±0,02aC	-
liczba jodowa	nieogrzewane	112,82±0,10cA	112,69±0,09aA	112,04±0,01cI	112,31±0,01cJ	110,91±0,01H	109,49±0,01cF	105,89±0,02cD	85,73±0,00B	110,45±0,09cG	108,89±0,01cE	101,66±0,02C
	170°C	112,27±0,08bA	111,65±1,35aA	111,52±0,06bA	111,88±0,07bA	-	109,01±0,02bBC	105,43±0,05bD	-	109,84±0,06bC	108,43±0,04bB	-
	200°C	111,11±0,12aG	111,33±0,12aH	110,14±0,03aE	110,50±0,10aF	-	107,84±0,05aC	104,28±0,04aA	-	108,72±0,04aD	107,28±0,02aB	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; RZEP5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP100% - zimnotłoczony olej rzepakowy; KOL5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; KOL25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z nasion kolendry; KOL100% - zimnotłoczony olej z nasion kolendry; MOR5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli; MOR25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z pestek moreli; MOR100% - zimnotłoczony olej z pestek moreli; SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Wartości dla prób mieszanek nieogrzanych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami. Średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami

12.1.2. Zawartość tokochochromanoli oraz ich stabilność podczas ogrzewania

Wśród nieogrzanych mieszanek, prób kontrolnych oraz olejów zimnotłoczonych (Tabela 6) najwyższą zawartością tokochochromanoli odznaczały się próby RAF (70,45 mg/100g oleju) i rTBHQ (69,24 mg/100g oleju). Dominującymi homologami były γ -tokoferol, z najwyższą zawartością w próbach MOR100% (54,30 mg/100g oleju) i MOR25% (36,72 mg/100g oleju) oraz α -tokoferol z najwyższą zawartością w próbach KOL100% (50,68 mg/100g oleju) i KOL25% (36,66 mg/100g oleju). W próbie MOR100% odnotowano najwyższą zawartość δ -tokoferolu (1,65 mg/100g oleju), a w KOL100% β -tokoferolu (1,39 mg/100g oleju). W oleju z nasion kolendry (KOL100%) oraz jego mieszkankach KOL5% i KOL25% stwierdzono także obecność tokotrienoli. Ich głównym homologiem był γ -tokotrienol, którego zawartość wynosiła odpowiednio 3,07; 0,72 i 0,15 mg/100g oleju.

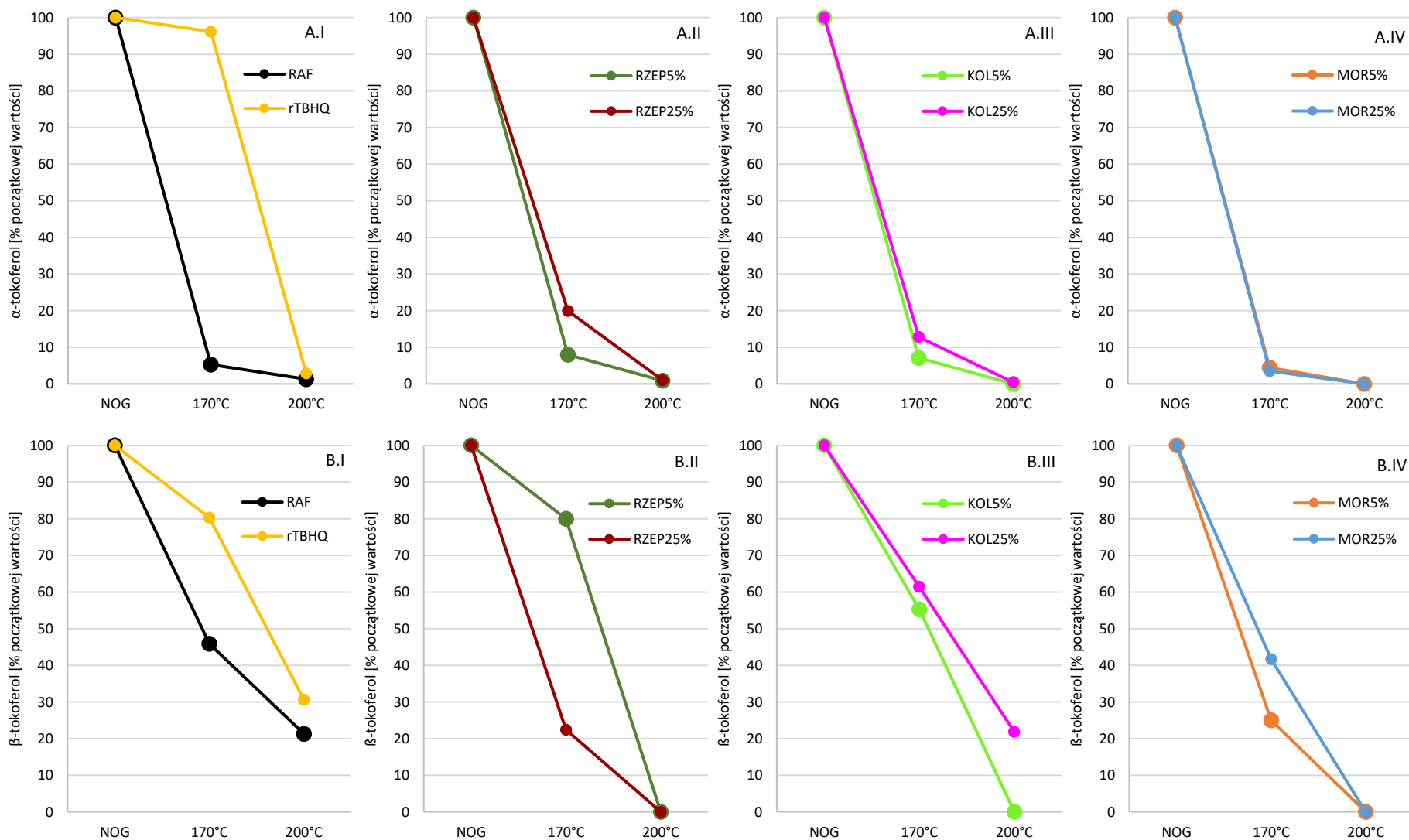
Stabilność tokochochromanoli oraz poszczególnych homologów podczas ogrzewania zaprezentowano na Rys. 14, Rys. 15, Rys. 16 oraz Rys. 17. Podczas ogrzewania w 170°C najwyższą stabilnością tokochochromanoli oraz poszczególnych homologów charakteryzowała się próba rTBHQ. Wśród pozostałych prób, najmniejsze straty tokochochromanoli, γ -tokoferolu oraz PC-8 odnotowano w próbach RZEP5% (pozostało odpowiednio 25,01; 62,77 i 60,14% początkowej zawartości) i RZEP25% (pozostało odpowiednio 39,75; 50,47 i 54,67% początkowej zawartości). Ponadto β - i δ -tokoferol były bardziej stabilne w próbie RZEP25% niż w próbie RAF. Natomiast w mieszkankach z dodatkiem olejów zimnotłoczonych z nasion kolendry oraz pestek moreli wszystkie homologu tokoferoli wykazywały niższą lub porównywalną stabilność względem próby RAF.

W próbach rTBHQ, RAF oraz RZEP5% ogrzewanych w 200°C pozostało odpowiednio 18,04; 13,98 i 12,89% początkowej zawartości tokochochromanoli. W pozostałych próbach końcowa zawartość tokochochromanoli po ogrzewaniu spadła poniżej 10% ich początkowej zawartości. Ponadto próby rTBHQ, RAF oraz RZEP5% oznaczały się najwyższą stabilnością γ -tokoferolu oraz PC-8. W KOL5%, MOR5% i MOR25% ogrzewanie w 200°C spowodowało degradację α - i β -tokoferolu do poziomu poniżej granicy wykrywalności.

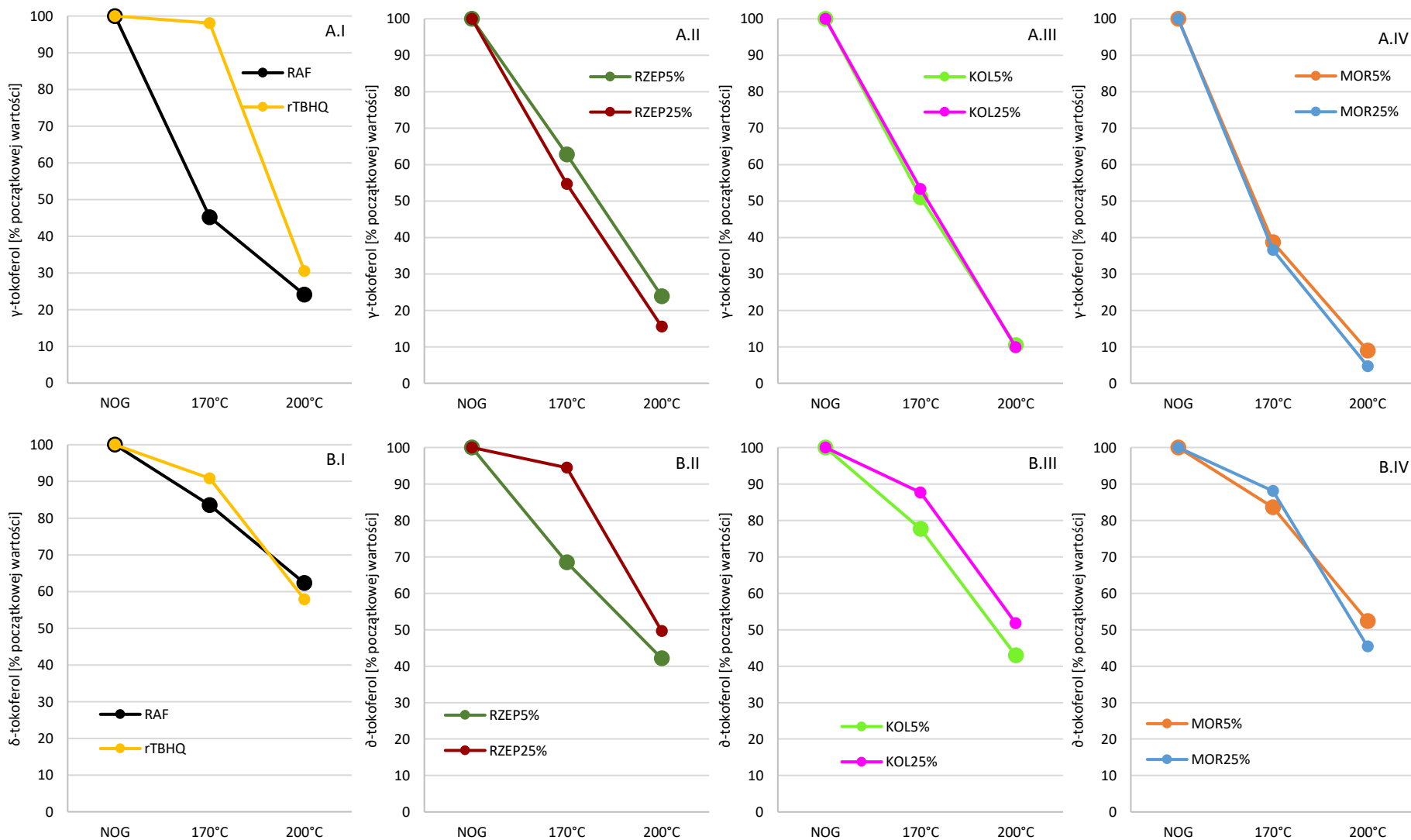
Tabela 6. Zawartość tokochromanoli oraz poszczególnych homologów [mg/100g oleju] w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach

	RAF	rTBHQ	RZEP5%	RZEP25%	RZEP100%	KOL5%	KOL25%	KOL100%	MOR5%	MOR25%	MOR100%
α-tokoferol	30,70±0,05B	30,18±0,48B	25,20±0,23A	28,18±0,11E	26,41±0,24A	29,6±0,45B	36,66±0,48F	50,68±0,49G	25,45±0,12A	20,76±0,28D	1,66±0,00C
β-tokoferol	0,13±0,03AB	0,16±0,02A	0,05±0,01AB	0,15±0,05AB	0,09±0,01AB	0,19±0,01A	0,43±0,05C	1,39±0,08D	0,11±0,03AB	0,06±0,01AB	n/w
γ-tokoferol	33,58±0,09B	32,78±0,95AB	24,15±0,16D	31,78±0,26AC	32,84±0,25AB	31,23±0,22C	25,38±0,06D	0,59±0,08E	32,63±0,13ABC	36,72±0,18F	54,3±0,55G
δ-tokoferol	0,69±0,06AB	0,74±0,02AB	0,83±0,04BC	0,68±0,04AB	0,73±0,05AB	0,93±0,06C	1,26±0,04E	0,14±0,02D	0,64±0,03A	0,92±0,04C	1,65±0,01F
PC-8	5,36±0,04D	5,37±0,03CD	3,60±0,08G	4,79±0,19BE	3,73±0,23AB	4,41±0,02CE	4,00±0,07CD	n/w	4,33±0,06AB	3,79±0,09A	n/w
α-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,04±0,01A	0,15±0,00B	0,33±0,01C	n/w	n/w	n/w
β-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,10±0,01A	0,08±0,00A	0,89±0,09B	n/w	n/w	n/w
γ-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,15±0,00A	0,72±0,01B	3,07±0,08C	n/w	n/w	n/w
δ-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,08±0,00A	0,86±0,02B	n/w	n/w	n/w
suma tokochromanoli	70,45±0,13D	69,24±1,39CD	53,82±0,33G	65,56±0,43BF	63,8±0,78AB	66,65±0,77CF	68,75±0,37CD	57,92±0,88E	63,16±0,36AB	62,24±0,13A	57,61±0,54E

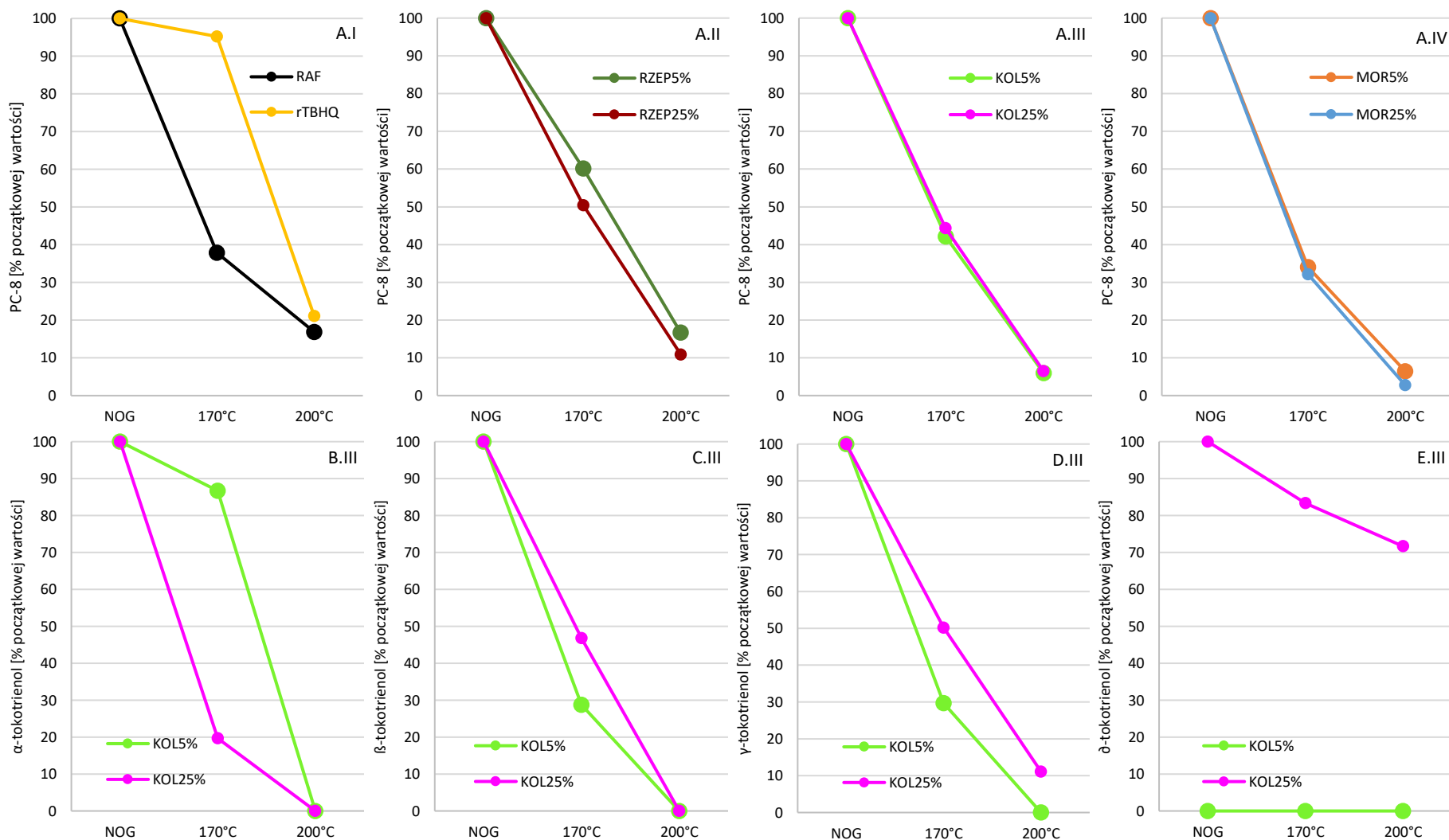
RAF – rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ – rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; RZEP5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP100% – zimnotłoczony olej rzepakowy; KOL5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; KOL25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z nasion kolendry; KOL100% – zimnotłoczony olej z nasion kolendry; MOR5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli; MOR25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z pestek moreli; MOR100% – zimnotłoczony olej z pestek moreli; PC-8 – plastochoromanol-8; n/w – nie wykryto; wartości są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami



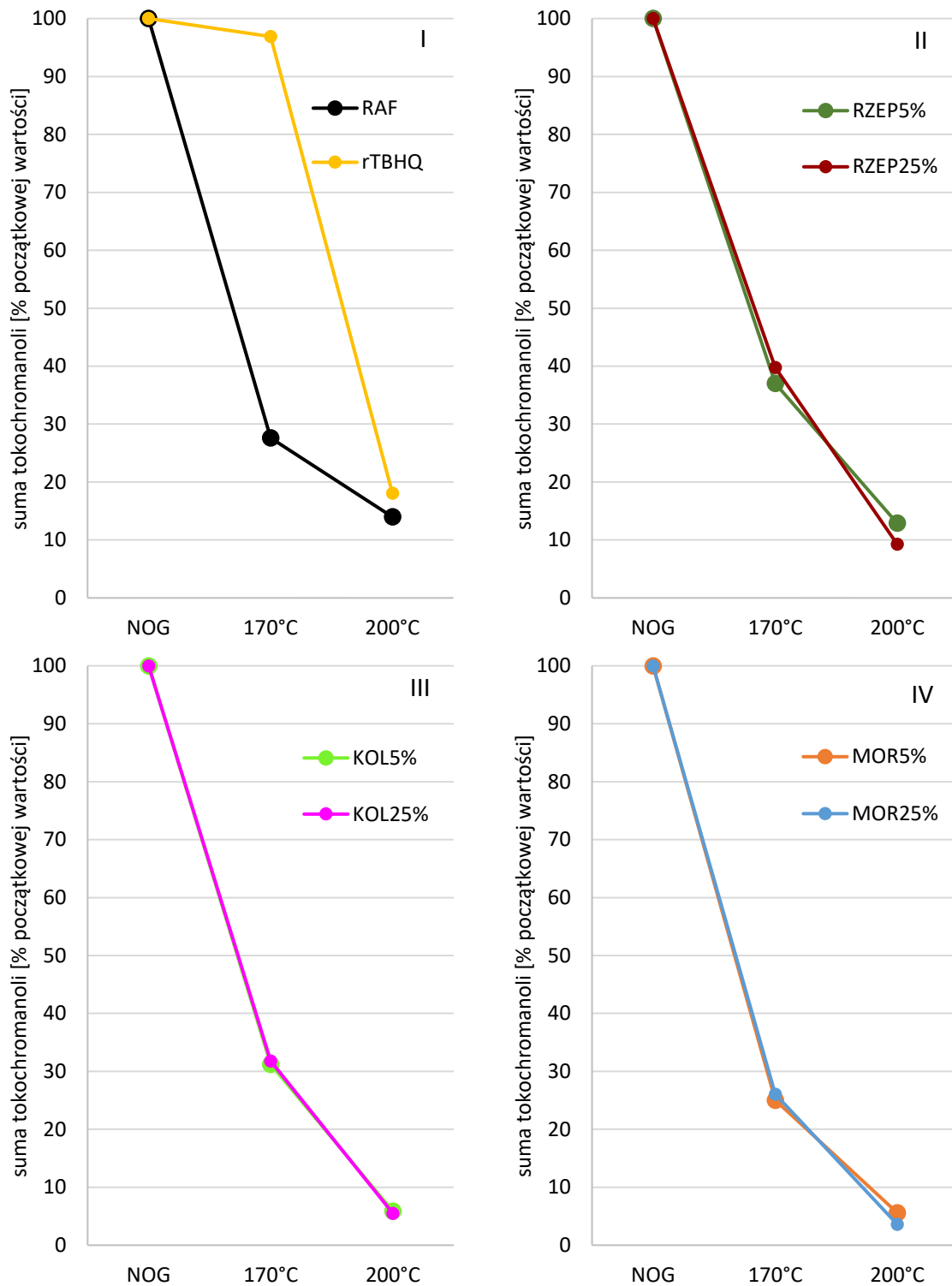
Rys. 14. Wykresy stabilności α -tokoferolu (A) i β -tokoferolu (B) w mieszankach olejów zimnotłoczonych oraz w próbach kontrolnych podczas ogrzewania w 170 i 200°C; I. rafinowany olej rzepakowy i rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem TBHQ; II. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; III. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; IV. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli



Rys. 15. Wykresy stabilności γ -tokoferolu (A) i δ -tokoferolu (B) w mieszankach olejów zimnotłoczonych oraz w próbach kontrolnych podczas ogrzewania w 170 i 200°C; I. rafinowany olej rzepakowy i rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem TBHQ; II. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; III. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; IV. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli



Rys. 16. Wykresy stabilności PC-8 (A) i α -tokotrienolu (B), β -tokotrienolu (C), γ -tokotrienolu (D), δ -tokotrienolu (E) w mieszankach olejów zimnotłoczonych oraz w próbach kontrolnych podczas ogrzewania w 170 i 200°C; I. rafinowany olej rzepakowy i rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem TBHQ; II. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; III. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; IV. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli



Rys. 17. Wykresy stabilności tokochochromanoli w mieszankach olejów zimnotłoczonych podczas ogrzewania w 170 i 200°C; I. rafinowany olej rzepakowy i rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem TBHQ; II. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; III. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; IV. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli

12.1.3. Zawartość fitosteroli oraz ich stabilność podczas ogrzewania

Zawartość fitosteroli w olejach wyjściowych zawierała się w granicach od 245,97 (dla MOR100%) do 500,97 mg/100g oleju (dla RZEP100%) (Tabela 7). W nieogrzewanych mieszankach oraz próbach kontrolnych wahała się w granicach od 425,65 (dla MOR25%) do 498,05 mg/100g oleju (dla RZEP5%). We wszystkich nieogrzewanych mieszankach oraz próbach kontrolnych dominującymi fitosterolami były β -sitosterol (232,69–248,84 mg/100g oleju) i kampesterol (136,5–175,14 mg/100g oleju), które łącznie stanowiły od 81,85-86,74% całkowitej zawartości fitosteroli. Brassikasterol był trzecim fitosterolem pod względem zawartości (43,61–72,85 mg/100g oleju). Jego występowanie stwierdzono w próbach kontrolnych oraz w mieszankach, natomiast nie zidentyfikowano go w olejach wyjściowych. We wszystkich próbach kontrolnych, mieszankach oraz olejach wyjściowych stwierdzono występowanie kampestanolu. Jego najwyższą zawartością odznaczała się próba KOL100% (5,57 mg/100g oleju), jednak nie różniła się ona statystycznie istotnie od próby RAF. We wszystkich próbach kontrolnych, mieszankach oraz olejach wyjściowych wykryto również Δ^5 -awenasterol. Jego najwyższą zawartością charakteryzowały się próby MOR100% (22,40 mg/100g oleju co stanowiło ponad cztery razy więcej niż w próbie RAF) oraz KOL100% (10,55 mg/100g co stanowiło ponad dwa razy więcej niż w próbie RAF). W próbach KOL5%, KOL25%, KOL100% i MOR100% stwierdzano również występowanie Δ^7 -awenasterolu oraz Δ^7 -stigmasterolu. Próby KOL5%, KOL25%, KOL100% wyróżniały się zawartością stigmasterolu. Natomiast citrostadienol wykryto jedynie w próbach KOL25% i KOL100%.

Pod wpływem ogrzewania w 170 i 200°C nie odnotowano zmian w zawartości dwóch głównych fitosteroli, β -sitosterolu i kampesterolu lub były one niewielkie i nieistotne statystycznie. Wyjątek stanowiła próba rTBHQ ogrzana w 200°C, w której zawartości β -sitosterolu i kampesterolu różniły się istotnie statycznie względem próby nieogrzonej. Ogrzewanie w 170 i 200°C w większości przypadków spowodowało nieznaczne obniżenie zawartości fitosteroli. W próbach ogrzanych w 170°C największy spadek zanotowano w próbie RZEP25% (o 3,99% początkowej zawartości) oraz wśród prób ogrzanych w 200°C w próbie RZEP5% (o 6,49% początkowej zawartości). Jednak nie były to zmiany istotne statycznie, z wyjątkiem próby RZEP25% ogrzanej w 170°C oraz prób rTBHQ i RZEP5% ogrzanych w 200°C. Najmniej stabilnym fitosterolem zarówno podczas ogrzewania w 170°C jak i w 200°C okazał się Δ^7 -stigmasterol.

Tabela 7. Zawartość fitosteroli [mg/100 oleju] w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach

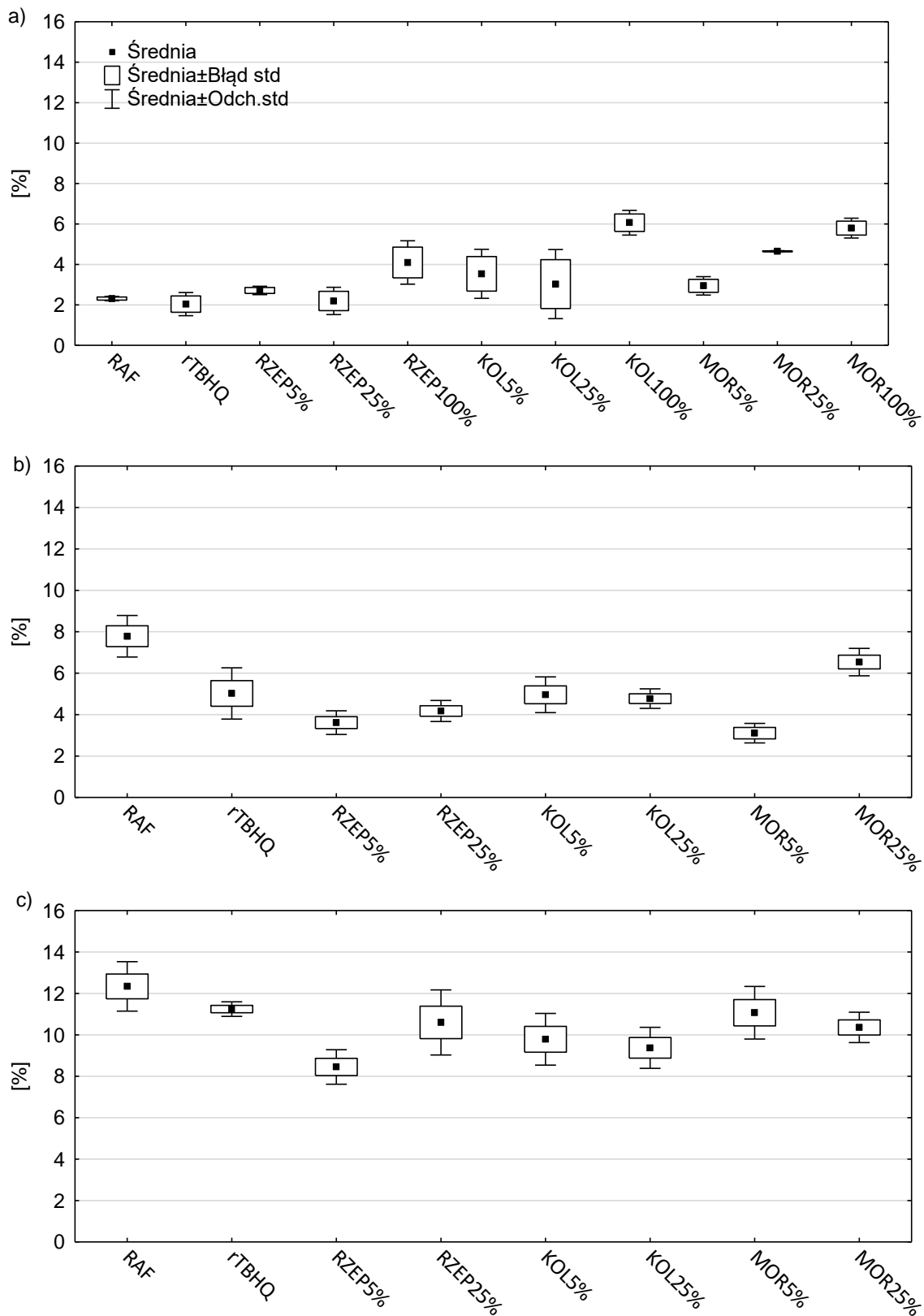
		RAF	rTBHQ	RZEP5%	RZEP25%	RZEP100%	KOL5%	KOL25%	KOL100%	MOR5%	MOR25%	MOR100%
brassikasterol	nieogrzewane	72,85±1,05bD	62,1±1,44aA	62,94±0,56aA	63,05±0,10aA	62,33±5,88A	57,63±2,57aAB	49,99±0,77aBC	n/w	54,42±2,46aAB	43,61±1,43aC	n/w
	170°C	60,47±1,90aA	62,18±0,57aA	60,94±3,54aA	60,58±0,59aA	-	61,36±0,79aA	52,08±5,02aB	-	65,29±4,64aA	47,88±1,27aB	-
	200°C	57,99±0,82aAB	54,45±1,69bAB	57,88±0,25aAB	59,06±3,69aAB	-	61,05±2,00aB	51,87±7,94aAB	-	58,89±4,51aAB	49,84±5,40aA	-
kampesterol	nieogrzewane	165,07±5,19aA	171,08±4,14bA	175,14±0,34aA	170,81±2,44bA	171,73±3,10A	168,11±7,97aA	149,21±5,78aCD	26,68±0,48B	161,81±3,07aAD	136,5±0,25aC	14,26±1,46B
	170°C	166,07±3,69aAC	166,32±2,05abAC	174,27±1,88aC	163,34±0,58aAB	-	159,79±5,88aAB	149,86±3,70aD	-	154,59±4,71aBD	137,07±2,63aE	-
	200°C	165,85±7,90aA	162,59±2,21aAB	164,44±5,88aAB	166,73±1,77abA	-	157,12±4,61aAB	143,00±3,50aCD	-	150,53±5,76aBD	130,95±6,21aC	-
kampestanol	nieogrzewane	3,91±0,51aAB	4,76±0,22aA	4,94±0,38aA	5,46±0,45aA	5,23±1,18A	4,4±0,23aAB	4,52±0,38aAB	5,57±0,38A	4,04±0,42aAB	3,89±0,81aAB	2,25±0,84B
	170°C	3,15±2,74aA	4,66±0,15aA	5,22±0,35aA	5,26±0,42aA	-	4,25±0,47aA	4,74±0,63aA	-	4,32±0,30aA	3,94±0,57aA	-
	200°C	4,14±0,25aA	4,64±0,26aA	4,93±0,52aA	4,81±0,67aA	-	4,03±0,25aA	5,09±1,26aA	-	4,39±0,66aA	4,12±0,82aA	-
stigmasterol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	3,32±0,26aA	7,94±0,39aB	25,93±0,11C	n/w	n/w	n/w
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	2,68±0,25aA	8,17±0,24aB	-	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	2,91±0,38aA	7,82±0,73aB	-	n/w	n/w	-
β-sitosterol	nieogrzewane	238,88±4,79aA	244,02±6,99aA	248,84±1,40abA	244,34±8,01aA	251,13±5,35A	241,38±7,61aA	234,15±8,67aA	129,2±0,31B	233,32±4,07aA	232,69±0,99aA	200,67±1,67C
	170°C	235,31±6,94aAB	237,38±3,02abBC	248,80±4,67bC	235,43±1,42aAB	-	231,78±6,21aAB	233,85±6,47aAB	-	224,89±3,36aA	232,01±3,16aAB	-
	200°C	238,5±11,65aA	232,98±2,17bA	233,29±7,11aA	238,90±4,15aA	-	228,36±7,29aA	222,44±3,44aA	-	221,29±7,52aA	220,92±7,23aA	-
Δ⁵-awenasterol	nieogrzewane	4,98±0,07aA	5,17±0,76aA	6,20±0,48aA	6,40±0,46aAB	10,55±3,20B	5,28±0,81aA	6,92±0,26aAB	6,10±0,25A	5,14±0,05aA	8,96±0,48aAB	22,40±0,02C
	170°C	5,60±0,08aAB	5,30±0,24aA	6,09±0,44aAB	5,87±0,43aAB	-	5,91±0,82aAB	6,47±0,58aB	-	6,00±0,31bAB	9,25±0,33aC	-
	200°C	5,54±0,41aA	5,50±0,31aA	5,33±0,21aA	5,70±0,69aA	-	5,54±0,67aA	5,99±0,26aA	-	5,48±0,24abA	8,71±0,31aB	-
Δ⁷-stigmasterol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	3,99±0,26aB	5,71±0,65aC	30,73±0,25C	n/w	n/w	2,76±0,02A
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	3,00±0,95abB	6,06±0,43aC	-	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	2,10±0,26bB	6,75±1,55aC	-	n/w	n/w	-

		RAF	rTBHQ	RZEP5%	RZEP25%	RZEP100%	KOL5%	KOL25%	KOL100%	MOR5%	MOR25%	MOR100%	
Δ⁷-awenasterol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	5,69±0,08aB	15,73±1,25C	n/w	n/w	3,63±0,77A	
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	5,70±0,57a	-	n/w	n/w	-	
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	5,01±0,37a	-	n/w	n/w	-	
citrostadienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	4,24±0,09aA	15,25±0,01B	n/w	n/w	n/w	
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	4,33±0,73a	-	n/w	n/w	-	
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	4,17±0,52a	-	n/w	n/w	-	
suma fitosteroli	nieogrzewane	485,68±11,61aAB	487,13±13,54bAB	498,05±1,28bA	490,06±10,56bAB	500,97±5,66A	484,11±12,5aAB	468,77±14,72aAB	471,27±13,5aAB	255,20±1,4D	458,74±9,98aBC	425,65±1,97aC	245,97±1,39D
	170°C	470,6±13,27aAB	475,85±5,40bAB	495,31±5,67bB	470,48±1,34aAB	-	468,77±14,72aAB	471,27±13,5aAB	-	454,01±10,15aAC	430,14±7,08aC	-	
	200°C	472,01±20,96aA	460,15±5,21aA	465,88±13,31aA	475,20±3,23abA	-	461,11±10,56aA	452,13±17,68aAB	-	440,57±17,49aAB	414,53±18,57aB	-	

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; RZEP5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP100% - zimnotłoczony olej rzepakowy; KOL5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; KOL25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z nasion kolendry; KOL100% - zimnotłoczony olej z nasion kolendry; MOR5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli; MOR25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z pestek moreli; MOR100% - zimnotłoczony olej z pestek moreli; n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszanek nieogrzanych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego fitosterolu, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami

12.1.4. Wpływ ogrzewania na zawartość związków polarnych (TPC)

Wyniki analizy zawartości związków polarnych (TPC) w mieszankach z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi zaprezentowano na Rys. 18. W próbach nieogrzewanych mieszanek i próbach kontrolnych zawartość TPC wynosiła od 2,04 do 4,65% i nie stwierdzono między nimi istotnych statystycznie różnic. Zawartość TPC w próbach olejów wyjściowych wynosiła od 4,10–6,07% i również nie stwierdzono między nimi istotnych statystycznie różnic. Zawartość TPC w żadnej z mieszanek ogrzanych w 170°C nie przekroczyła 5% z wyjątkiem próby MOR25%. Natomiast w mieszankach ogrzanych w 200°C zawartość TPC nie przekroczyła 11% z wyjątkiem próby MOR5%. Najwyższą zawartością TPC zarówno wśród próby ogrzanych w 170°C jak i w 200°C odznaczały się próby oleju rafinowanego bez dodatków (RAF) (odpowiednio 7,78 i 12,34%). W próbach RAF stwierdzono również najwyższy przyrost zawartości TPC pod wpływem ogrzewania w obu temperaturach (odpowiednio o 5,47 i 10,03%). Próby rTBHQ charakteryzowały się drugim w kolejności najwyższym przyrostem zawartości TPC w tych samych warunkach (odpowiednio o 2,98 i 9,20%). Z kolei próba MOR5% odznaczała się najniższą zawartością TPC (3,11%) oraz najmniejszym przyrostem tego parametru (o 0,17%) w temperaturze 170°C. Wśród prób ogrzanych w 200°C najniższy poziom TPC odnotowano w próbce RZEP5% (8,45%), natomiast najniższy jej przyrost w próbce MOR25% (o 5,71%). Stwierdzono, że próby RAF nieogrzewana oraz ogrzana w 170 i 200°C różniły się między sobą istotnie statystycznie. Występowanie istotnych statystycznie różnic stwierdzono także między próbkami rTBHQ. W pozostałych grupach nie wykazano istotnych statystycznie różnic między nieogrzwanymi i ogrzwanymi w 170°C mieszankami tego samego rodzaju. Mieszanki ogrzane w 200°C różniły się istotnie statystycznie od nieogrzanych i ogrzanych w 170°C mieszanek tego samego rodzaju.

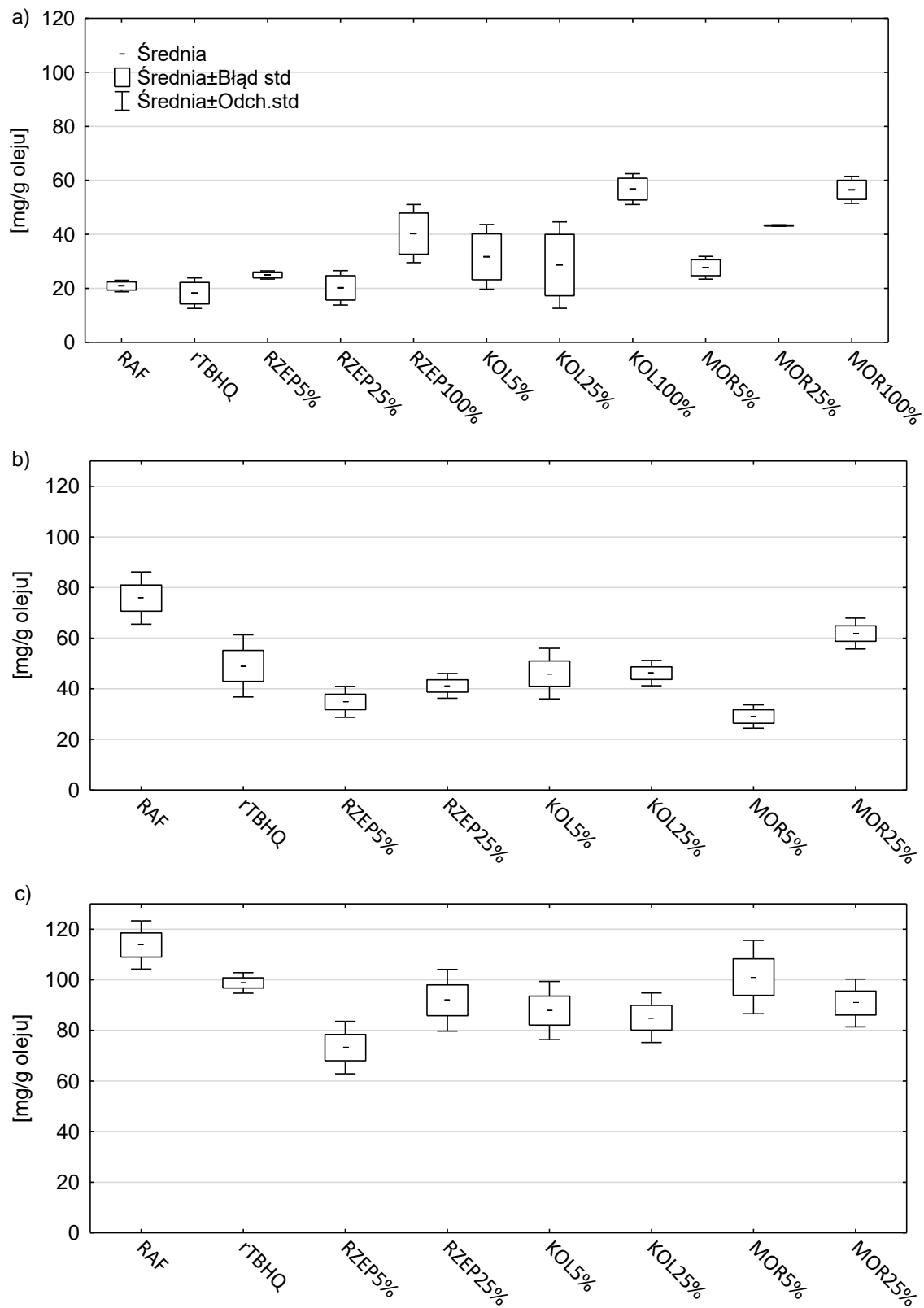


Rys. 18. Zawartość związków polarnych (TCP); a) w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogranych mieszankach b) w mieszankach ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach ogrzanych w 200°C

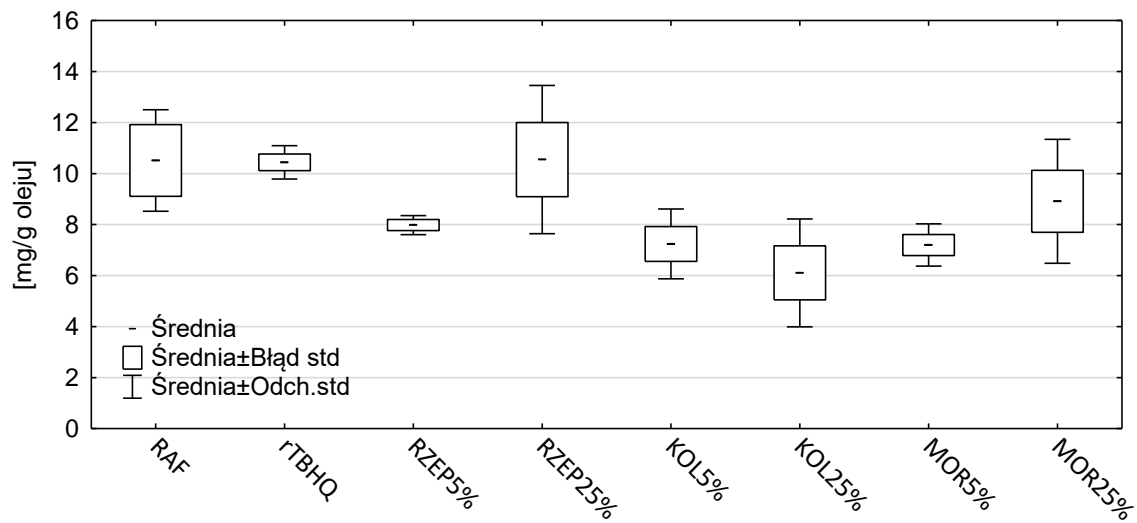
12.1.5. Wpływ ogrzewania na zawartość utlenionych monomerów (oxTAG) oraz dimerów triacylogliceroli

Wyniki analizy zawartości oxTAG w mieszankach z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi zaprezentowano na Rys. 19. Zawartość oxTAG w próbach nieogrzewanych wynosiła od 18,20 do 43,28 mg/g oleju, natomiast w olejach wyjściowych od 40,29 do 56,76 mg/g oleju. Spośród prób ogrzanych w 170°C najwyższą zawartość oxTAG odnotowano w próbach RAF (75,84 mg/g oleju) i MOR25% (61,84 mg/g oleju). Próba RAF różniła się istotnie statycznie od pozostałych, z wyjątkiem próby MOR25%. Natomiast najniższą zawartość oxTAG stwierdzono w próbach MOR5% (29,04 mg/g oleju) i RZEP5% (34,80 mg/g oleju). Pozostałe próby charakteryzowały się zbliżoną zawartością oxTAG w przedziale od 41,14 do 49,06 mg/g oleju. Natomiast w próbach ogrzanych w 200°C najwyższą zawartością oxTAG charakteryzowała się próba RAF (113,77 mg/g oleju) i różniła się ona istotnie statystycznie od próby RZEP5% z najniższą zawartością oxTAG (73,20 mg/g oleju) oraz dwóch innych prób KOL5% i KOL25%.

Wyniki analizy dimerów w mieszankach z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi zaprezentowano na Rys. 20. Występowanie dimerów stwierdzono jedynie w próbach ogrzanych w temperaturze 200°C. Ich zawartość powyżej 10 mg/g oleju obserwowano w próbach RAF, rTBHQ oraz RZEP25%. Wynosiły one odpowiednio 10,51; 10,44; 10,55 mg/g oleju. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między tymi trzema próbami a pozostałymi, z wyjątkiem próby KOL25% o najniższej zawartości dimerów na poziomie 6,11 mg/g oleju. Stanowiło to poniżej 59% zawartości tych związków w próbie RAF. W czterech pozostałych próbach zawartość dimerów mieściła się w zakresie od 7,20-8,91 mg/g oleju.



Rys. 19. Zawartość monomerów utlenionych TAG (oxTAG) a) w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogranych mieszankach; b) w mieszankach ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach ogrzanych w 200°C



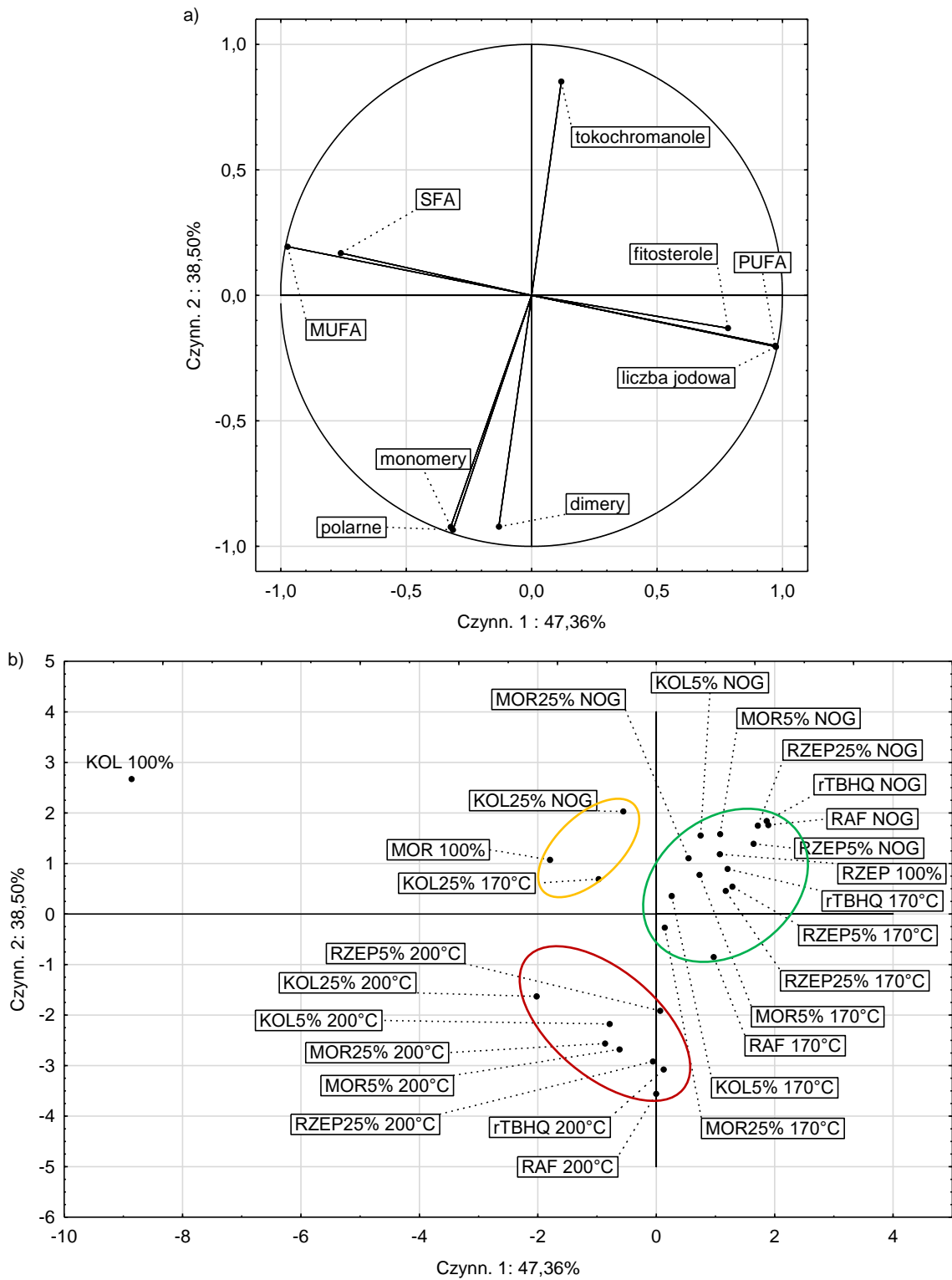
Rys. 20. Zawartość dimerów TAG w mieszankach z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi ogrzanych w 200°C

12.1.6. Analiza głównych składowych (PCA)

Analiza głównych składowych pokazała, że pierwsza i druga składowa objaśniają łącznie 85,86% wariacji wyników w I etapie badań (Rys. 21). Na podstawie projekcji parametrów na płaszczyznę stwierdzono, że pierwsza z głównych składowych charakteryzuje zmienność związaną z profilem kwasów tłuszczowych, ponieważ była ujemnie skorelowana z zawartością MUFA (-0,973) i SFA (-0,761) oraz dodatnio skorelowana z zawartością PUFA (0,971) i wartością liczby jodowej (0,973). Natomiast druga składowa była związana ze stopniem degradacji mieszanek olejów, ponieważ była ujemnie skorelowana z zawartością związków polarnych (-0,935), oxTAG (-0,923) oraz dimerów (-0,922) i dodatnio skorelowana z zawartością tokochochromanoli (0,852).

Projekcja prób na płaszczyznę uwidoczniła, że próby rozłożyły się wzdłuż osi y (przypisanej do drugiej składowej) zaczynając od prób nieogranych, następnie umiejscowiły się próby ogrzane w 170°C, i po drugiej stronie osi y znalazły się próby ogrzane w 200°C. Z kolei wzdłuż osi x (przypisanej do pierwszej składowej) próby rozłożyły się zaczynając od prób o najwyższej zawartości PUFA i wartości liczby jodowej (nieograne próby RAF i rTBHQ). Następnie w środkowej części osi x znalazły się próby o pośrednim składzie (KOL25% nieograna, KOL25% ogrzana w 170°C oraz MOR100%). Po drugiej stronie osi x, w dużym oddaleniu od pozostałych, umiejscowiła się próba KOL100%, co wynikało z bardzo wysokiej zawartości MUFA.

W projekcji prób na płaszczyznę wyróżniono trzy odrębne klastry. Pierwszy z nich grupuje większość prób nieogranych i ogrzanych w 170°C (kolor zielony). W drugim klastrze znalazły się próby MOR100%, KOL25% nieograna oraz KOL25% ogrzana w 170°C (kolor żółty). Trzeci klaster (kolor czerwony) obejmował próby ogrzane w 200°C. Należy zauważyć, że próby ogrzane w 200°C znajdowały się w dużym oddaleniu od pozostałych. Wskazuje to na znacznie większe zróżnicowanie między próbkami nieogrzanyymi i ogzanyymi w 200°C, niż między próbkami nieogrzanyymi i ogzanyymi w 170°C.



Rys. 21. Analiza głównych składowych w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogranych i ogrzewanych mieszankach a) rzut parametrów na płaszczyznę b) rzut prób na płaszczyznę (NOG – próby nieogrzewane, SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe)

12.2. Wyniki II etapu badań – mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z olejami pozyskanymi metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym (SFE)

12.2.1. Profil kwasów tłuszczowych i liczba jodowa

W nieogrzewanych mieszankach, próbach kontrolnych oraz próbie oleju z łubinu SFE (ŁSFE100%) dominujący udział miał kwas oleinowy (59,03-67,12%), a następnie kwas linolowy (15,60 -25,92%) (Tabela 8). W próbie oleju z czarnuszki SFE (CSFE100%) porządek ten miał odwrotną kolejność - przeważał kwas linolowy (57,69%), a po nim kwas oleinowy (24,84%). Trzecim kwasem pod względem udziału we wszystkich próbach był kwas linolenowy (6,67-13,39%), z wyjątkiem próby CSFE100%, w której pozycje tą zajmował kwas palmitynowy (11,45%). Udział kwasu stearynowego mieścił się w granicach od 1,55% (dla rTBHQ) do 2,84% (dla CSFE100%). Zidentyfikowano także inne kwasy i należały do nich kwas mistyrynowy, oleopalmitynowy, eikozadienowy oraz behenowy. Ich łączny udział w nieogrzewanych mieszankach oraz próbach kontrolnych nie przekroczył 1,10%, natomiast w próbach ŁSFE100% i CSFE100% wynosił odpowiednio 3,26 i 2,67%. W przypadku próby ŁSFE100% wynikało to z zawartości kwasu behenowego, a w przypadku próby CSFE100% z zawartości kwasu eikozadienowego. We wszystkich próbach przeważały kwasy MUFA (59,18-67,28%), z wyjątkiem próby CSFE100%, w której główny udział miały kwasy PUFA (60,59%) (Tabela 9). Najwyższym udziałem SFA odznaczała się próba CSFE100% (14,43%). Poziom nienasylenia określany obliczoną wartością liczby jodowej dla nieogrzewanych mieszanek, prób kontrolnych oraz olejów wyjściowych mieścił się w zakresie od 110,86 do 113,82 i układał się w następującym porządku ŁSFE5% < CSFE5% < rTBHQ < RAF < ŁSFE25% < ŁSFE100% < CSFE100%. Pod względem wartości liczby jodowej nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między nieogrzewanymi próbami RAF, rTBHQ, ŁSFE25% oraz CSFE5%. Pozostałe próby ŁSFE5%, ŁSFE100%, CSFE25% oraz CSFE25% różniły się między sobą istotnie statycznie.

Ogrzewanie w 170 i 200°C spowodowało obniżenie udziału PUFA oraz zwiększenie udziału MUFA i SFA. W próbach ogrzanych w 170°C najmniejszy spadek udziału PUFA zaobserwowano w próbie ŁSFE5%. Próby rTBHQ, CSFE5% i ŁSFE25% odznaczały się mniejszym spadkiem PUFA w porównaniu do próby RAF. Wśród prób ogrzanych w 200°C największą stabilnością PUFA odznaczały się próby ŁSFE5% i ŁSFE25%. Największy wzrost udziału SFA i MUFA w pod wpływem ogrzewania w 170°C stwierdzono odpowiednio w próbach RAF i CSFE25%, a pod wpływem ogrzewania w 200°C odpowiednio w próbach rTBHQ i CSFE5%. Zanotowano także spadek wartości liczby jodowej, który w próbach ogrzanych w 170°C wynosił od 0,13 (dla ŁSFE5%) do 1,07 (dla CSFE25%), a w próbach ogrzanych w 200°C od 0,75 (dla ŁSFE25%) do 2,45 (dla RAF). Wszystkie próby ogrzane w 200°C różniły się statystycznie istotnie w porównaniu do próby nieogrzewanej pod względem wartości liczby jodowej. Wśród prób ogrzanych w 170°C takie różnice stwierdzono jedynie w próbach RAF, ŁSFE25% i CSFE25%.

Tabela 8. Profil kwasów tłuszczowych [%] w olejach SFE oraz ich nieogranych i ogranych mieszankach

		RAF	rTBHQ	łSFE5%	łSFE25%	łSFE100%	CSFE5%	CSFE25%	CSFE100%
C16:0	nieogrzewane	4,29±0,02aA	4,28±0,00aA	4,43±0,01abC	4,68±0,02aB	6,07±0,04E	4,59±0,05abB	5,62±0,02aD	11,45±0,02F
	170°C	4,36±0,01bA	4,29±0,05aA	4,40±0,02aA	4,66±0,02aB	-	4,61±0,06aB	5,69±0,13aC	-
	200°C	4,48±0,01cA	4,51±0,01bA	4,48±0,03bA	4,68±0,01aA	-	4,71±0,02bA	5,84±0,07aB	-
C18:0	nieogrzewane	1,56±0,02aB	1,55±0,03aB	1,66±0,01aA	1,67±0,01aA	1,92±0,01C	1,68±0,03aA	1,86±0,01aC	2,84±0,04D
	170°C	1,63±0,01bAB	1,60±0,02bA	1,63±0,03aAB	1,66±0,01aBC	-	1,69±0,02aC	1,88±0,03aD	-
	200°C	1,68±0,01cA	1,70±0,01cA	1,67±0,01aA	1,67±0,00aA	-	1,72±0,03aA	1,94±0,02bB	-
C18:1	nieogrzewane	67,02±0,01aA	67,12±0,05aA	66,84±0,05aA	65,60±0,02aB	59,84±0,08E	65,60±0,23aB	59,03±0,11aD	24,84±0,17C
	170°C	67,44±0,02bA	67,17±0,04aA	67,07±0,03aA	65,86±0,05bB	-	65,81±0,10abB	59,84±0,49abC	-
	200°C	68,41±0,02cA	68,17±0,04bA	67,66±0,04aA	66,09±0,07cA	-	67,04±0,05bA	60,17±0,09bB	-
C18:2	nieogrzewane	18,42±0,04aA	18,46±0,01aA	18,15±0,02aD	17,77±0,01aC	15,60±0,04B	19,74±0,05aE	25,92±0,05aF	57,69±0,15G
	170°C	18,15±0,01bA	18,38±0,03bA	18,12±0,04aA	17,71±0,03aB	-	19,6±0,10aC	25,28±0,30bD	-
	200°C	17,57±0,02cA	17,62±0,02cA	17,77±0,02bA	17,59±0,06bA	-	18,82±0,06bA	24,94±0,04bB	-
C18:3	nieogrzewane	8,25±0,00aA	8,18±0,02aA	8,32±0,02aA	9,21±0,01aE	13,39±0,13F	7,83±0,08aD	6,67±0,01aC	0,51±0,03B
	170°C	7,98±0,02bC	8,13±0,02aD	8,22±0,03bE	9,04±0,04bF	-	7,74±0,04aB	6,41±0,03bA	-
	200°C	7,42±0,01cAB	7,55±0,01bAB	7,87±0,03cB	8,89±0,04cD	-	7,11±0,02bA	6,19±0,02cC	-
inne	nieogrzewane	0,45±0,01aA	0,41±0,01aA	0,59±0,01aB	1,07±0,01aD	3,26±0,01F	0,58±0,03aB	0,90±0,02aC	2,67±0,03E
	170°C	0,44±0,01aA	0,42±0,02aA	0,56±0,01aB	1,07±0,02aD	-	0,58±0,03aB	0,89±0,05aC	-
	200°C	0,44±0,01aA	0,48±0,01bA	0,56±0,01aA	1,08±0,02aC	-	0,56±0,01aA	0,92±0,02aB	-

RAF – rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ – rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; łSFE5% – mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; łSFE25% – mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; łSFE100% – olej z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE100% – olej nasion czarnuszki SFE; inne - C14:0, C16:1, C20:2, C22:0. Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogranych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami. Średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami.

Tabela 9. Udziały nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [%] oraz wartości obliczonej liczby jodowej w olejach SFE oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach

		RAF	rTBHQ	ŁSFE5%	ŁSFE25%	ŁSFE100%	CSFE5%	CSFE25%	CSFE100%
SFA	nieogrzewane	6,14±0,05aA	6,08±0,04aA	6,51±0,02abB	7,21±0,02aB	10,91±0,01C	6,54±0,09aD	7,75±0,04aE	14,43±0,02F
	170°C	6,26±0,02bAB	6,16±0,07aA	6,42±0,05aBC	7,20±0,03aD	-	6,58±0,11aC	7,84±0,17aE	-
	200°C	6,43±0,01cA	6,51±0,02bA	6,53±0,03bA	7,24±0,02aBC	-	6,72±0,04aAB	8,06±0,08aC	-
MUFA	nieogrzewane	67,19±0,01aA	67,28±0,05aA	67,02±0,06aA	65,80±0,02aB	60,18±0,08E	65,77±0,22aB	59,18±0,11aD	24,98±0,16C
	170°C	67,61±0,02bA	67,33±0,03aA	67,24±0,03bA	66,05±0,04bB	-	65,98±0,09aB	60,01±0,46abC	-
	200°C	68,58±0,02cA	68,36±0,03bA	67,84±0,04cA	66,28±0,07cA	-	67,20±0,05bA	60,34±0,08bB	-
PUFA	nieogrzewane	26,67±0,04aAB	26,63±0,00aA	26,47±0,04aA	26,98±0,00aB	28,98±0,09D	27,69±0,13aC	33,07±0,07aE	60,59±0,14F
	170°C	26,13±0,03bA	26,52±0,05bBC	26,34±0,07aAB	26,75±0,04bC	-	27,47±0,14aD	32,15±0,3bE	-
	200°C	24,99±0,02cA	25,17±0,02cA	25,63±0,05bA	26,48±0,07cA	-	26,04±0,08bA	31,60±0,04cB	-
liczba jodowa	nieogrzewane	111,28±0,07aA	111,24±0,02aA	110,86±0,03aB	111,48±0,00aA	113,82±0,20D	111,23±0,10aA	113,26±0,02aC	122,75±0,04E
	170°C	110,47±0,05bA	111,03±0,13aBC	110,73±0,12aAB	111,14±0,07bC	-	110,96±0,26aBC	112,19±0,11bD	-
	200°C	108,83±0,03cA	109,07±0,04bA	109,71±0,08bAB	110,73±0,09cBC	-	109±0,15bA	111,31±0,10cC	-

RAF – rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ – rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; ŁSFE5% – mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE25% – mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE100% – olej z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE100% – olej nasion czarnuszki SFE; SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Wartości dla prób mieszanek nieogrzanych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami. Średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami.

12.2.2. Zawartość tokochromanoli oraz ich stabilność podczas ogrzewania

Zawartość tokochromanoli w olejach wyjściowych, uzyskanych w wyniku procesu ekstrakcji CO₂ w warunkach nadkrytycznych wynosiła 28,97 mg/100g w oleju z nasion czarnuszki (CSFE100%) oraz 189,49 mg/100g w oleju nasion łubinu (ŁSFE100%) (Tabela 10). Natomiast w nieogrzewanych mieszankach i próbach kontrolnych zawartość tokochromanoli wynosiła od 59,42 do 133,11 mg/100g oleju. α - i γ - tokoferol były dominującymi homologami w próbach RAF (odpowiednio 42,33 i 42,31 mg/100g oleju); rTBHQ (42,10 i 41,52 mg/100g oleju); CSFE5% (26,17 i 31,73 mg/100g oleju) oraz CSFE25% (22,22 i 24,42 mg/100g oleju). Z kolei γ -tokoferol przeważał w próbach ŁSFE5%, ŁSFE25% oraz ŁSFE100% (odpowiednio 56,00; 86,37 oraz 178,67 mg/100g oleju). Próby ŁSFE25% i ŁSFE100% zawierały odpowiednio ponad dwa i cztery razy więcej γ -tokoferolu w porównaniu do prób RAF. Ponadto stwierdzono występowanie β -tokotrienolu w próbach CSFE5%, CSFE25% i CSFE100% oraz α -tokotrienolu, γ -tokotrienolu i δ -tokotrienolu w próbach CSFE25% i CSFE100%.

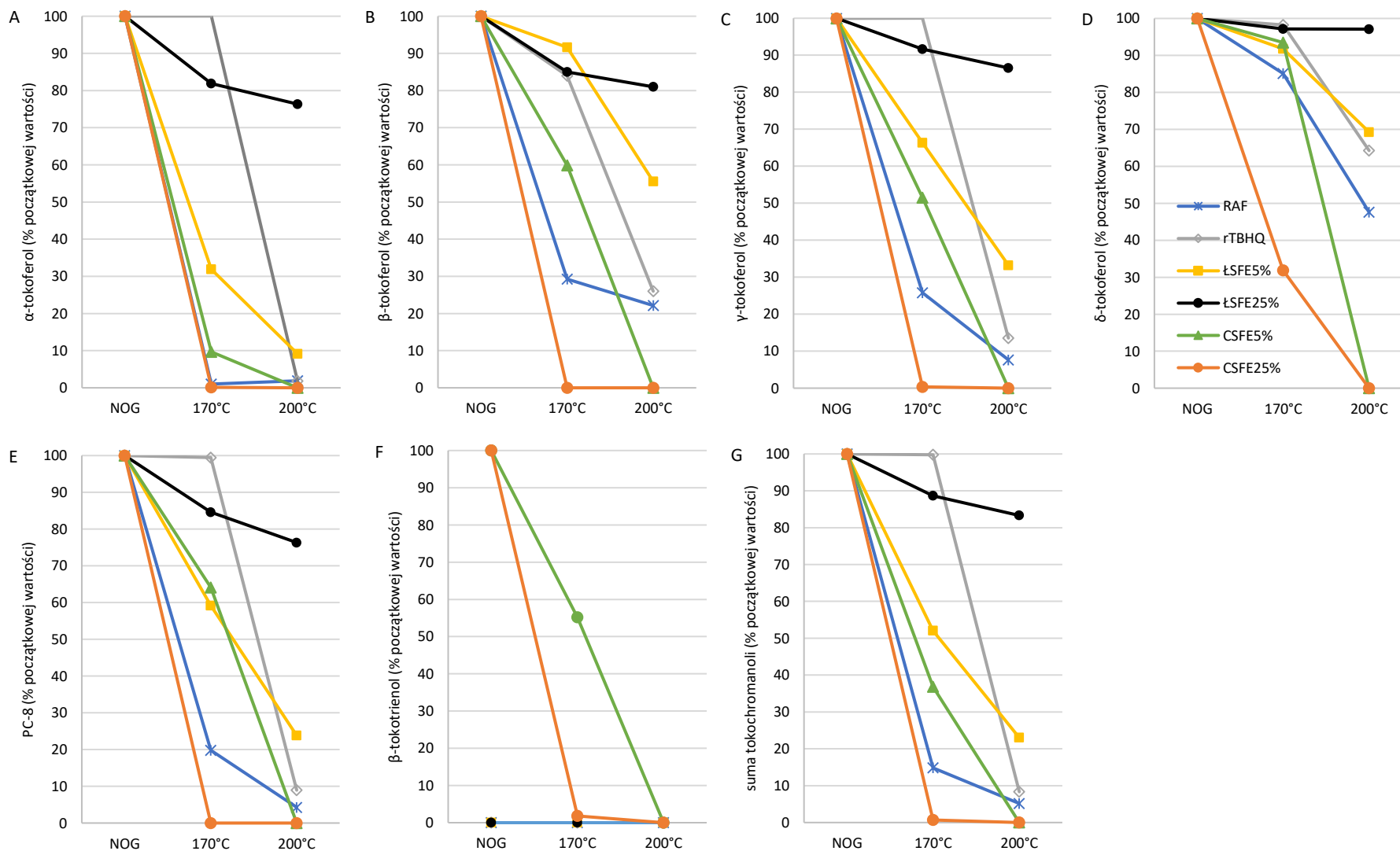
Stabilność tokochromanoli oraz poszczególnych homologów podczas ogrzewania zaprezentowano na Rys. 22. Wśród prób ogrzanych w 170°C najwyższą stabilnością tokochromanoli odznaczała się próba rTBHQ (99,80% początkowej zawartości). W próbach ŁSFE25%; ŁSFE5%; CSFE5% i RAF końcowa zawartość tokochromanoli wynosiła odpowiednio 88,65; 52,01; 36,80 i 14,80% początkowej zawartości. W próbie CSFE25% stwierdzono prawie całkowitą degradację tokochromanoli (pozostało 0,71% ich początkowej zawartości). Najbardziej stabilnym homologiem w próbie RAF i w mieszankach ogrzanych w 170°C okazał się δ -tokoferol. Jego zawartość po ogrzewaniu wyniosła od 31,88 (CSFE5%) do 97,16% początkowej zawartości (ŁSFE25%). Najmniej stabilnym homologiem w tych próbach był α -tokoferol, którego pozostałość po ogrzewaniu wyniosła od 1,01% początkowej zawartości (RAF) do 81,91% początkowej zawartości (ŁSFE25%), z wyjątkiem próby CSFE25%, w której poziom β -tokoferolu i PC-8 spadł poniżej poziomu wykrywalności.

Wśród prób ogrzanych w 200°C tokochromanole były najbardziej stabilne w próbie ŁSFE25% (83,13% początkowej zawartości). W pozostałych próbach tokochromanole charakteryzowały się mniejszą stabilnością. W próbach ŁSFE5%, rTBHQ i RAF końcowa zawartość tokochromanoli stanowiła odpowiednio 23,02; 8,35 i 5,16% ich początkowej zawartości. Jedynie w próbach CSFE5% i CSFE25% zawartość tokochromanoli spadła poniżej poziomu wykrywalności. W próbach RAF, rTBHQ, ŁSFE5% i ŁSFE25% ogrzanych w 200°C najbardziej stabilnym homologiem był δ -tokoferol. Jego pozostałość po ogrzewaniu wynosiła od 47,61% początkowej zawartości (RAF) do 97,10% początkowej zawartości (ŁSFE25%). Podobnie jak w czasie ogrzewania w niższej temperaturze najmniejszą stabilnością charakteryzował się α -tokoferol, którego pozostałość po ogrzewaniu wyniosła od 1,77% początkowej zawartości dla rTBHQ do 76,35% początkowej zawartości ŁSFE25%.

Tabela 10. Zawartość tokochromanoli oraz poszczególnych homologów [mg/100g oleju] w olejach SFE oraz ich nieogranych i ogranych mieszankach

	RAF	rTBHQ	ŁSFE5%	ŁSFE25%	ŁSFE100%	CSFE5%	CSFE25%	CSFE100%
α-tokoferol	42,33±1,24A	42,10±0,25A	46,30±0,03G	35,99±1,94F	2,50±0,01B	26,17±0,18E	22,22±1,59D	9,64±0,01C
β-tokoferol	0,18±0,03AB	0,19±0,02A	0,14±0,01AB	0,13±0,01AB	n/w	0,18±0,04A	0,10±0,01B	n/w
γ-tokoferol	42,31±0,39A	41,52±0,42A	56,00±0,62E	86,37±3,98F	178,67±1,92G	31,73±0,43D	24,42±0,46C	1,00±0,11B
δ-tokoferol	0,94±0,01A	0,94±0,00A	1,25±0,03D	2,16±0,10E	5,14±0,09F	0,85±0,00AB	0,72±0,00B	0,22±0,05C
PC-8	9,76±0,33A	9,27±0,06A	10,39±0,02F	8,47±0,19E	3,19±0,01B	6,40±0,03C	7,20±0,07D	n/w
α-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,19±0,00B	0,87±0,00A
β-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,90±0,04A	4,21±0,04B	16,68±0,04C
γ-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,29±0,03B	0,46±0,02A
δ-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,08±0,01A	0,10±0,04A
suma tokochromanoli	95,51±1,35C	94,02±0,71A	114,07±0,56A	133,11±6,19B	189,49±2,00B	66,23±0,51D	59,42±2,13E	28,97±0,12F

RAF – rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ – rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; ŁSFE5% – mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE25% – mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE100% – olej z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE100% – olej nasion czarnuszki SFE; PC-8 – plastochromanol-8; n/w – nie wykryto; wartości są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami



Rys. 22. Wykresy stabilności tokochromanoli w nieogranych i ogranych mieszkach z olejami SFE; RAF – rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ – rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; ŁSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion czarnuszki SFE

12.2.3. Zawartość fitosteroli oraz ich stabilność podczas ogrzewania

W nieogrzanych mieszankach oraz próbach kontrolnych zawartość fitosteroli mieściła się w zakresie od 320,10 do 849,09 mg/100g oleju (

Tabela 11). Zawartość fitosteroli w próbie ŁSFE100% wynosiła 1917,86 mg/100g oleju (ponad cztery razy więcej niż w próbie RAF), a w próbie CSFE100% 219,41 mg/100g oleju (ponad dwa razy mniej niż w próbie RAF). W próbach w II etapie badań zidentyfikowano jedenaście fitosteroli, przy czym dominującym fitosterolem we wszystkich mieszankach, próbach kontrolnych oraz próbie CSFE100% był β -sitosterol (41,25-50,23% całkowitej zawartości fitosteroli). W próbie ŁSFE100% przeważający udział miał lupeol (43,64% całkowitej zawartości fitosteroli), który wykryto również w próbach ŁSFE5% i ŁSFE25% (odpowiednio 7,28 i 24,92% całkowitej zawartości fitosteroli). Kampesterol był drugim fitosterolem pod względem zawartości w próbach kontrolnych, w oleju z czarnuszki SFE, jego mieszankach i w próbie ŁSFE5% oraz trzecim fitosterolem w próbie ŁSFE25% (po lupeolu) i ŁSFE100% (po β -sitosterolu). Brassicasterol wykryto we wszystkich próbach poza próbami ŁSFE100% i CSFE100%. W wszystkich próbach wykryto Δ^5 -awenasterol i kampestanol. Stigmasterol wykryto we wszystkich próbach z wyjątkiem prób kontrolnych, Δ^7 -awenasterol w olejach wyjściowych oraz w mieszankach z olejem z czarnuszki, sitostanol i cykloartenol w oleju z czarnuszki SFE i jego mieszankach a citrostadienol jedynie w olejach wyjściowych. W próbie ŁSFE100% stwierdzono najwyższą zawartość wszystkich ośmiu wykrytych w niej fitosteroli. Zawartość β -sitosterolu i Δ^5 -awenasterolu w próbie ŁSFE100% była odpowiednio prawie 3 i ponad 5 razy wyższa niż w próbie RAF. Wśród mieszanek i prób kontrolnych próba ŁSFE25% odznaczała się najwyższą zawartością dziesięciu z jedenastu wykrytych w niej fitosteroli.

Zawartość fitosteroli w próbach ogrzanych w 170 i w 200°C wynosiła odpowiednio od 305,90 do 847,47 mg/100g oleju i od 278,86 do 840,02 mg/100g oleju. Ogrzewanie w 170°C spowodowało istotny statycznie spadek tylko w przypadku brassicaterolu w próbach RAF oraz CSFE5%. Istotny statycznie spadek całkowitej zawartości fitosteroli stwierdzono jedynie w próbie CSFE25% ogrzanej w 200°C (pozostałość stanowiła 86,87% początkowej zawartości). W próbie CSFE25% ogrzanej w 200°C zanotowano także istotny statycznie ubytek brassikasterolu, kampesterolu, kampestanolu, stigmasterolu, β -sitosterolu, sitostanolu i Δ^5 -awenasterolu. Podczas ogrzewania w 200°C wystąpiło również istotne statycznie obniżenie zawartości brassikasterolu w próbach RAF, rTBHQ i CSFE25% oraz lupeolu w próbie ŁSFE5%.

Tabela 11. Zawartość fitosteroli [mg/100 oleju] w olejach SFE oraz ich nieogranych i ogranych mieszankach

		RAF	rTBHQ	ŁSFE5%	ŁSFE25%	ŁSFE100%	CSFE5%	CSFE25%	CSFE100%
brassikasterol	nieogrzewane	58,42±1,67aAB	60,76±1,33aB	56,37±0,18aA	47,19±0,38aE	n/w	39,77±0,81aD	33,27±0,47aC	n/w
	170°C	58,52±0,63aAB	60,33±0,65aB	56,08±1,85aA	47,55±1,61aE	-	38,84±0,51aD	31,48±0,24bC	-
	200°C	54,23±0,55bAB	55,50±1,37bB	52,89±1,13aA	45,40±0,76aE	-	37,68±0,87aD	28,82±0,74cC	-
kampesterol	nieogrzewane	168,73±0,89aA	174,70±4,60aA	166,72±7,09aA	201,00±0,37aE	276,75±1,13F	121,39±0,96aD	107,83±1,86aC	18,9±1,3B
	170°C	159,03±7,93aA	161,24±5,00aA	166,11±4,54aA	202,02±2,62aC	-	119,65±1,26aB	103,98±1,66aB	-
	200°C	159,33±7,69aA	157,58±12,54aA	167,21±1,87aA	199,53±2,11aD	-	118,86±1,77aC	94,96±3,02bB	-
kampestanol	nieogrzewane	3,36±0,37aAB	3,97±0,09aBC	3,80±0,01aB	5,13±0,11aC	9,08±0,29D	2,38±0,13aA	3,14±0,17aAB	2,46±0,73A
	170°C	3,52±0,39aA	3,65±0,42abA	3,88±0,48aA	6,00±0,59aB	-	3,03±0,14bA	2,92±0,20aA	-
	200°C	3,22±0,26aAB	2,91±0,36bAB	3,58±0,22aB	5,25±0,58aC	-	2,68±0,14abA	2,44±0,26bA	-
stigmasterol	nieogrzewane	n/w	n/w	11,86±9,04aAB	23,49±0,83aBC	85,69±0,87	2,49±0,10aA	8,88±0,25aAB	29,25±1,18C
	170°C	n/w	n/w	5,59±0,15aB	23,08±0,11aD	-	1,48±1,32aA	8,49±0,13aC	-
	200°C	n/w	n/w	5,69±0,20aB	22,75±0,42aD	-	2,56±0,08aA	7,76±0,23bC	-
β-sitosterol	nieogrzewane	237,53±1,73aA	244,86±6,11aA	246,67±7,84aA	350,29±0,11aD	672,36±5,89E	143,62±1,85aB	141,61±1,65aB	73,57±4,43C
	170°C	223,89±10,1aB	225,91±6,53aBC	242,04±7,66aC	350,43±1,87aD	-	140,98±0,18aA	135,18±2,46aA	-
	200°C	223,88±10,39aB	219,11±13,55aB	244,91±7,04aC	348,17±3,36aD	-	141,14±3,49aA	123,94±4,04bA	-
sitostanol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	1,62±0,11aA	1,29±0,07aA	9,5±0,65B
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	1,55±0,13aB	1,29±0,10aA	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	2,05±0,02bB	1,04±0,04bA	-
Δ⁵-awenasterol	nieogrzewane	4,81±0,03aAB	5,14±0,23aA	5,32±0,37aA	10,41±0,47aC	27,66±0,82D	3,18±0,01aB	4,67±0,21aAB	10,58±0,66C
	170°C	4,22±0,44aA	4,22±0,36aA	6,69±2,56aA	10,19±0,22aB	-	3,29±0,15aA	4,50±0,22aA	-
	200°C	4,05±0,37aA	4,09±0,58aA	7,09±2,22aB	10,31±0,52aC	-	3,13±0,10aA	3,97±0,19bA	-
cykloartenol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	4,17±0,76aA	14,18±3,20aB	42,4±0,74C
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	3,93±0,40aA	12,18±0,42aB	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	4,44±0,51aA	10,77±0,92aB	-

		RAF	rTBHQ	ŁSFE5%	ŁSFE25%	ŁSFE100%	CSFE5%	CSFE25%	CSFE100%
Δ⁷-awenasterol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	3,75±0,29A	1,48±0,05aA	6,14±0,19aAB	32,74±13,07B
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	1,20±0,18aA	5,87±0,42aB	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	1,54±0,25aA	5,16±0,68aB	-
lupeol	nieogrzewane	n/w	n/w	38,54±0,24aA	211,58±5,29aB	837,03±2,82C	n/w	n/w	n/w
	170°C	n/w	n/w	39,95±0,01bA	208,21±1,26aB	-	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	39,81±0,34bA	208,6±4,32aB	-	n/w	n/w	-
citrostadienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	11,43±0,50B	n/w	n/w	4,26±0,38A
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	n/w	-
suma fitosteroli	nieogrzewane	472,85±3,94aB	489,43±11,90aB	529,28±5,85aD	849,09±5,65aE	1917,86±4,27F	320,10±3,15aA	320,99±0,87aA	219,41±3,39C
	170°C	449,18±18,95aB	455,35±11,99aB	520,34±12,54aC	847,47±5,73aD	-	313,96±1,34aA	305,90±5,04aA	-
	200°C	444,71±19,16aB	439,19±28,20aB	521,18±5,84aC	840,02±11,86aD	-	314,07±6,78aA	278,86±9,64aA	-

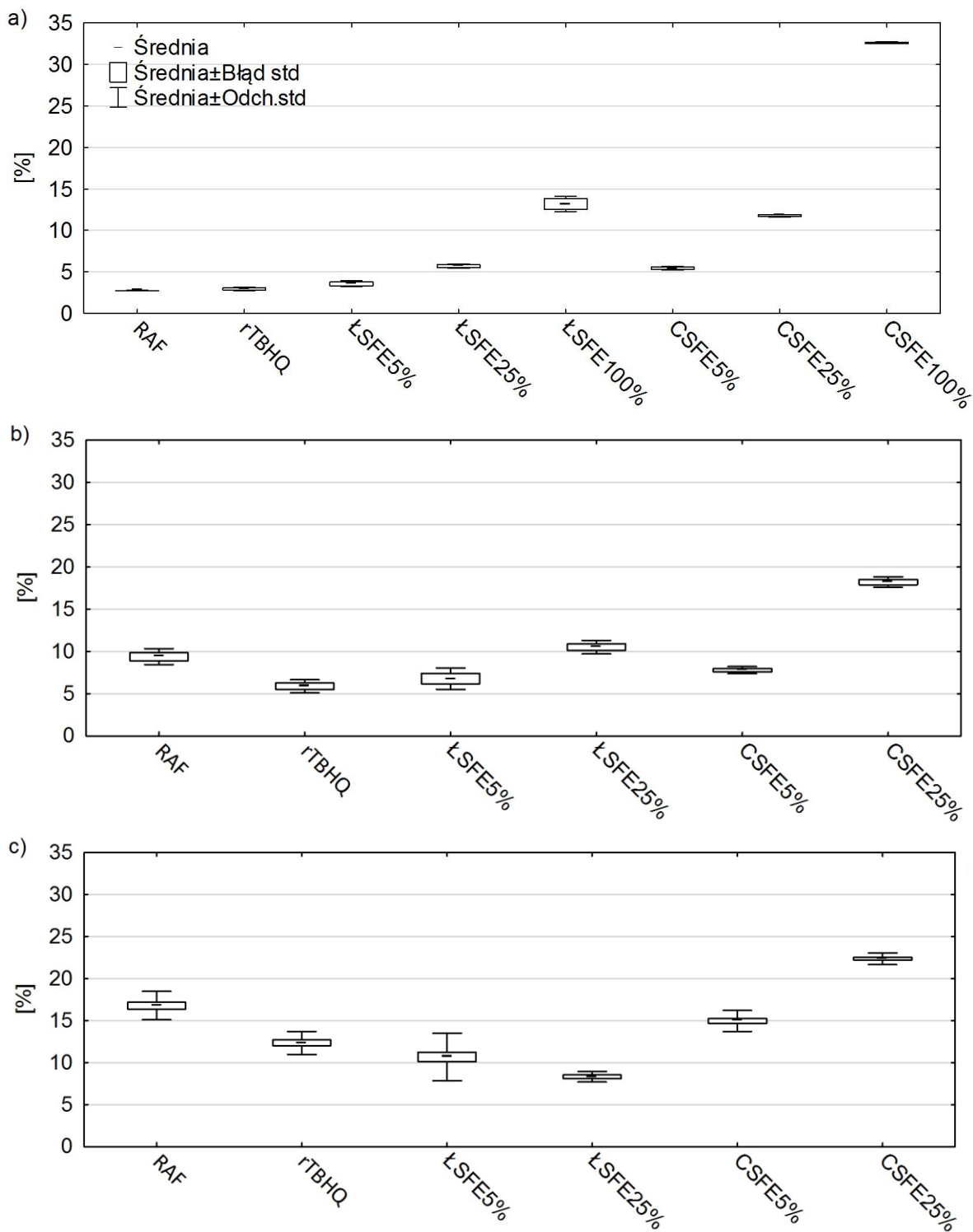
RAF – rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ – rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; ŁSFE5% – mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE25% – mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE100% – olej z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE100% – olej nasion czarnuszki SFE; n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszanek nieogrzanych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego fitosterolu, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami

12.2.4. Wpływ ogrzewania na zawartość związków polarnych

Wyniki analizy zawartości związków polarnych (TPC) w olejach wyjściowych oraz w ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach zaprezentowano na Rys. 23. Zawartość związków polarnych w próbach nieogrzewanych wahała się w zakresie od 2,75 (RAF) do 11,78% (CSFE25%) i zwiększała się w próbach z większym dodatkiem olejów wyjściowych. Nie stwierdzono istotnych różnic między próbkami RAF, rTBHQ oraz ŁSFE5%, a także między próbkami ŁSFE25% oraz CSFE5%.

W próbach ogrzanych w temperaturze 170 i 200°C zawartość TPC wynosiła odpowiednio od 5,88 do 18,18% oraz od 10,51 do 22,35%. Spośród wszystkich prób ogrzanych w 170°C najniższą zawartością TPC odznaczała się próba rTBHQ (5,88%), a wśród mieszanek ogrzanych w 170°C próba ŁSFE5% (6,78%). Zawartość TPC w próbce ŁSFE5% była o 0,9% wyższa niż w próbce rTBHQ oraz o 2,6% niższa niż w próbce RAF. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między próbkami rTBHQ, ŁSFE5% oraz CSFE5%. Wśród prób ogrzanych w 200°C najniższą zawartość TPC stwierdzono w próbce ŁSFE25%, która zawierała odpowiednio o 1,83 i 6,27% mniej TPC niż próby rTBHQ i RAF i różniła się pod tym względem istotnie statystycznie od pozostałych prób. Natomiast najwyższą zawartość TPC zarówno w 170°C jak i w 200°C charakteryzowała się próba CSFE25%, ona również różniła się statystycznie istotnie od innych prób.

Ogrzewania spowodowało istotny statystycznie wzrost zawartości TPC we wszystkich próbach ogrzanych zarówno w 170°C jak i w 200°C. Wśród prób ogrzanych w 170°C najmniejszym wzrostem zawartości TPC odznaczały się próby CSFE5% (o 2,33%), rTBHQ (2,93%) i ŁSFE25% (3,04%). Spośród prób ogrzanych w 200°C najmniejszy wzrost TPC obserwowano w próbach ŁSFE25% (4,81%), ŁSFE5% (7,85%) i rTBHQ (9,39%). Natomiast największym przyrostem zawartości TPC zarówno w 170°C jak i w 200°C odznaczała się próba RAF (odpowiednio o 6,64% i 14,04%).



Rys. 23. Zawartość związków polarnych a) w olejach SFE oraz ich nieogrzanych mieszankach; b) w mieszankach ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach ogrzane w 200°C

12.2.5. Wpływ ogrzewania na zawartość utlenionych monomerów (oxTAG) oraz dimerów triacylogliceroli

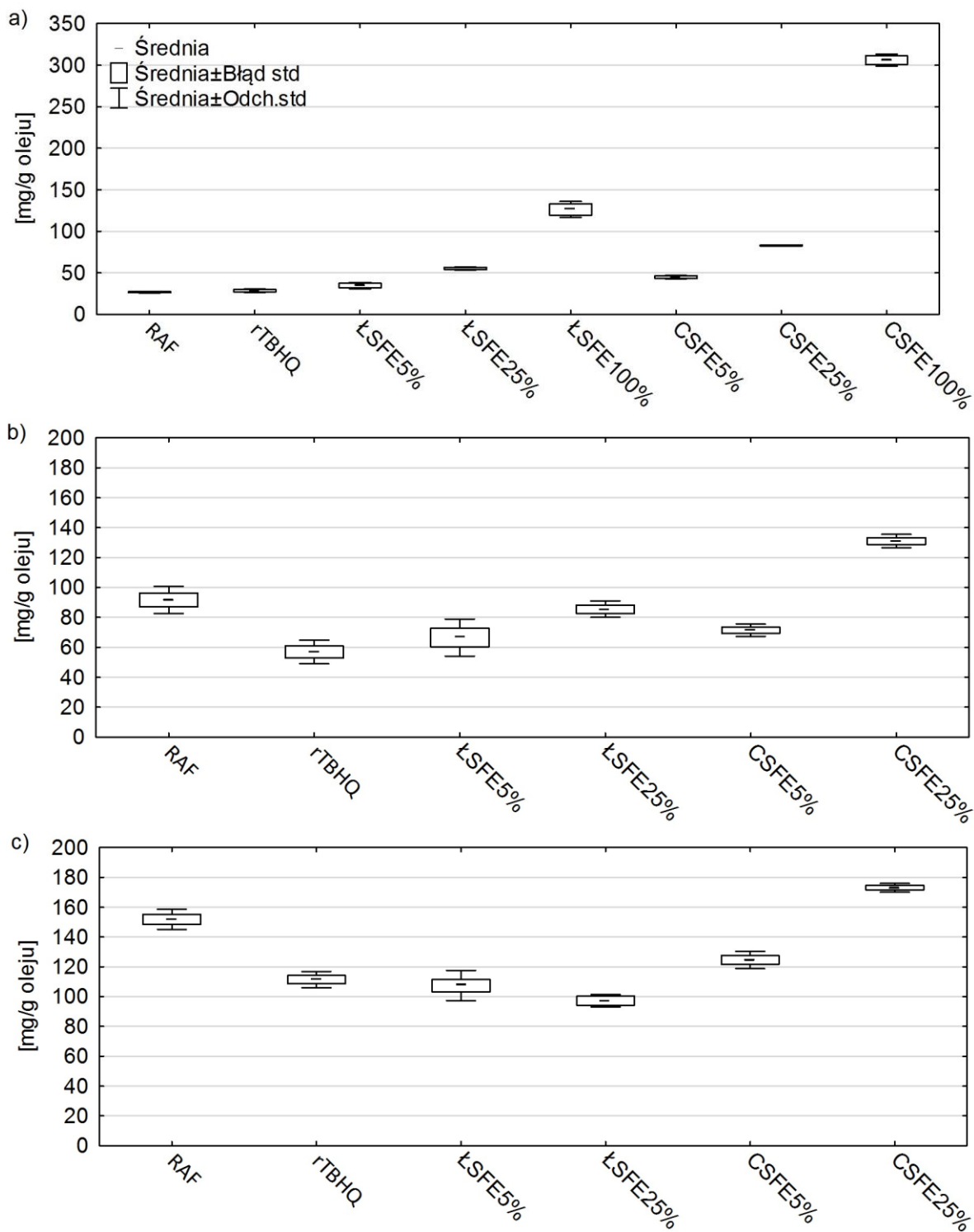
Wyniki analizy zawartości oxTAG w olejach wyjściowych oraz w ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach zaprezentowano na Rys. 24. Zawartość oxTAG w nieogrzewanych mieszankach i próbach kontrolnych wynosiła od 26,73 do 82,97 mg/g oleju. Nie stwierdzono istotnych różnic między próbami RAF, rTBHQ oraz ŁSFE5%, a także między próbami ŁSFE25% oraz CSFE5%. Najwyższą zawartością oxTAG odznaczała się próba CSFE25%, która różniła się statystycznie istotnie od pozostałych.

Zawartość oxTAG w próbach ogrzanych w 170°C wahała się w zakresie od 56,91 do 131,01 mg/g oleju i kształtowała się w następującym porządku rTBHQ < ŁSFE5% < CSFE5% < ŁSFE25% < RAF < CSFE25%. Nie stwierdzono istotnych statystycznych różnic między trzema próbami o najniższej zawartości oxTAG. Zawierały one odpowiednio o 34,76, 25,19 i 20,24 mg/g oleju mniej oxTAG niż próba RAF.

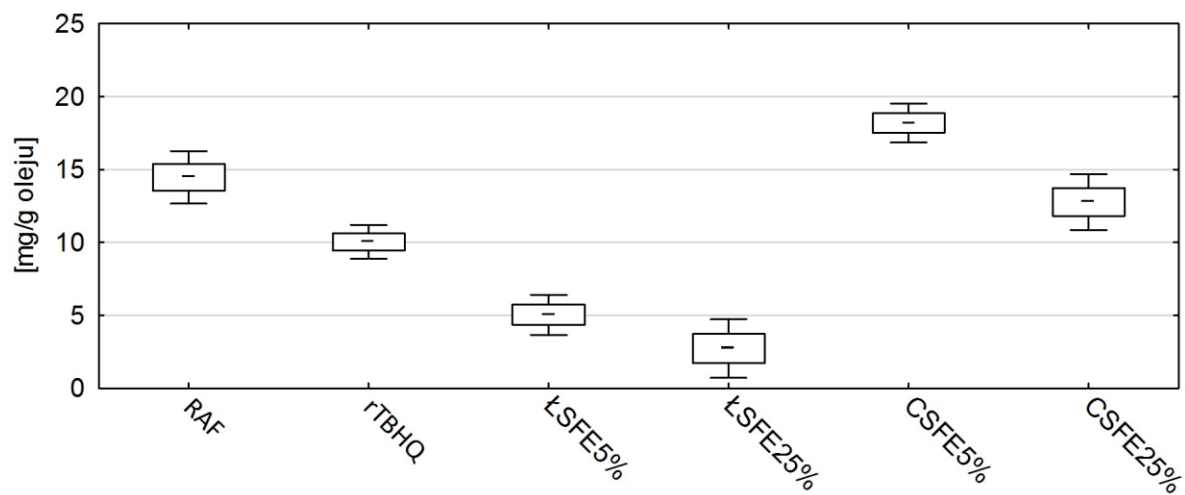
Zawartość oxTAG w próbach ogrzanych w 200°C mieściła się w granicach od 102,40 do 173,06 mg/g oleju i układała się w następującym porządku ŁSFE25% < ŁSFE5% < rTBHQ < CSFE5% < RAF < CSFE25%. Próby ŁSFE5% i ŁSFE25% zawierały odpowiednio o 4,01 i 9,05 mg/g oleju mniej oxTAG niż próba rTBHQ oraz o 44,47 i 49,51 mg/g oleju mniej niż próba RAF.

Ogrzewanie spowodowało istotny statystycznie wzrost zawartości oxTAG we wszystkich próbach ogrzanych zarówno w 170 jak i w 200°C. Wśród prób ogrzanych w 170°C najmniejszym wzrostem zawartości oxTAG odznaczały próby CSFE5% (o 26,55 mg/g oleju), rTBHQ (28,45 mg/g oleju) i ŁSFE25% (30,17 mg/g oleju). Natomiast największy wzrost oxTAG w temperaturze 170°C zanotowano w próbach RAF (64,94 mg/g oleju) i CSFE25% (48,04 mg/g oleju). Z kolei najmniejszym i największym wzrostem zawartości oxTAG pod wpływem ogrzewania w 200°C odznaczały odpowiednio próby ŁSFE25% (o 47,13 mg/g oleju) i RAF (o 125 mg/g oleju).

Wyniki analizy zawartości dimerów w olejach wyjściowych oraz w ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach zaprezentowano na Rys. 25. Występowanie dimerów stwierdzono jedynie w próbach ogrzanych w 200°C. Ich zawartość wynosiła od 2,72 do 18,20 mg/g oleju i układała się według następującego porządku ŁSFE25% < ŁSFE5% < rTBHQ < RAF < CSFE25% < CSFE5%. Próby ŁSFE5% i ŁSFE25% zawierały odpowiednio o 5,03 i 7,33 mg/g oleju mniej dimerów niż próba rTBHQ oraz o 9,43 i 11,74 mg/g oleju mniej niż próba RAF. Nie stwierdzono istotnych statystycznych różnic między zawartością dimerów w próbach ŁSFE5% i ŁSFE25%, natomiast różniły się one istotnie statystycznie w porównaniu do innych prób.



Rys. 24. Zawartość monomerów utlenionych TAG (oxTAG) a) w olejach SFE oraz ich nieogrzanych mieszankach; b) w mieszankach ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach ogrzane w 200°C C

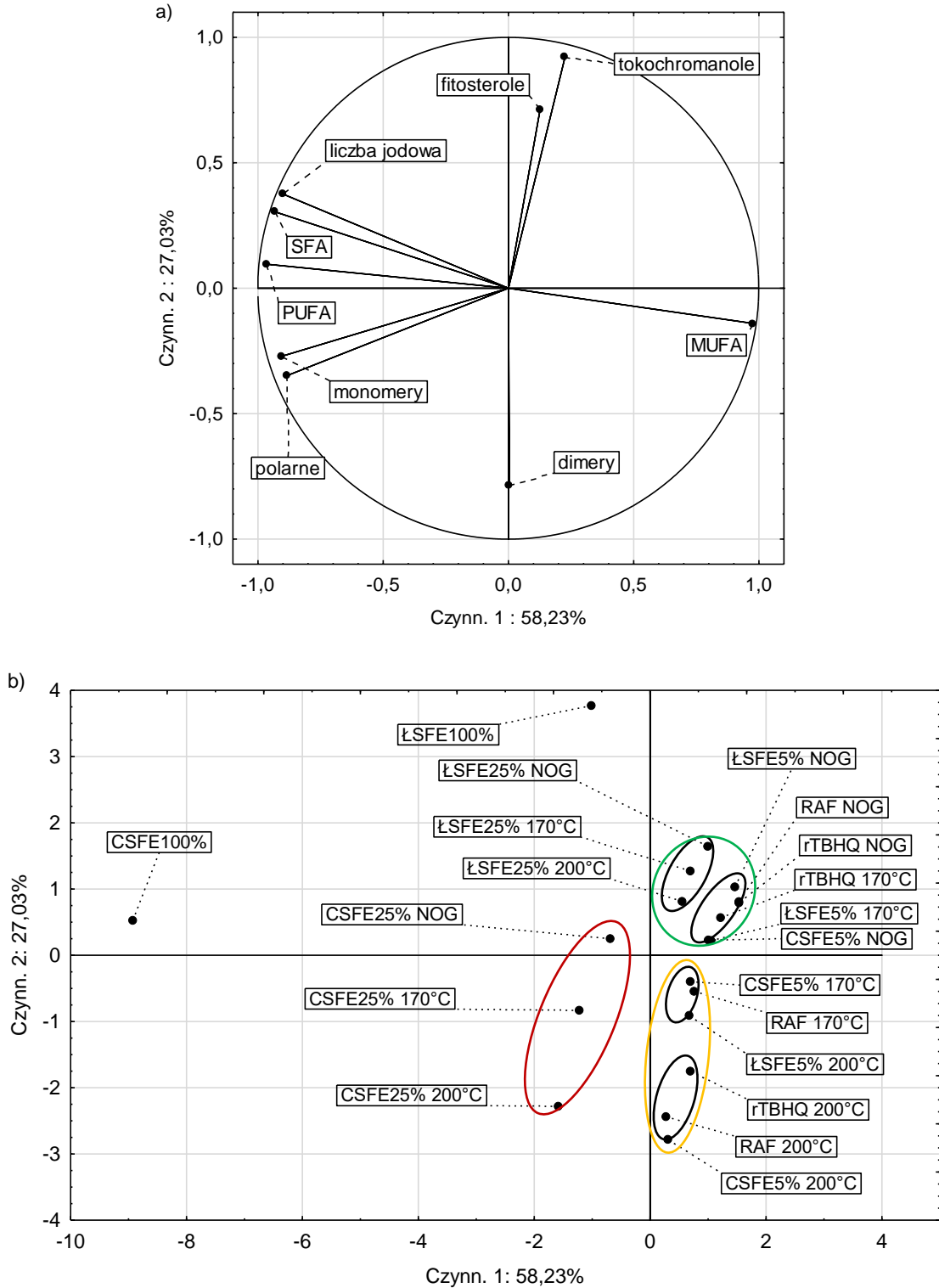


Rys. 25. Zawartość dimerów TAG w mieszankach z olejami SFE ogrzanych w 200°C

12.2.6. Analiza głównych składowych (PCA)

W analizie głównych składowych stwierdzono, że pierwsze trzy składowe łącznie objaśniały 97,30% zmienności wyników w II etapie badań (Rys. 26). Rozpatrując projekcję parametrów na płaszczyznę na podstawie dwóch pierwszych składowych można zauważyć, że pierwsza składowa (58,23% zmienności wyników) charakteryzuje profil kwasów tłuszczowych i stopień utleniania prób, ponieważ była ujemnie skorelowana z udziałem SFA (-0,9303), PUFA (-0,9672), wartością liczby jodowej (-0,8998), zawartością związków polarnych (-0,8854) oraz oxTAG (-0,9074) i dodatnio skorelowana z udziałem MUFA (0,9775). Natomiast druga składowa (27,03% zmienności wyników) była powiązana z zawartością związków czynnych oraz polimeryzacją, ponieważ była dodatnio skorelowana z zawartością tokochochromanoli (0,9207) i fitosteroli (0,7133) oraz ujemnie skorelowana z zawartości dimerów (-0,7864).

Projekcja przypadków na płaszczyznę pokazała tendencję, zgodnie z którą próby układały się w następującym porządku - od prób nieogrzewanych, przez próby ogrzane w 170°C, po próby ogrzane w 200°C. W prawej górnej ćwiartce znalazły się wszystkie próby nieogrzewane (z wyjątkiem CSFE25%, która znalazła się w lewej górnej ćwiartce) oraz trzy próby ogrzane w temperaturze 170°C (rTBHQ, ŁSFE5%, ŁSFE25%) oraz jedna ogrzana w 200°C (ŁSFE25%). Próby z prawej górnej ćwiartki tworzyły pierwszy klaster (kolor zielony), który podzielono dalej na dwa podklastery. Pierwszy z nich obejmował próby z dodatkiem 25% oleju z łubiny SFE nieogrzaną oraz ogrzane w 170 i w 200°, charakteryzujące się wysoką zawartością tokochochromanoli i fitosteroli. Drugi podklaster zawierał nieogrzewane próby RAF i rTBHQ, ŁSFE5% i CSFE5% oraz ogrzane w 170°C próby ŁSFE5% i CSFE5%. Próby te były mocno skupione, co wskazuje na niewielkie zróżnicowanie między nimi. Drugi klaster (kolor żółty) znajdował się w prawej dolnej ćwiartce i obejmował dwa podklastery. Pierwszy z nich zawierał próby RAF i CSFE5% ogrzane w 170°C oraz próbę ŁSFE5% ogrzaną w 200°C, które również znajdowały się w niewielkim oddaleniu od siebie co wskazuje na podobieństwo między nimi. W drugim podklasterze znalazły się próby o najwyższej zawartości dimerów i były to RAF, rTBHQ oraz CSFE5% ogrzane w 200°C. Próby z dodatkiem 25% oleju z czarnuszki SFE, nieogrzana oraz ogrzane w 170 i w 200°C, tworzyły trzeci klaster (kolor czerwony), ale znajdowały się w znacznym rozproszeniu co oznacza, że proces ogrzewania zarówno w 170 jak i w 200°C spowodował znaczne zmiany w próbach z dodatkiem 25% oleju z nasion czarnuszki SFE. Oba oleje wyjściowe ŁSFE100% i CSFE100% znajdowały się w znacznym oddaleniu od pozostałych co w przypadku oleju z łubiny wynikało z wysokiej zawartości tokochochromanoli i fitosteroli, a w przypadku oleju z czarnuszki było efektem znacznie wyższego udziału PUFA oraz znacznie wyższej wartości liczby jodowej w porównaniu do pozostałych prób.



Rys. 26. Analiza głównych składowych w olejach SFE oraz ich nieogranych i ogranych mieszankach a) rzut parametrów na płaszczyznę b) rzut prób na płaszczyznę (NOG – próby nieogrzewane, SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe)

12.3. Wyniki III etapu badań – mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz oleje z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

12.3.1. Skład olejku eterycznego

W składzie olejku eterycznego z czarnuszki zidentyfikowano szesnaście związków (Tabela 12). Głównymi składnikami były p-cymen, tymochinon, α -tujen, których łączny udział stanowił ponad 72,38%. Udział α -pinenu, sabinenu, β -pinenu, limonenu, γ -terpinenu, trans-4-metoksytujanu, longifolenu zawierał się w granicach 1,60-4,76%. Udział pozostałych składników nie przekroczył 1%.

Tabela 12. Skład olejku eterycznego

Nr	Nazwa związku	Stężenie [%]	Czas retencji [min]	RI
1	α -tujen	15,32	7,811	933
2	α -pinen	3,94	7,99	943
3	sabinen	1,60	8,729	980
4	β -pinen	3,43	8,866	987
5	3-karen	0,81	9,561	1024
6	p-cymen	33,51	9,709	1033
7	limonen	4,08	9,799	1038
8	γ -terpinen	4,37	10,317	1066
9	cis-4-metoksytujan	0,97	11,011	1102
10	trans-4-metoksytujan	4,76	11,429	1128
11	terpinen-4-ol	0,39	12,563	1192
12	β -cyklocitral	0,73	12,863	1210
13	tymochinon	23,55	13,646	1260
14	α -longipinen	0,60	15,405	1373
15	longifolen	1,93	16,363	-

12.3.2. Profil kwasów tłuszczowych i liczba jodowa

We wszystkich nieogranych mieszankach i w nieogrzewanym oleju rzepakowym (RAF) największym udziałem charakteryzował się kwas oleinowy (od 57,69% dla CZAR20% do 65,60% dla RAF), w następnej kolejności kwas linolowy (18,46–25,92%) (Tabela 13). W próbie CZAR100% (zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki) proporcje te kształtowały się odwrotnie i dominujący udział miał kwas linolowy (57,14%), a po nim kwas oleinowy (23,59%). Próby nieogrzewane i CZAR100% zawierały także kwas linolenowy (odpowiednio 7,18–8,57% i 0,61%), palmitynowy (odpowiednio 4,53–6,04% i 12,57%) oraz stearynowy (odpowiednio 1,71–1,97% i 2,88%). Próba CZAR100% odznaczała się najwyższą wartością liczby jodowej (121,04) z przewagą kwasów wielonienasyconych (PUFA) (57,75%), natomiast w nieogranych mieszankach i próbie RAF dominujący udział miały kwasy jednonienasycone (MUFA) (58,04–65,94%) (Tabela 14). Ogrzewanie zarówno w 170 jak i w 200°C spowodowało zwiększenie udziału SFA i MUFA oraz zmniejszenie udziału PUFA i wartości liczby jodowej w porównaniu do prób nieogrzewanych. Różnice te były istotne statystycznie pod względem udziału PUFA w próbach RAF, E0,1% i E0,2% ogrzanych w 170 i 200°C oraz w próbach CZAR10% i CZAR20% ogrzanych w 200°C. Różnice istotne statycznie pod względem udziału SFA, MUFA oraz wartości liczby jodowej zaobserwowano także we wszystkich próbach ogrzanych w 200°C. W próbie CZAR20% ogrzanej w 170 i 200°C stwierdzono największy spadek udziału PUFA (odpowiednio o 0,37 i 1,45%) oraz wartości liczby jodowej (odpowiednio o 0,53 i 2,1) w porównaniu do próby nieogrzanej. Największy wzrost udziału MUFA pod wpływem ogrzewania w 170 i 200°C obserwowano odpowiednio w próbach RAF (0,14%) i CZAR20% (0,43%). Największym wzrostem udziału SFA podczas ogrzewania w obu temperaturach charakteryzowała się próba E0,2% (odpowiednio 0,38 i 1,13%).

Tabela 13. Profil kwasów tłuszczowych [%] w nieogranych i ogranych mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

		RAF	E0,1%	E0,2%	CZAR10%	CZAR20%	CZAR100%
16	nieogrzewane	4,53±0,08bA	4,63±0aAB	4,61±0,13aAB	5,44±0,16aBC	6,04±0,14aC	12,57±0,46D
	170°C	4,62±0,02aA	4,73±0,02aA	4,53±0,02abA	5,35±0,11aB	6,15±0,20aC	-
	200°C	4,68±0,01aA	4,70±0,07aA	4,71±0,03bA	5,46±0,06aB	6,38±0,05aC	-
18	nieogrzewane	1,74±0,03aA	1,71±0,01aA	1,72±0,00aA	1,83±0,00aB	1,97±0,01aC	2,88±0,00D
	170°C	1,73±0,00aA	1,74±0,01aAB	1,75±0,01aB	1,87±0,01bC	1,97±0,00aD	-
	200°C	1,78±0,00bA	1,79±0,01bA	1,79±0,02bA	1,92±0,01cB	2,03±0,02bC	-
18:1	nieogrzewane	65,60±0,14aA	65,22±0,03aA	65,18±0,02aA	61,60±0,06aD	57,69±0,28aC	23,59±0,17B
	170°C	65,58±0,02aA	65,35±0,02aA	65,55±0,03bA	61,78±0,11aC	57,94±0,43aB	-
	200°C	66,22±0,05bA	66,22±0,21bA	66,29±0,17cA	62,59±0,05bC	58,69±0,04bB	-
18:2	nieogrzewane	18,46±0,06cA	18,49±0,01bA	18,53±0,06aA	22,04±0,06aB	25,92±0,28aC	57,14±0,43D
	170°C	18,30±0,02bA	18,36±0,05aA	18,33±0,01bA	21,96±0,05aB	25,67±0,34aC	-
	200°C	17,84±0,02aA	17,85±0,11aA	17,80±0,10cA	21,32±0,07bB	24,99±0,09bC	-
18:3	nieogrzewane	8,39±0,03aA	8,53±0,01bA	8,57±0,05bA	7,80±0,13aD	7,18±0,12aC	0,61±0,00B
	170°C	8,39±0,01aA	8,42±0,06aA	8,42±0,02aA	7,72±0,05aC	7,05±0,07aB	-
	200°C	8,02±0,01bA	8,00±0,08aA	7,97±0,13aA	7,36±0,05bC	6,65±0,12bB	-
inne	nieogrzewane	1,29±0,00aA	1,34±0,12aA	1,32±0,13aA	1,21±0,10aA	1,13±0,11aA	0,30±0,19B
	170°C	1,22±0,01bA	1,22±0,01abA	1,27±0,01bD	1,15±0,01bC	1,04±0,03aB	-
	200°C	1,30±0,02cB	1,27±0,01bA	1,27±0,01cAB	1,18±0,01cD	1,06±0,01aC	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; E0,1% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,1% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; E0,2% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,2% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR100% - zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki; inne – C14:0, C16:1, C20:0, C22:0, C22:1. Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogranych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami

Tabela 14. Udziały nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [%] oraz wartości obliczonej liczby jodowej w nieogranych i ogranych mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

		RAF	E0,1%	E0,2%	CZAR10%	CZAR20%	CZAR100%
SFA	nieogrzewane	7,22±0,03aA	7,39±0,01bA	7,36±0,13aA	8,21±0,12abB	8,88±0,12aB	15,65±0,40C
	170°C	7,36±0,02aA	7,50±0,02aA	7,33±0,02aA	8,17±0,11aB	8,99±0,17aC	-
	200°C	7,53±0,03bA	7,55±0,05aA	7,55±0,05bA	8,37±0,06bB	9,31±0,06bC	-
MUFA	nieogrzewane	65,94±0,12aA	65,60±0,02aA	65,55±0,01aA	61,96±0,07aD	58,04±0,28aC	23,80±0,15B
	170°C	65,95±0,02bA	65,72±0,02aA	65,93±0,03bA	62,14±0,12aC	58,29±0,43aB	-
	200°C	66,62±0,05cA	66,61±0,21bA	66,68±0,17cA	62,96±0,06bC	59,05±0,03bB	-
PUFA	nieogrzewane	26,85±0,09cA	27,02±0,00bA	27,09±0,11bA	29,84±0,19aB	33,09±0,16aC	57,75±0,43D
	170°C	26,68±0,02bA	26,78±0,04aA	26,75±0,03aA	29,68±0,02aB	32,72±0,26aC	-
	200°C	25,85±0,02aA	25,84±0,19aA	25,77±0,22aA	28,68±0,12bB	31,64±0,03bC	-
liczba jodowa	nieogrzewane	110,61±0,08cA	110,74±0,01aA	110,86±0,25bA	111,85±0,39aA	113,56±0,07cC	121,04±0,87D
	170°C	110,34±0,01bA	110,34±0,09bA	110,46±0,04aA	111,68±0,14aB	113,03±0,04bC	-
	200°C	109,14±0,02aA	109,10±0,22cA	109,01±0,34aA	110,31±0,20bB	111,46±0,20aC	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; E0,1% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,1% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; E0,2% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,2% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR100% - zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki; SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe; wartości dla prób NOG/CZAR100% są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD; wartości dla prób ogranych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD; średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami

12.3.3. Zawartość tokochromanoli oraz ich stabilność podczas ogrzewania

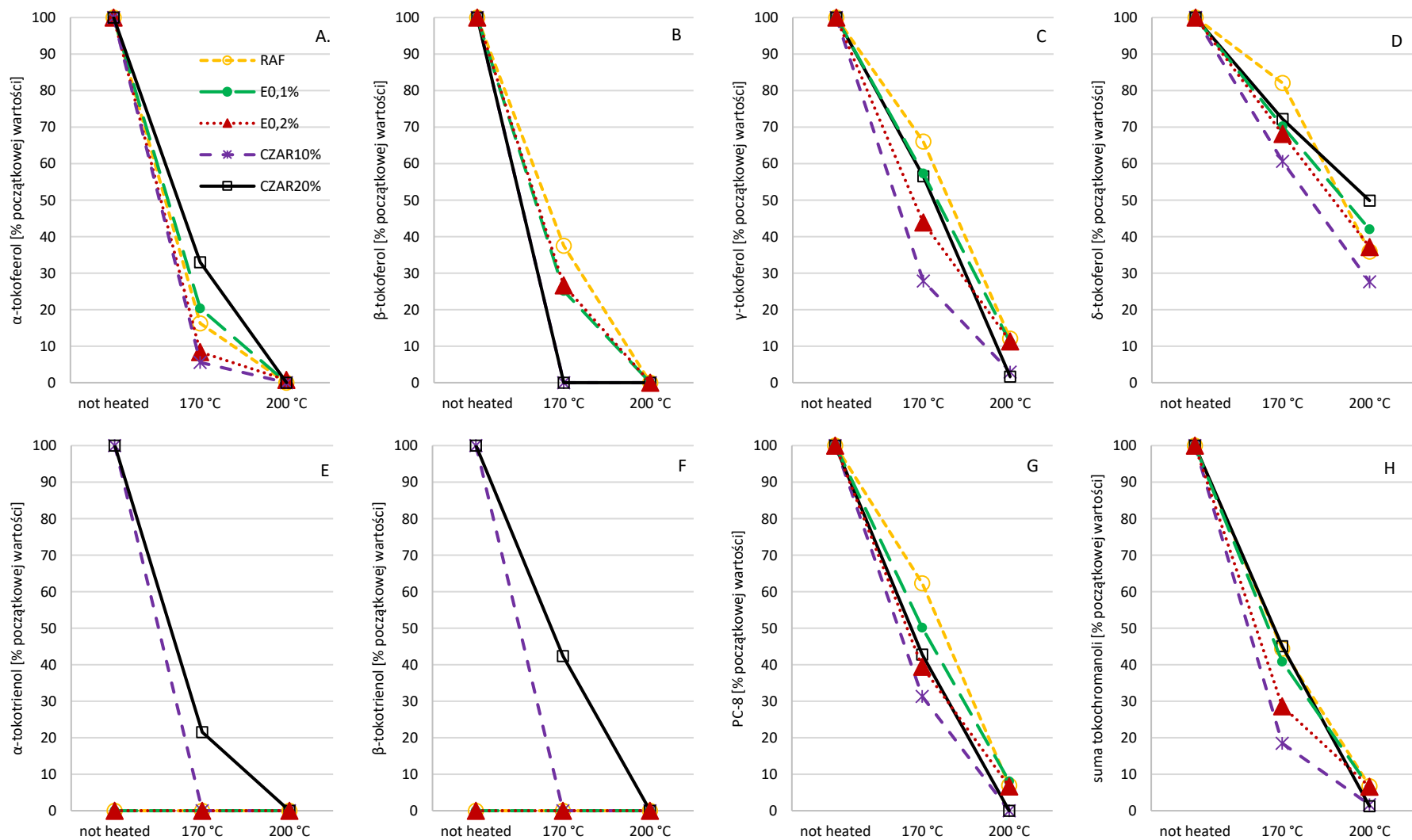
Zawartość tokochromanoli w nieogrzanych mieszankach oraz w próbach RAF i CZAR100% mieściła się w zakresie 30,87–68,35 mg/100g (Tabela 15). W nieogrzanych mieszankach i w próbie RAF głównymi tokochromanolami były α - i γ - tokoferol (odpowiednio 23,78–29,26 mg/100g i 27,67–33,65 mg/100g), natomiast w próbie CZAR100% głównym tokochromanolem był β -tokotrienol (18,46 mg/100g), którego obecność stwierdzono również w próbach CZAR10% i CZAR20% (odpowiednio 0,78 i 2,72 mg/100g). δ -tokoferol występował we wszystkich w nieogrzanych mieszankach oraz w próbach RAF i CZAR100% (0,54–2,88 mg/100g), natomiast β -tokoferol i PC-8 jedynie w nieogrzanych mieszankach i w próbie RAF (odpowiednio 0,05–0,12 mg/100g i 3,81–4,62 mg/100g).

Stabilność tokochromanoli oraz poszczególnych homologów podczas ogrzewania zaprezentowano na Rys. 27. Proces ogrzewania spowodował straty tokochromanoli, a w niektórych przypadkach ich całkowitą degradację. Wśród prób ogrzanych w 170°C najwyższą i najniższą stabilnością tokochromanoli odznaczały się odpowiednio próby CZAR20% (pozostałość stanowiła 45,07% początkowej zawartości) i CZAR10% (pozostałość stanowiła 18,4% początkowej zawartości). Ponadto próba CZAR10% charakteryzowała się również największym ubytkiem α - i γ -tokoferolu oraz PC-8. Ogrzewanie w 200°C we wszystkich próbach spowodowało ubytek tokochromanoli do poziomu poniżej 7% początkowej zawartości. Tak znaczne straty tokochromanoli wynikały ze znacznej degradacji α -tokoferolu podczas ogrzewania, który w próbach nieogrzewanych obok γ -tokoferolu miał dominujący udział i stanowił 39,87–43,33% zawartości tokochromanoli. Zawartość α -tokoferolu w próbach ogrzanych w 170 i 200°C wahała się odpowiednio od 5,55 do 32,99% wartości początkowej oraz od 0,72% wartości początkowej do poziomu niewykrywalnego. Większą stabilnością charakteryzowały się γ -tokoferol i PC-8, a najbardziej stabilny okazał się δ -tokoferol, którego zawartość w próbach ogrzanych w 170 i 200°C ukształtowała się na poziomie odpowiednio 54,71–72,19% i 27,62–49,86% wartości początkowej zawartości. Wśród prób ogrzanych w 170°C β -tokoferol występował jedynie w próbach RAF, E0,1% i E0,2%, a α - i β -tokotrienol zidentyfikowano tylko w próbie CZAR20%. Po ogrzewaniu w temperaturze 200°C β -tokoferolu, α - i β -tokotrienoli nie wykryto w żadnej próbie.

Tabela 15. Zawartość tokochromanoli oraz poszczególnych homologów [mg/100g oleju] w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogranych mieszankach oraz nieogrzewanych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

	RAF	E0,1%	E0,2%	CZAR10%	CZAR20%	CZAR100%
α-tokoferol	28,71±0,45A	28,69±1,24A	29,26±0,75A	25,82±0,36D	23,78±0,60C	0,53±0,01B
β-tokoferol	0,12±0,03AB	0,13±0,03B	0,15±0,03B	0,05±0,01A	0,05±0,01A	n/w
γ-tokoferol	32,39±0,85AB	32,21±0,27A	33,65±0,81B	30,08±0,51E	27,67±0,63D	0,29±0,01C
δ-tokoferol	0,73±0,05A	0,65±0,02A	0,67±0,04A	0,56±0,01B	0,54±0,04B	2,88±0,00C
PC-8	4,55±0,43A	4,53±0,23A	4,62±0,06A	4,22±0,06AB	3,81±0,23B	n/w
α-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	0,55±0,05A	1,12±0,08B	5,95±0,02C
β-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	0,78±0,05A	2,72±0,11B	18,46±0,02C
γ-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w
δ-tokotrienol	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	2,78±0,02
suma tokochromanoli	66,49±1,70A	66,21±1,64A	68,35±1,63A	62,06±0,95B	59,65±1,17B	30,87±0,08C

RAF - rafinowany olej rzepakowy; E0,1% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,1% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; E0,2% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,2% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR100% - zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki; PC-8 – plastochoromanol-8; n/w – nie wykryto; wartości są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice ($p < 0,05$) między próbkami



Rys. 27. Wykresy stabilności tokochromanoli i poszczególnych homologów podczas ogrzewania mieszanek z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejów z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki; RAF - rafinowany olej rzepakowy; EO,1% - rafinowany olej rzepakowego z dodatkiem 0,1% olejku eterycznego z czarnuszki; EO,2% - rafinowany olej rzepakowego z dodatkiem 0,2% olejku eterycznego z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego

12.3.4. Zawartość i stabilność fitosteroli podczas ogrzewania

Zawartość fitosteroli w nieogrzanych mieszankach oraz w próbach RAF i CZAR100% wynosiła 286,87–527,05 mg/100g (Tabela 16). Dominującym fitosterolem w nieogrzanych mieszankach oraz w próbach RAF i CZAR100% był β -sitosterol, który stanowił 49,51–63,16% całkowitej zawartości fitosteroli. Drugim i trzecim pod względem zawartości były kampesterol oraz brassikasterol, których udział wynosił odpowiednio 21,05–35,32% oraz 11,49–13,38%. Zgodnie z przewidywaniami próba CZAR100% nie zawierała brassikasterolu. We wszystkich próbach stwierdzono występowanie kampestanolu i Δ^5 -awenasterolu, których łączny udział stanowił 2,02–5,35% zawartości fitosteroli. Natomiast stigmasterol wykryto jedynie w próbach CZAR10%, CZAR20%, CZAR100%.

Ogrzewanie w 170 i 200°C spowodowało obniżenie zawartości fitosteroli odpowiednio o 2,27–81,53 i 17,04–77,66 mg/100g. Ogrzewanie w 170°C wpłynęło na istotny statystycznie ubytek fitosteroli w próbie CZAR10%. Natomiast w próbach ogrzanych w 200°C ubytek fitosteroli był istotny statystycznie w próbach RAF, CZAR10% i CZAR20%. Próba CZAR10% ogrzana w 170°C odznaczała się największym spadkiem zawartości dwóch głównych fitosteroli – kampesterolu i β -sitosterolu oraz zawartości fitosteroli ogółem (odpowiednio o 16,68; 16,35; 15,99% początkowej zawartości). Podobnych obserwacji dokonano po ogrzewaniu w 200°C. W próbie CZAR10% stwierdzono największy ubytek kampesterolu i β -sitosterolu oraz zawartości fitosteroli ogółem (odpowiednio o 15,40; 14,75; 15,23% początkowej zawartości). Występowanie istotnych statystycznie różnic w zawartości fitosteroli między próbami ogrzanyymi w 170 i 200°C stwierdzono w próbach RAF i CZAR20%.

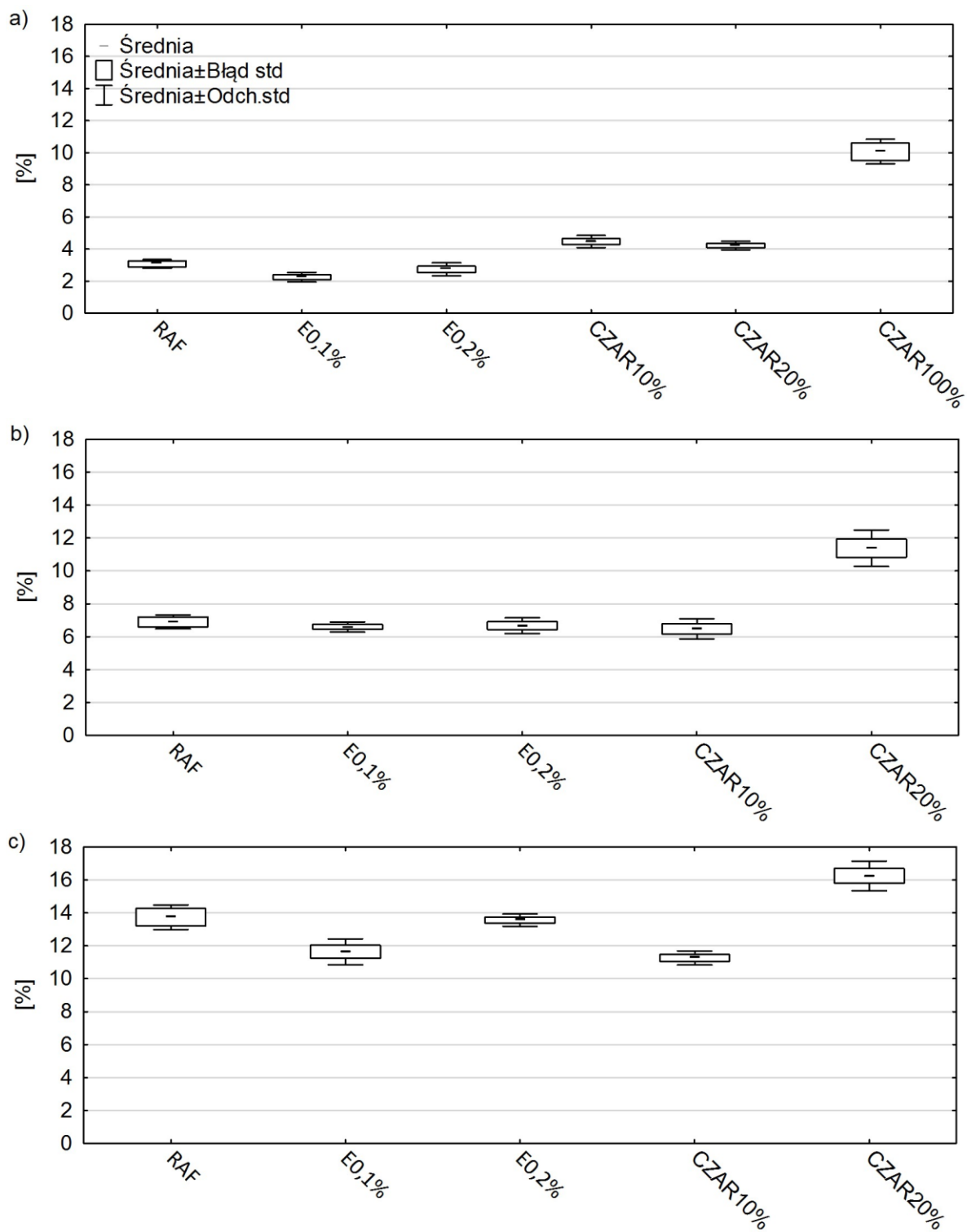
Tabela 16. Zawartość fitosteroli [mg/100g oleju] w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogrzanych i ogrzanych mieszankach oraz nieogrzanych i ogrzanych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

		RAF	E0,1%	E0,2%	CZAR10%	CZAR20%	CZAR100%
brassikasterol	nieogrzewane	67,45±0,02bA	66,66±2,94aA	70,65±1,10aA	63,64±2,69bA	54,35±1,05bB	n/w
	170°C	56,52±1,66aA	65,23±1,56aB	66,52±3,76aB	56,33±0,52aA	54,05±0,48bA	-
	200°C	53,35±2,12aAB	64,97±6,45aB	62,36±7,41aB	54,34±0,53aAB	50,11±0,78aA	-
kampesterol	nieogrzewane	185,69±0,25bA	184,83±0,90aA	181,32±1,83aA	173,98±3,48bB	158,95±1,72bC	60,38±0,57D
	170°C	183,60±0,66bB	179,32±13,76aB	179,74±11,83aB	144,96±1,21aA	159,48±1,89bAB	-
	200°C	178,46±3,06aC	166,65±6,24aBC	165,91±8,86aBC	147,19±9,78aA	154,90±0,41aAB	-
kampestanol	nieogrzewane	5,41±0,57aA	4,32±0,17aA	4,66±0,37bA	6,14±1,62bA	4,66±0,35aA	5,65±0,32A
	170°C	5,09±0,22aB	4,11±0,48aAB	4,36±0,16bAB	3,97±0,21aA	4,68±0,21aB	-
	200°C	4,66±0,36aB	3,40±0,11aA	3,54±0,20aA	3,70±0,36aAB	4,10±0,32aAB	-
stigmasterol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	3,57±0,23aA	5,87±0,01aB	29,97±0,22C
	170°C	n/w	n/w	n/w	3,41±0,28aA	5,68±0,61aB	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	3,23±0,37aA	5,45±0,30aB	-
β-sitosterol	nieogrzewane	260,32±1,63aAB	263,92±2,62aA	264,98±3,58aA	256,03±2,71bB	241,41±1,42aD	181,19±0,87C
	170°C	256,57±4,24aA	247,82±4,18aA	254,33±4,48aA	214,18±1,81aB	238,18±1,94aC	-
	200°C	246,79±12,49aB	244,47±9,86aAB	243,69±14,23aAB	218,27±14,13aA	234,25±1,52bAB	-
Δ⁵-awenasterol	nieogrzewane	6,92±0,17aAB	6,31±0,41bA	6,31±0,05aA	6,66±0,16aAB	7,83±0,09aB	9,69±0,62C
	170°C	6,93±1,23aAB	5,62±0,10abA	5,72±0,39aA	5,64±0,44aA	8,74±1,74aB	-
	200°C	5,92±0,12aAB	5,14±0,33aA	5,30±0,92aA	5,63±0,75aA	7,23±0,22aB	-
suma fitosteroli	nieogrzewane	525,8±1,00bA	526,05±1,16aA	527,92±3,89aA	510,01±10,58bA	473,08±4,64bC	286,87±0,42B
	170°C	508,72±6,02bA	502,10±11,96aA	510,67±20,44aA	428,48±3,41aB	470,81±2,53bC	-
	200°C	489,19±11,54aB	484,63±21,31aAB	480,80±31,25aAB	432,35±25,71aA	456,04±1,42aAB	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; E0,1% - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem 0,1% olejku eterycznego z czarnuszki; E0,2% - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem 0,2% olejku eterycznego z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR100% - zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki; n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszanek nieogrzanych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego fitosterolu, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami.

12.3.5. Wpływ ogrzewania na zawartość związków polarnych (TPC)

Wyniki analizy zawartości związków polarnych (TPC) w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejkim eterycznym z czarnuszki zaprezentowano na Rys. 28. Zawartość TPC w nieogranych mieszankach i w próbie RAF mieściła się w granicach od 2,25 (E0,1%) do 4,48% (CZAR20%). W próbie CZAR100% zawartość TPC wynosiła 10,07%. Nie stwierdzono istotnych statycznie różnic między próbami RAF, E0,1% i E0,2%, natomiast różniły się one istotnie od prób CZAR10%, CZAR20% i CZAR100%. Istotny statycznie wzrost TPC nastąpił we wszystkich próbach zarówno pod wpływem ogrzewania w 170 jak w 200°C. Najniższą zawartością TPC spośród próbach ogrzanych w 170°C odznaczała się próba E0,1% (6,48%). W żadnej próbie ogrzanej w 170°C parametr ten nie przekroczył 7% i różnice między nimi nie były istotne statystycznie, z wyjątkiem próby CZAR20%, w której poziom TPC był prawie dwukrotnie wyższy (11,38%) niż w innych próbach ogrzanych w tych samych warunkach. Zawartość TPC w próbach ogrzanych w 200°C wynosiła od 11,26 do 16,24% i układała się w następującym porządku CZAR10% < E0,1% < E0,2% < RAF < CZAR20%. Najmniejszy przyrost zawartości TPC podczas ogrzewania zarówno w 170 jak i w 200°C zanotowano w próbie CZAR10% i wynosił on odpowiednio 2,00 oraz 6,78% i był o 1,82 oraz 3,87% mniejszy niż w próbie RAF. Z kolei w próbie CZAR20% stwierdzono największy przyrost zawartości TPC podczas ogrzewania w obu temperaturach i wynosił on odpowiednio 7,16 oraz 12,02% i był o 3,34 i 1,37% większy niż w próbie RAF. Wśród prób ogrzanych w 200°C obserwowano występowanie istotnych statycznie różnic. Próba RAF różniła się statystycznie znacząco od innych olejów ogrzanych w tych samych warunkach, z wyjątkiem próby E0,2%; podobnie próba CZAR10% różniła się od pozostałych z wyjątkiem próby E0,2%, natomiast próba CZAR20% różniła się statystycznie znacząco od wszystkich prób ogrzanych w 200°C.

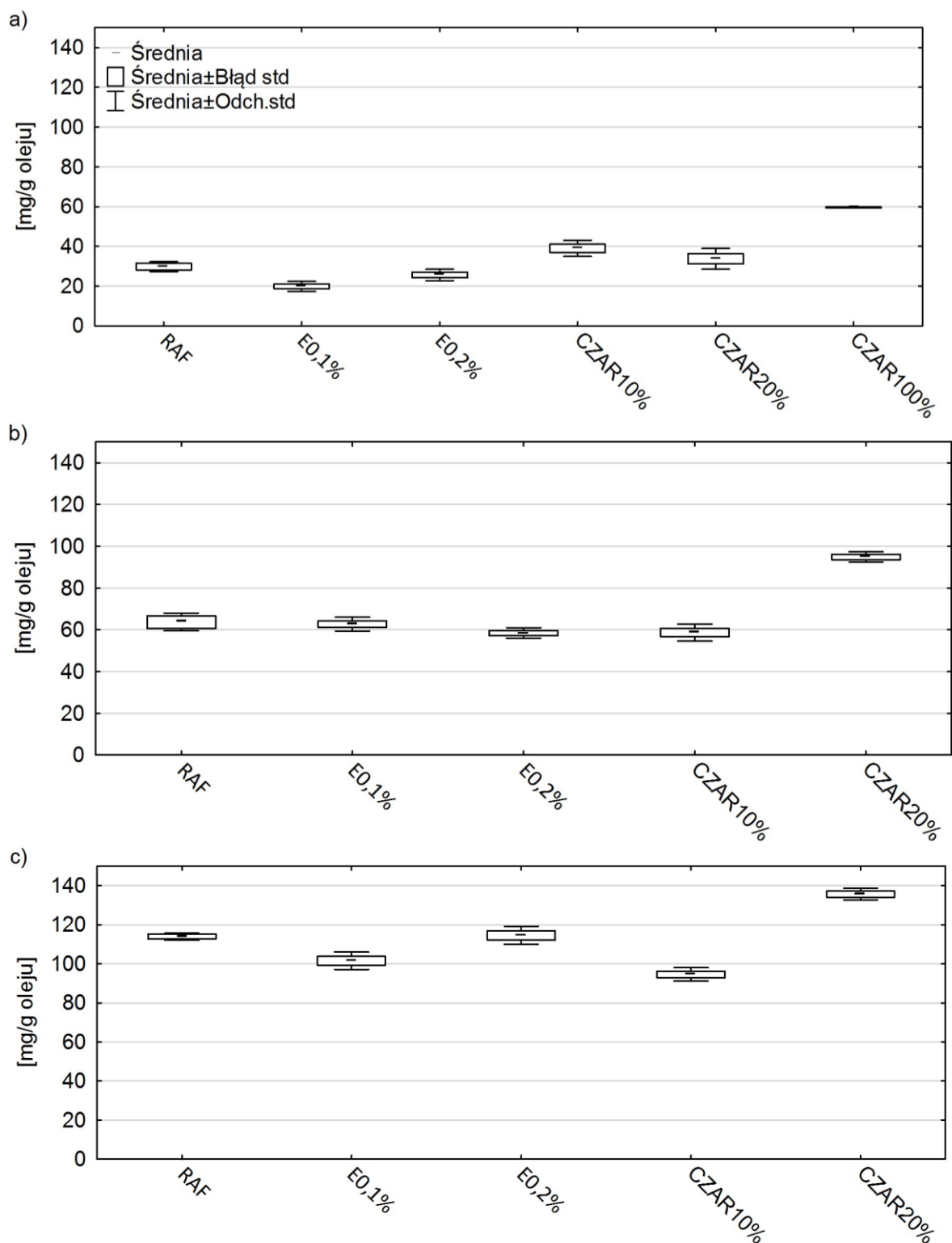


Rys. 28. Zawartość związków polarnych a) w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogranych mieszankach oraz nieogranych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki b) w mieszankach oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 200°C

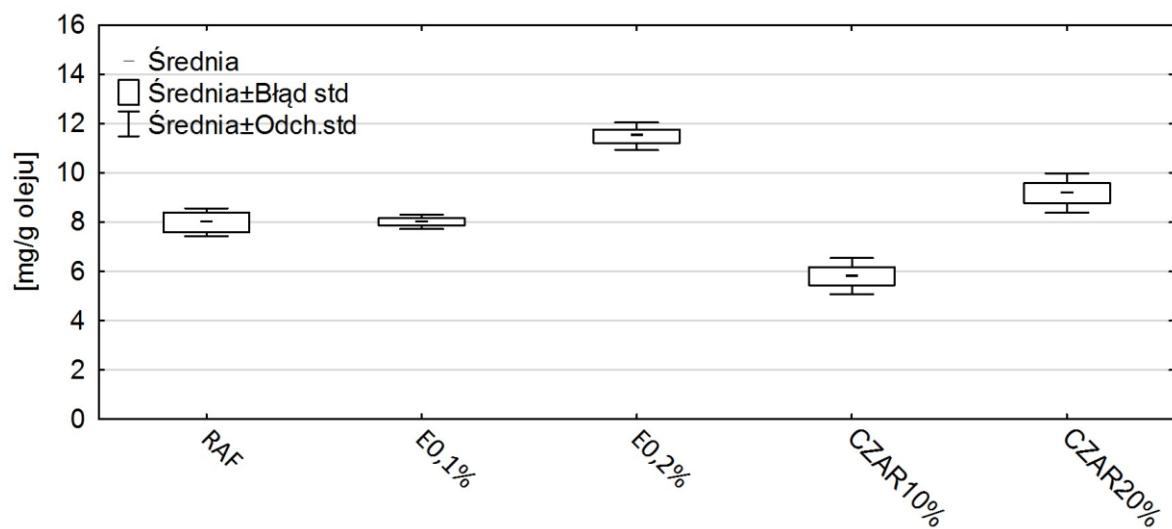
12.3.6. Wpływ ogrzewania na zawartość utlenionych monomerów (oxTAG) oraz dimerów triacylogliceroli

Wyniki analizy zawartości oxTAG w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejkim eterycznym z czarnuszki zaprezentowano na Rys. 29. Zawartość oxTAG w nieogranych mieszankach i w próbie RAF wynosiła od 19,85 mg/g oleju (E0,1%) do 38,97 mg/g oleju (CZAR10%), w próbach ogrzanych w 170°C od 58,48 mg/g oleju (CZAR10%) do 94,88 mg/g oleju (CZAR20%), a w próbach ogrzanych w 200°C od 94,59 mg/g oleju do 135,64 mg/g oleju (CZAR20%). Ogrzewanie w 170 i 200°C spowodowało istotny statycznie wzrost zawartości oxTAG we wszystkich próbach. Najmniejszy przyrost zawartości oxTAG pod wpływem ogrzewania w 170 i w 200°C zanotowano w próbie CZAR10% i wynosił on odpowiednio 19,75 mg/g oleju (co stanowiło 7,70% początkowej zawartości) oraz 55,62 mg/g oleju (co stanowiło 21,68% początkowej zawartości). Natomiast największy przyrost zawartości oxTAG pod wpływem ogrzewania w 170 i w 200°C stwierdzono w próbie CZAR20% i wynosił on odpowiednio 61,12 mg/g oleju (co stanowiło 20,63% początkowej zawartości) oraz 101,88 mg/g oleju (co stanowiło 34,39% początkowej zawartości).

Wyniki analizy zawartości dimerów TAG w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejkim eterycznym z czarnuszki zaprezentowano na Rys. 30. Występowanie dimerów TAG stwierdzono jedynie wśród próbach ogrzanych w 200°C. Ich zawartość mieściła się w zakresie od 5,81-11,49 mg/g oleju i kształtowała się według następującego porządku CZAR10% < RAF < E0,1% < CZAR20% < E0,2%. Nie stwierdzono między nimi istotnych statystycznie różnic z wyjątkiem prób o najmniejszej i najwyższej zawartości dimerów TAG, które różniły się istotnie od pozostałych prób. Próby RAF i E0,2% zawierały odpowiednio o 2,19 mg/g oleju i 5,68 mg/g oleju więcej dimerów TAG niż próba CZAR10% (co stanowiło odpowiednio 37,69% i 97,76% ich zawartości w próbie CZAR10%). Z kolei próby RAF i E0,1% charakteryzowały się bardzo podobną zawartością dimerów TAG (8,00 i 8,01 mg/g oleju), odpowiednio o 3,49 i 3,48 mg/ oleju wyższą w porównaniu do próby E0,2%.



Rys. 29. Zawartość monomerów utlenionych TAG (oxTAG) w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki; a) w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogrzanymi mieszankami oraz nieogrzany olej z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki b) w mieszankach oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 200°C



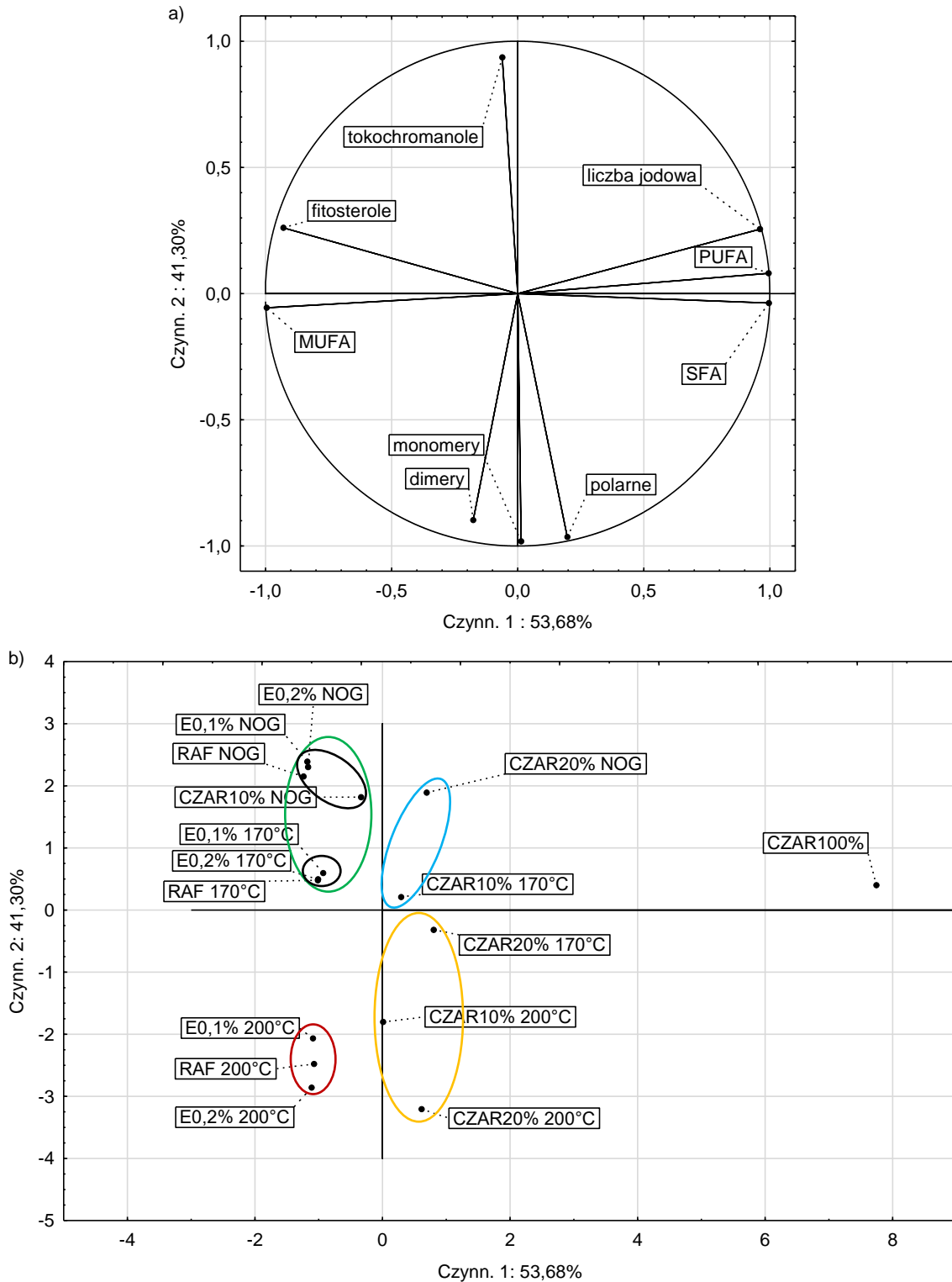
Rys. 30. Zawartość dimerów TAG w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 200°C

12.3.7. Analiza głównych składowych (PCA)

Analiza głównych składowych pokazała, że pierwsza i druga składowa objaśniają łącznie 94,98% wariacji wyników w III etapie badań (Rys. 31). Na podstawie projekcji parametrów na płaszczyznę stwierdzono, że pierwsza z głównych składowych charakteryzuje zmienność związaną z profilem kwasów tłuszczowych, ponieważ była ujemnie skorelowana z zawartością MUFA (-0,995) oraz dodatnio skorelowana z zawartością PUFA (0,994), SFA (0,996) i wartością liczby jodowej (0,961). Natomiast druga składowa była związana ze stopniem degradacji mieszanek olejów, ponieważ była ujemnie skorelowana z zawartością związków polarnych (-0,964), oxTAG (-0,981) oraz dimerów (-0,897) i dodatnio skorelowana z zawartością tokochromanoli (0,936).

Projekcja przypadków na płaszczyznę pokazała, że po lewej stronie osi x znajdują się próby o najwyższej zawartości MUFA (próby RAF, E0,1%, E0,2%). Natomiast po prawej stronie osi x zlokalizowane zostały próby z wyższą zawartością PUFA, SFA i wyższą liczbą jodową (próby CZAR10% i CZAR20%). Próba CZAR100% umiejscowiła się w znacznym oddaleniu od pozostałych ze względu na dominujący udział PUFA w składzie tej próby. Próby wzdłuż osi y układały się w następujący sposób od prób nieogranych, przez próby ogrzane w 170°C i na końcu osi y zlokalizowano próby ogrzane w 200°C.

Na podstawie projekcji przypadków na płaszczyznę wyodrębniono cztery klastry. Pierwszy klaster (kolor zielony) znajdował się w lewej górnej ćwiartce i obejmował dwa podklastry. Pierwszy z nich zawierał wszystkie próby nieograne (z wyjątkiem próby CZAR20%), natomiast drugi podklaster grupował próby RAF, E0,1% i E0,2% ogrzane w 170°C. Drugi klaster (kolor czerwony) znajdował się w lewej dolnej ćwiartce obejmował próby RAF, E0,1% i E0,2% ogrzane w 200°C. Próby w pierwszym i drugim klastrze charakteryzowały niskim stopniem nienasylenia i wysokim udziałem MUFA. Trzeci (kolor niebieski) oraz czwarty (kolor żółty) klaster znajdowały się odpowiednio w prawej górnej oraz prawej dolnej ćwiartce. Obejmowały próby z dodatkiem zimnotłoczego oleju z czarnuszki (z wyjątkiem nieogrzewanej próby CZAR10%), które odznaczały się wyższym stopniem nienasylenia i wyższym udziałem PUFA w porównaniu do pozostałych prób. Należy zwrócić uwagę, że próby w czwartym klastrze znajdowały się w dużym oddaleniu od siebie co wskazuje na ich znaczne zróżnicowanie.



Rys. 31. Analiza głównych składowych w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki a) rzut parametrów na płaszczyznę b) rzut przypadków na płaszczyznę (NOG – próby nieogrzewane, SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe)

13. Dyskusja

Dodatki olejów zimnotłoczonych, otrzymanych na drodze ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym a także olejek eteryczny z czarnuszki zastosowane w przedstawianej pracy w większości okazały się skuteczne w ograniczaniu utleniania i polimeryzacji TAG. W I etapie badań mieszanki z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi ogrzane w 170 i 200°C odznaczały się niższym poziomem związków polarnych oraz oxTAG w porównaniu do rafinowanego oleju rzepakowego. Można to powiązać z wpływem profilu kwasów tłuszczowych, ponieważ mieszanki z olejem z nasion kolendry oraz olejem z pestek moreli charakteryzowały się niższym stopniem nienasycenia określanym wartością liczby jodowej w porównaniu do pozostałych prób. Uzyskane wyniki są zgodne z danymi prezentowanymi przez innych autorów (F. Aladedunye & Przybylski, 2013; Jill K. Winkler et al., 2007) i można je uzasadnić większą podatnością PUFA na degradację pod wpływem wysokiej temperatury i kontaktu z tlenem. Jednak jest to tylko częściowe wyjaśnienie, ponieważ mieszanki z zimnotłoczonym olejem rzepakowym charakteryzowały się podobnym stopniem nienasycenia do rafinowanego oleju rzepakowego, ale jednocześnie niższą zawartością związków polarnych oraz oxTAG. Ponadto profil kwasów tłuszczowych nie tłumaczy zmienności w poziomie związków polarnych i oxTAG między poszczególnymi mieszankami z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi. Zmienność ta może wynikać z wpływu związków fenolowych, których bogatym źródłem według wielu publikacji (Kostadinovic-Velickovska & Mitrev, 2013; Kostadinović Veličkovska et al., 2015; Siger et al., 2008) są oleje zimnotłoczone. Liczne badania dowodzą, że oleje o wyższej zawartości natywnych lub dodanych związków fenolowych odznaczają się wyższą stabilnością w testach przyspieszonego starzenia (Del Carlo et al., 2004; Y. Y. Zhang et al., 2018) oraz podczas smażenia (Jiménez et al., 2017; Kmiecik et al., 2018; Wu et al., 2022). Przypisuje się to głównie zdolności związków fenolowych do wygaszania wolnych rodników poprzez oddanie atomu wodoru lub elektronu. Należy przy tym zaznaczyć, że istotne znaczenie ma struktura związków fenolowych, w tym liczba i położenie grup hydroksylowych, stopień metylacji, występowanie innych podstawników, glikozylacja, a także obecność podwójnego wiązania między C₂ i C₃ (w pierścieniu C flawonoidów) (Belščak-Cvitanović et al., 2018; Vuolo et al., 2018). W literaturze brak danych na temat składu związków fenolowych w oleju z nasion kolendry. Natomiast zbadano ich skład w ekstrakcie z nasion kolendry (Palmieri et al., 2020). Zidentyfikowano 10 związków fenolowych, przy czym dominujący udział miały kwas chlorogenowy (490,56 µg/g ekstraktu), następnie kwas wanilinowy (273,23 µg/g ekstraktu) oraz kwas ferulowy (239,21 µg/g ekstraktu). Silne właściwości antyoksydacyjne (Cirillo et al., 2012) kwasu ferulowego i wanilinowego wynikają z obecności grupy hydroksylowej podstawionej w pozycji para względem bocznego łańcucha ze sprzężonym wiązaniem podwójnym. Taki układ umożliwia delokalizację elektronu w całej cząsteczce rodnika fenoksylogowego, co korzystnie wpływa na jego stabilność i tym samym poprawia właściwości przeciwutleniające związku fenolowego. Ponadto grupa metoksylova podstawiona w pozycji orto do grupy hydroksylowej może być donorem elektronu, co również zwiększa aktywność przeciwutleniającą kwasu ferulowego oraz wanilinowego. Kwas chlorogenowy wykazuje silniejsze właściwości antyoksydacyjne niż kwas ferulowy i wanilinowy, dzięki obecności dwóch grup hydroksylowych podstawionych w pozycji orto. Taki układ dodatkowo stabilizuje powstały rodnik fenoksyłowy poprzez wytworzenie p-chinonu. W publikacji (Ramadan & Moersel, 2006) porównano

aktywność przeciwutleniającą 10 olejów mierzoną testem DPPH. Stwierdzono, że olej z kolendry odznaczał się najwyższą efektywnością w wygaszaniu wolnych rodników. Według autorów różnice w właściwościach przeciwutleniających olejów mogą wynikać z różnic w zawartości i składzie polarnych bioaktywnych składników frakcji niezmydlającej, różnic w strukturze potencjalnych fenolowych przeciwutleniaczy w olejach, synergicznych interakcji między polarnymi substancjami bioaktywnymi a innymi składnikami olejów lub z różnicy w kinetyce reakcji przeciwutleniaczy występujących w olejach. Wszystkie te czynniki mogą przyczynić się do radykalnej skuteczności wygaszania olejów. Autorzy zauważają również, że właściwości antyoksydacyjne wynikają nie tylko z całkowitej zawartości przeciwutleniaczy, ale także z występowania określonych związków oraz z ich połączonego działania.

Innym czynnikiem mogącym mieć wpływ na zahamowanie utleniania i polimeryzacji TAG w mieszkankach z olejem z nasion kolendry jest występowanie w tych próbach olejku eterycznego. Dowiedziono (H. Yang et al., 2022), że dodatek olejku eterycznego z kolendry do oleju słonecznikowego wpływa na ograniczenie powstawania związków polarnych i polimerów TAG podczas głębokiego smażenia. Według danych literaturowych (H. Yang et al., 2022) olejek eteryczny z kolendry może być bogatym źródłem niefenolowych substancji przeciwutleniających takich jak linalol, limonen, γ -terpinen oraz eugenol.

W II etapie badań próba z dodatkiem oleju z czarnuszki otrzymanego na drodze ekstrakcji rozpuszczalnikiem w stanie nadkrytycznym (CSFE5%) charakteryzowała się zbliżonym stopniem nienasylenia w porównaniu do próby RAF i jednocześnie mniejszym wzrostem zawartości związków polarnych oraz utlenionych monomerów TAG w 170°C. Może to wynikać z wyższej zawartości związków fenolowych w mieszance, dzięki użyciu etanolu jako współrozpuszczalnika podczas procesu ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym nasion czarnuszki. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach (Belayneh et al., 2017) zastosowanie nawet niewielkiej ilości etanolu jako współrozpuszczalnika znacznie zwiększa efektywność ekstrakcji związków fenolowych. W trzecim etapie badań próba CZAR10% ogrzana w 170°C, odznaczała się porównywalnym profilem kwasów tłuszczowych oraz porównywalną zawartością związków polarnych i oxTAG względem próby RAF. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że podczas ogrzewania w 170°C substancje zawarte w próbce CSFE5% wykazywały silniejsze właściwości przeciwutleniające niż w próbce CZAR10%. Potwierdzają to badania innych autorów (Mohammed et al., 2016), w których stwierdzono, że olej nasion czarnuszki pozyskany metodą SFE zawierał więcej związków fenolowych i odznaczał się wyższą aktywnością przeciwutleniającą niż olej zimnotłoczony. W próbach CSFE25% (II etap badań) oraz CZAR20% (III etap badań) profil kwasów tłuszczowych miał wpływ na przemiany zachodzące w olejach podczas ogrzewania w porównaniu do substancji o charakterze przeciwutleniaczy w nich zawartych. Większy dodatek oleju z czarnuszki znacznie wpłynął na profil kwasów tłuszczowych przygotowanych mieszanek. Charakteryzowały się one największym udziałem PUFA (odpowiednio o 6,40 i 6,24% więcej niż w próbce RAF) oraz wyższym stopniem nienasylenia określanym wartością liczby jodowej (odpowiednio o 2,95 i 1,90 więcej niż w próbce RAF), a jednocześnie najwyższą zawartością związków polarnych oraz oxTAG w 170°C. Podobne wyniki uzyskano w pracy (Ardabili et al., 2010), w której badano wpływ dodatku oleju z pestek dyni oraz oliwy z oliwek stabilność rafinowanego oleju rzepakowego podczas smażenia. Stwierdzono, że

próba z najmniejszym dodatkiem oleju z pestek dyni odznaczała się największą stabilnością, określaną m.in. przez czas smażenia w temperaturze 180°C potrzebny do osiągnięcia poziomu 24% zawartości związków polarnych w próbie. Autorzy przypisują zaobserwowane różnice między próbami różnicom w składzie substancji towarzyszących zwłaszcza związków fenolowych.

Dodatek 0,1% olejku eterycznego z czarnuszki oraz 10% oleju zimnołoczonego skutecznie obniżał poziom związków polarnych i oxTAG podczas ogrzewania w 200°C w porównaniu do próby RAF. Takiego efektu nie stwierdzono w próbach E0,1% i T10% ogrzanych w 170°. Można przypuszczać, że mechanizm działania substancji przeciwutleniających zawartych w olejku eterycznym z czarnuszki wymaga zastosowania temperatury wyższej niż 170°C. Drugim możliwym wytłumaczeniem jest, że głównymi przeciwutleniaczami podczas ogrzewania w 170°C były tokochromanole. Podczas ogrzewania w 200°C uległy one znacznej degradacji i przestały pełnić swoją ochronną rolę względem składników oleju. Wówczas mogły ujawnić się przeciwutleniające właściwości substancji zawartych w olejku eterycznym z czarnuszki. Należy w tym miejscu pamiętać, że składniki olejków eterycznych stosunkowo nietrwałe podczas obróbki termicznej (Mahanta et al., 2021). Jednak ogrzewanie mogło spowodować przekształcenie niektórych z nich do bardziej stabilnej formy wykazującej właściwości ochronne w warunkach wysokiej temperatury. Podobny mechanizm obserwowano w przypadku sezamoliny, która podczas obróbki termicznej ulega przekształceniu do sezamolu lub sezaminolu o silniejszych właściwościach przeciwutleniających (Kochhar, 2000). Zaprezentowane w obecnej pracy wyniki wpływu dodatku olejku eterycznego z czarnuszki na stabilność termiczną rafinowanego oleju rzepakowego wymagają dalszych badań w celu bardziej precyzyjnego zrozumienia obserwowanych zjawisk.

Należy dodać, że skład olejku eterycznego z czarnuszki może znacznie różnić się (Burits & Bucar, 2000; Kazemi, 2014a; Kiralan et al., 2021; Piras et al., 2013; S. Singh et al., 2014) w zależności od wielu czynników takich jak warunki środowiskowe, termin siewu, warunki przechowywania nasion, a także region uprawy. Jak wykazano we wcześniejszych badaniach (Turkmani et al., 2015) skład olejku eterycznego z czarnuszki znacznie wpływa na jego aktywność przeciwutleniającą i można przypuszczać, że ma również istotny wpływ na jego zdolność do ograniczania termicznej degradacji olejów. W pracy innych autorów (Erkan et al., 2012) stwierdzono, że dodatek olejku eterycznego z czarnuszki zwiększał stabilność oleju słonecznikowego w warunkach przyspieszonego starzenia. W dotychczasowych badaniach brak danych dotyczących wpływu dodatku olejku eterycznego z czarnuszki na stabilność rafinowanego oleju rzepakowego w warunkach wysokiej temperatury. Natomiast badano wpływ dodatku innych olejków eterycznych, m.in. olejku z czarnego pieprzu, imbiru (Chandran et al., 2017), liścia laurowego, oregano i rozmarynu (Olmedo et al., 2015). Stwierdzono (Olmedo et al., 2015; D. Wang et al., 2020), że olejki eteryczne z wysoką zawartością karwakuolu lub jego pochodnych były efektywne w ograniczaniu termo-oksydatywnej degradacji olejów jadalnych, co można przypisać jego fenolowej strukturze. Inne substancje, o strukturze niefenolowej, zawarte w olejkach eterycznych w tym w olejku eterycznym z czarnuszki otrzymanym w toku badań niniejszej pracy, również mogą wykazywać właściwości przeciwutleniające. Należą do nich γ -terpinen, limonen a także tymochinon, który według badań innych autorów (Kazemi, 2014b; Kiralan et al., 2021) w przeważającym stopniu odpowiada za aktywność antyoksydacyjną olejku eterycznego z czarnuszki. Właściwości przeciwutleniające γ -terpinenu wynikają z jego zdolności do

przerywania łańcucha reakcji rodnikowej poprzez generowanie rodnika wodoronadtlenkowego (HOO^\bullet), który bardzo szybko ulega reakcji samoterminacji ($\text{HOO}^\bullet + \text{HOO}^\bullet \rightarrow \text{HOOH}$) (Baschieri et al., 2017). Wykazano także, że γ -terpinen działa synergicznie z tokoferolami i związkami fenolowymi, regenerując je z ich form rodnikowych poprzez wytworzenie szybko samoterminującego rodnika HOO^\bullet (Guo et al., 2021). Według jednej z publikacji (Baschieri et al., 2017) antyoksydacyjne właściwości limonenu, linalolu i citralu, a także innych niefenolowych składników olejków eterycznych mogą wynikać z reakcji ich współutleniania z substratem i szybkiej samoterminacji. Jest to mechanizm podobny do wyżej opisanego mechanizmu działania γ -terpinenu, z tą różnicą, że nie stwierdzono w nim udziału rodnika HOO^\bullet . Autorzy zauważają, że przeciwutleniające właściwości składników olejków eterycznych prawdopodobnie ujawniają się w dość wąskim zakresie stężeń. W obecnej pracy może to tłumaczyć wyższą zawartość związków polarnych, oxTAG oraz dimerów w próbie E0,2% w porównaniu do próby E0,1%. Może to świadczyć, że zostało przekroczone optymalne stężenie olejku eterycznego pod względem jego właściwości przeciwutleniających. W kolejnej pracy (Milos & Makota, 2012) oceniono właściwości przeciwutleniające tymolu, karwakrolu, tymochinonu i p-cymenu oraz ich mieszanek. Stwierdzono pewne rozbieżności w działaniu większości mieszanek oraz indywidualnym działaniu poszczególnych składników. Silny efekt antagonistyczny stwierdzono tylko, gdy tymochinon był połączony z p-cymenem. Inne kombinacje dwóch przeciwutleniaczy wykazywały w pewnym stopniu efekt synergistyczny. Bardziej złożone, trzy- i czteroskładnikowe mieszaniny przeciwutleniaczy wykazywały spadek aktywności antyoksydacyjnej w porównaniu z ich poszczególnymi składnikami. Można to oznaczać, że antagonistyczne działanie między tymochinonem i p-cymenem przeważa nad synergistycznym działaniem innych układów przeciwutleniaczy.

W II etapie badań próby o wyższej zawartości tokochromanoli, charakteryzowały się wyraźnie mniejszym wzrostem poziomu związków polarnych oraz oxTAG zarówno w 170 jak i 200°C, pomimo wyższego stopnia nienasycenia w porównaniu do próby RAF. Podobnych obserwacji dokonano pod względem zawartości dimerów w próbach ogrzanych w 200°C. Potwierdza to analiza PCA, która wykazała, że zawartość tokochromanoli była odwrotnie skorelowana z zawartością dimerów. Uzyskane w obecnej pracy wyniki można powiązać z wyższą całkowitą zawartością tokochromanoli w mieszankach z olejem z łubinu. Liczne badania potwierdzają silne przeciwutleniające właściwości tokochromanoli (Kamal-Eldin; Afaf, 2019; Obranović et al., 2015; Siger et al., 2021). Wykazano (M. A. Ali & Chew, 2022), że optymalna zawartość tokoferoli pod względem ich wpływu na stabilność termiczną olejów wynosi 500-1000 $\mu\text{g/g}$. Można przypuszczać, że oprócz całkowitej zawartości tokochromanoli również ich skład ma istotny wpływ na stopień zaawansowania procesów utleniania i polimeryzacji TAG podczas obróbki termicznej. W obecnej pracy, we wszystkich etapach badań stwierdzono, że najmniej stabilnym homologiem był α -tokoferol, większą stabilnością charakteryzował się γ -tokoferol, a najbardziej stabilny okazał się δ -tokoferol, co jest zgodne wcześniejszymi wynikami badań (Kmieciak et al., 2019). Większa podatność α -tokoferolu na degradację w porównaniu do innych homologów wynika prawdopodobnie z niższej energii odłączenia atomu wodoru (Barouh et al., 2022; Kmieciak et al., 2019). Z drugiej strony łatwość przekazania atomu wodoru przez α -tokoferol wpływa na jego wyższą reaktywność i tym samym może przyczyniać się do silniejszych właściwości antyoksydacyjnych. Jest to zgodne z wynikami

otrzymanymi w obecnej pracy w etapie III, w której próba CZAR10% wyróżniająca się najniższym poziomem produktów degradacji w temperaturze 200°C, charakteryzowała się najmniejszą stabilnością tokochochromanoli. Starty tokochochromanoli wynikały głównie z obniżenia zawartości α -tokoferolu, który miał dominujący udział w składzie tokochochromanoli w nieogrzewanej próbce CZAR10%. Należy zauważyć, że γ -tokoferol również miał znaczący udział w składzie tokochochromanoli, co także mogło wpłynąć na ograniczenie degradacji TAG w mieszanke. Mechanizm działania tokochochromanoli jest bardzo złożony i zależy od wielu czynników w tym temperatury i czasu trwania eksperymentu, dostępu tlenu (smażenie głębokie lub w cienkiej warstwie), stężenia tokochochromanoli, proporcji między homologami, obecności innych antyoksydantów oraz innych substancji mogących wchodzić w interakcje synergiczne lub antagonistyczne. W obecnej pracy, w II etapie badań γ -tokoferol był dominującym homologiem tokochochromanoli w próbach ŁSFE5% i ŁSFE25% (jego udział był odpowiednio o 8,50 i 50,38% większy niż α -tokoferolu), co mogło wpłynąć na mniejszy wzrost zawartość produktów utleniania i polimeryzacji TAG, zwłaszcza polimerów w próbce ŁSFE25%. W badaniach innych autorów wykazano, że oleje ze znaczącą przewagą γ -tokoferolu charakteryzowały się wyższą aktywnością przeciwutleniającą (Seppanen et al., 2010) oraz większą stabilnością oksydacyjną (Zaunschirm et al., 2018). Możliwą przyczyną silniejszych właściwości ochronnych γ -tokoferolu w porównaniu do α -tokoferolu podczas obróbki termicznej wynika z innych mechanizmów ich przekształcenia (Kochhar, 2000). Pod wpływem wysokiej temperatury γ -tokoferol ulega przekształceniu do jednego z dwóch dimerów, z których oba posiadają właściwości przeciwutleniające, podczas gdy α -tokoferol rozkłada się z wytworzeniem czterech produktów, ale tylko jeden z nich ma właściwości przeciwutleniające. Należy zaznaczyć, że wiele dotychczasowych badań (Athanasiadis et al., 2023; Kiran et al., 2015; Kmiecik et al., 2019) zauważa wyższą aktywność przeciwutleniającą mieszaniny tokoferoli w porównaniu do indywidualnego działania poszczególnych homologów, co wskazuje na występowanie synergistycznych oddziaływań między tokoferolami.

Dodatek oleju z łubinu SFE w stężeniu 5 i 25% był bardziej efektywny w ograniczaniu przyrostu zawartości związków polarnych oraz oxTAG podczas ogrzewania w 200° niż dodatek rTBHQ. Może to wynikać z mniejszej odporności TBHQ na degradację w zastosowanych warunkach w porównaniu do tokochochromanoli, a także z mniejszej stabilności tokochochromanoli w próbce rTBHQ niż w mieszkankach z olejem z nasion łubinu. Co więcej wśród prób ogrzanych w 200°C mieszanki ŁSFE5% i ŁSFE25% wyróżniały się niższą zawartością dimerów, w porównaniu do próby RAF oraz próby rTBHQ. Można przypuszczać, że jest to efektem niższej zawartości oxTAG, z których w wyniku reakcji polimeryzacji w warunkach wysokiej temperatury powstają dimery (Velasco et al., 2009). Badania innych autorów (Nyström et al., 2007) wykazały, że dodatek 0,5% i 1% α -tokoferolu ograniczał polimeryzację podczas ogrzewania w 180°C. W porównaniu do próby wysokooleinowego oleju słonecznikowego, który poddano oczyszczaniu w celu usunięcia wszelkich pro- i antyoksydantów, próby z dodatkiem α -tokoferolu oznaczały się istotnie niższym poziomem polimerów już w pierwszej godzinie ogrzewania. Efekt ten pogłębiał się przez cały czas trwania eksperymentu (6 godzin). Jednak dopiero w ostatniej godzinie zanotowano istotną statycznie różnicę między próbkami z dodatkiem 0,5 i 1% α -tokoferolu – większy dodatek α -tokoferolu bardziej spowalniał procesy polimeryzacji. Z kolei w porównaniu do próby wysokooleinowego oleju słonecznikowego nie poddanego

oczyszczaniu w celu usunięcia wszelkich pro- i antyoksydantów antypolimeryzacyjny efekt dodatku α - tokoferolu w obu stężeniach był statycznie istotny dopiero w 3 godzinie ogrzewania i utrzymał się w 6 godzinie do końca eksperymentu.

Kolejnym czynnikiem mogącym ograniczać utlenianie i polimeryzację TAG w próbach z dodatkiem oleju z nasion łubinu zarówno w 170 jak i w 200°C jest wysoka zawartość fitosteroli. Potwierdzają to wyniki analizy PCA, zgodnie z którą w II etapie badań zawartość fitosteroli była odwrotnie skorelowana z zawartością dimerów TAG. Należy zaznaczyć, że zawartość fitosteroli w oleju z nasion łubinu SFE, wykorzystywanego do badań w pracy, była wyższa niż w innych doniesieniach dotyczących tego oleju (Hamama & Bhardwaj, 2004). Może to wynikać z zastosowania ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym jako metody pozyskania oleju lub może to być również cechą charakterystyczną dla odmiany łubinu użytej w badaniach. Kolejnym istotnym czynnikiem mogącym ograniczać termiczną degradację w badanych mieszankach mógł być skład fitosteroli. Dominującym fitosterolem we wszystkich mieszankach oraz próbach kontrolnych był β -sitosterol, przy czym w próbach ω SFE5% i ω SFE25% jego zawartość była znacznie wyższa niż w innych próbach, co mogło wpłynąć na większą stabilność termiczną prób z dodatkiem oleju z łubinu. W literaturze (Kiran et al., 2015) wykazano, że dodatek β -sitosterolu do oleju sojowego był bardziej efektywny w ograniczaniu formowania związków polarnych podczas smażenia niż dodatek BHT i porównywalnie skuteczny w stosunku do TBHQ. W innej pracy (Singh 2013) autor stwierdził, że dodatek sitosterolu powodował obniżenie poziomu polimerów TAG w trioleinie oraz rafinowanym oleju rzepakowym, wysokooleinowym oleju słonecznikowym oraz oleju lnianym podczas ogrzewania w temperaturze 180°C przez 72 godziny. Jednakże zastosowany dodatek powodował również wzrost poziomu produktów hydrolizy. Według autora antypolimeryzacyjny wpływ sitosterolu może być efektem przekształcenia sitosterolu do steradienu w wyniku reakcji eliminacji wody. W obecnej pracy głównym fitosterolem w oleju z łubinu był rzadko występujący w olejach lupeol co jest typowe dla łubinu i zgodne z danymi uzyskanymi przez innych autorów (Hamama & Bhardwaj, 2004). Znaczne ilości lupeolu stwierdzono także w próbach ω SFE5% i ω SFE25%, co można powiązać z niższą zawartością związków polarnych oraz dimerów w tych próbach po procesie ogrzewania w porównaniu do pozostałych prób. Według autorów innej publikacji (Santiago & Mayor, 2014) właściwości przeciwutleniające lupeolu mogą wynikać ze jego zdolności do zmiatania wolnych rodników. W kolejnej pracy (C. Wang et al., 2019) dotyczącej właściwości antyoksydacyjnych oleju z nasion azjatyckiej odmiany oliwnika ekstrahowanego metodą SFE stwierdzono występowanie wysokiej dodatniej korelacji pomiędzy zawartością lupeolu a aktywnością przeciwutleniającą mierzoną zdolnością do wychwytywania wolnych rodników DPPH. Była ona najwyższa w porównaniu do aktywności innych fitosteroli. Autorzy sugerują, że aktywność antyoksydacyjną lupeolu można powiązać z występowaniem w strukturze jego bocznego łańcucha nienasyconego wiązania w pozycji C-21. Taka struktura może zwiększać stabilność termiczną oleju w podobny sposób jak grupa etyldenowa w łańcuchu bocznym Δ^5 -awenasterolu, Δ^7 -awenasterolu, fukosterolu, wernosterolu i citrostadienu (Kochhar, 2000). Można również wnioskować, że znacznie wyższa zawartość Δ^5 -awenasterolu w próbce ω SFE25% w porównaniu do innych prób w II etapie badań oraz występowanie citrostadienu i Δ^7 -awenasterolu w próbce KOL25% w I etapie badań mogło przyczynić się do spowolnienia utleniania i polimeryzacji TAG w tych próbach.

Na ograniczenie zawartości związków polarnych oraz dimerów w próbach CSFE5% i CSFE25% mogło mieć wpływ występowanie w tych próbach cykloartenolu. Feluran cykloartenolu jest jednym z głównych składników (M. A. Ali & Chew, 2022) γ -oryzanolu będącego złożoną mieszaniną felurowych estrów około 16 różnych fitosteroli. Dane na temat wpływu γ -oryzanolu na stabilność termiczną olejów są dość rozbieżne. Wielu autorów (F. Aladedunye et al., 2017; Maxwell D. Erickson et al., 2022) przyjmuje, że dobra stabilność termiczna oleju z otrąb ryżu wynika z wysokiej zawartości γ -oryzanolu. W jednej z publikacji (Kiran et al., 2015) stwierdzono, że próba oleju sojowego z dodatkiem γ -oryzanolu ogrzana w 180°C charakteryzowała się znacznie niższą zawartością związków polarnych niż próba bez dodatku oraz próby z dodatkiem BHT i TBHQ. Jednak w innej publikacji wykazano (Winkler-Moser et al., 2015), że γ -oryzanol ograniczał polimeryzację TAG, ale tylko w niewielkim stopniu i był znacznie mniej skuteczny niż syntetyczne felurany steroli. Według oceny autorów występowanie w strukturze cykloartenolu, dwóch grup metylowych przy C-4, jak również grupy cyklopropanowej między C-9 i C-19 może obniżyć ich właściwości antypolimeryzacyjne, ponieważ są to główne różnice w strukturze składników γ -oryzanolu i badanych fitosteroli. Najniższym poziomem polimerów odznaczały się próby z dodatkiem ferulanu cholestanolu i sitostanolu, nieco wyższym próby z dodatkiem feluranów cholestanolu i sitostenolu jednak te różnice były istotne statystycznie jedynie po 8 godzinach smażenia.

W trzecim etapie badań jedynie dodatek 10% oleju z nasion czarnuszki skutecznie ograniczył polimeryzację TAG w 200°C. Oprócz opisanego wyżej wpływu profilu kwasów tłuszczowych oraz olejku eterycznego może to wynikać z wpływu Δ^5 -stigmasterolu, który występował w próbach z dodatkiem zimnotłoczonego oleju z czarnuszki. Występowanie Δ^5 -stigmasterolu oraz Δ^7 -stigmasterolu w próbach z dodatkiem oleju z kolendry oraz Δ^5 -stigmasterolu w próbach z dodatkiem oleju z łubinu również mogło przyczynić się do uzyskania w tych próbach najniższej zawartości dimerów w I i II etapie badań. Ochronne działanie Δ^5 -stigmasterolu oraz Δ^7 -stigmasterolu podczas obróbki cieplnej dotychczas zostało zbadane w niewielkim stopniu. W jednej z publikacji (M. Chang et al., 2020) wykazano, że podczas ogrzewania oleju sojowego w temperaturze 60°C stigmasterol działał jako proutleniacz, natomiast w temperaturze 180°C wykazywał działanie przeciwutleniające.

Na podstawie wyników obecnej pracy, można przypuszczać, że działanie tokochromanoli i fitosteroli, podobnie jak działanie tokochromanoli i olejku eterycznego z czarnuszki uzupełnia się, w ten sposób, że kiedy tokoferole ulegną degradacji, funkcję ochroną przyjmują fitosterole ze względu na ich wyższą stabilność podczas obróbki termicznej. W obecnej pracy fitosterole odznaczały się wysoką stabilnością, która w żadnej próbie nie spadła poniżej 84,01% ich początkowej zawartości, co jest zgodne z wynikami innych autorów (Y. Lin et al., 2017). Wyniki badań na temat interakcji pomiędzy tokoferolami i sterolami są podzielone. Część publikacji dowodzi synergicznego działania tokoferoli i steroli (J. Yang et al., 2015; Z. Zhao et al., 2021). Efekt ten nie został jednak potwierdzony w pracy (Nyström et al., 2007), w której stwierdzono, że mieszanina ferulanu sitostanolu i α -tokoferolu skutecznie hamuje polimeryzację, ale nie w sposób synergiczny. Autorzy sugerują, że przeciwutleniacze działające w oparciu o inne mechanizmy przeciwutleniające wykazują silniejszy efekt synergiczny, ponieważ zapobiegają utlenianiu na różne sposoby. Natomiast głównym mechanizmem przeciwutleniającym zarówno ferulanu sitostanolu jak i α -tokoferolu jest przekazanie atomu wodoru reaktywnym rodnikom. W pracy innych autorów (R. Liu et al., 2021) zauważono, że

mieszanki tokoferole - fitosterole oraz tokoferole - γ -oryzanol wykazywały antagonistyczne oddziaływanie w oleju z otrąb ryżu w teście Rancimat. Jednak ci sami autorzy w kolejnej publikacji (Tang et al., 2022) stwierdzili występowanie synergistyczne oddziaływań tych samych mieszanek w rafinowanym oleju kokosowym. Autorzy wnioskują, że ta sama kombinacja dwóch substancji bioaktywnych w zależności od środowiska lipidowego, w którym występuje może powodować różne interakcje i tym samym może wykazywać różne właściwości przeciwutleniające. Autorzy zauważyli również, że rodzaj interakcji zależał od proporcji składników mieszanek, a także od stężenia mieszanek. Ponadto autorzy stwierdzili, że lepsze zrozumienie obserwowanych zjawisk wymaga dalszych badań. W innej publikacji (Grajzer et al., 2020) stwierdzono występowanie interakcji synergicznych między tokoferolami, fitosterolami i polifenolami. Jednocześnie zauważono, że właściwości antyoksydacyjne tokoferoli i polifenoli zależą od stosunku molowego przeciwutleniacza do kwasu α -linolenowego. W kolejnej publikacji (Winkler-Moser et al., 2013) autorzy stwierdzili, że lepsze właściwości antypolimeryzacyjne mieszaniny feluranów steroli oraz tokoferoli wynikają nie tyle z ich synergistycznej interakcji, co ze wzajemnej ochrony podczas ogrzewania.

W pracy innych autorów analizowano wpływ dodatku oleju z nasion pistacji atlantyckiej (w dwóch stężeniach) oraz dodatku frakcji niezmydlającej z tego oleju na termiczną stabilność otrzymanych mieszanek podczas 48 h smażenia plasterków ziemniaków w trójskładnikowej mieszance rafinowanego oleju rzepakowego z olejem palmowego i oliwą z oliwek extra virgin. Wszystkie zastosowane dodatki wpłynęły na obniżenie poziomu oxTAG, dimerów oraz całkowitej zawartości polimerów w mieszankach w porównaniu do próby bez dodatków. Jednak w porównaniu do próby z dodatkiem TBHQ jedynie próba z dodatkiem frakcji niezmydlającej uzyskała podobną stabilność termiczną. Autorzy zauważają, że frakcja niezmydlająca jest bogatym źródłem substancji czynnych takich jak sterole, tokoferole i związki fenolowe, które w badanych mieszankach mogły działać przeciwutleniająco i antypolimeryzacyjnie. Autorzy jednak nie wskazują, która z nich miała dominujący wpływ. Należy zauważyć, że wpływ poszczególnych substancji czynnych na zmniejszenie degradacji olejów podczas obróbki cieplnej, w tym polimeryzacji TAG, jest bardzo złożony i wymaga dalszych badań m.in. pod względem optymalnej zawartości i składu poszczególnych substancji w olejach, a także ich formy (wolnej lub zestryfikowanej), ich interakcji z matrycą i innymi przeciwutleniaczami oraz znaczeniem warunków procesu smażenia.

14. Wnioski i stwierdzenia

1. Oleje zimnotłoczone oraz otrzymane przez ekstrakcję CO₂ w stanie nadkrytycznym z zastosowaniem współrozpuszczalnika efektywnie ograniczały utlenianie i polimeryzację triacylogliceroli podczas obróbki termicznej. Przygotowane mieszaniny charakteryzowały się podobną lub wyższą stabilnością w porównaniu do rafinowanego oleju rzepakowego z dodatkiem syntetycznego antyoksydanta TBHQ oraz wyższą stabilnością w porównaniu do rafinowanego oleju rzepakowego bez dodatków.
2. Kluczowym czynnikiem wpływającym na stabilność termiczną mieszanek był profil kwasów tłuszczowych, sposób pozyskiwania olejów oraz zawartość tokochromanoli i fitosteroli. Istotne znaczenie miał także skład substancji czynnych. Znaczna przewaga γ -tokoferolu w składzie tokochromanoli wpływała na lepszą odporność na utlenianie oraz polimeryzację triacylogliceroli. Można to tłumaczyć mechanizmem, w którym γ -tokoferol w warunkach wysokiej temperatury rozkłada się do dwóch substancji o właściwościach przeciwutleniających. Ograniczenie utleniania oraz polimeryzacji TAG można również powiązać z wysoką zawartością rzadko występującego w olejach lupeolu, obecnego w oleju z łubinu SFE, który może wykazywać właściwości przeciwutleniające, dzięki występowaniu w jego bocznym łańcuchu nienasyconego wiązania w pozycji C-21.
3. W I etapie badań, w przypadku olejów o wysokiej zawartości jednonienasyconych kwasów tłuszczowych wszystkie dodatki miały podobną aktywność zarówno w temperaturze 170 jak i 200°C biorąc pod uwagę końcową zawartość związków polarnych. W podobny sposób ograniczały także powstawanie utlenionych monomerów triacylogliceroli. Dodatek oleju z kolendry i pestek moreli jedynie w niewielkim stopniu lepiej hamował proces polimeryzacji i powstawanie dimerów triacylogliceroli w porównaniu do dodatku zimnotłoczonego oleju rzepakowego.
4. W II etapie badań najbardziej skutecznym dodatkiem w ograniczaniu utleniania i polimeryzacji triacylogliceroli był olej z łubinu SFE, co można było zaobserwować na podstawie znacznie niższych przyrostów zawartości związków polarnych, utlenionych triacylogliceroli oraz dimerów. Jego aktywność była porównywalna z aktywnością TBHQ mierzoną zawartością związków polarnych oraz utlenionych triacylogliceroli oraz ponad dwukrotnie wyższa biorąc pod uwagę końcową zawartość dimerów triacylogliceroli. Wysoka aktywność mieszanek z olejem z łubinu SFE mogła być spowodowana wysoką zawartością tokochromanoli i fitosteroli oraz ich unikalnym składem.
5. W III etapie badań dodatek oleju z czarnuszki oraz olejku eterycznego nie ograniczał w istotnym stopniu degradacji otrzymanych mieszanin na bazie oleju rzepakowego. Wyjątkiem były próby z dodatkiem 10% zimnotłoczonego oleju z czarnuszki oraz 0,1% olejku eterycznego z czarnuszki ogrzewane w 200°C. Ograniczały one procesy utleniania triacylogliceroli, a dodatek oleju także proces powstawania dimerów. Dodatek 20% zimnotłoczonego oleju z czarnuszki powodował znaczne nasilenie degradacji otrzymanego oleju pod względem zawartości związków polarnych, utlenionych monomerów oraz dimerów TAG. Mogło to wynikać ze zwiększenia stopnia nienasycenia otrzymanej mieszanki.

6. Aktywność dodatków na bazie czarnuszki w ograniczaniu utleniania triacylogliceroli, która ujawnia się w 200°C może wynikać z wyższej aktywności Δ^5 -stigmasterolu w wyższych temperaturach. Podobny mechanizm mógłby tłumaczyć działanie olejku eterycznego z czarnuszki, którego składniki w podwyższonej temperaturze są nietrwałe, ale mogą ulegać przekształceniu do innych bardziej stabilnych form wykazujących właściwości ochronne.
7. W większości prób poddanych ogrzewaniu obserwowano gwałtowny spadek zawartości tokochromnoli, który był uzależniony od temperatury ogrzewania. W temperaturze 200°C w większości prób obserwowano prawie całkowitą ich degradację. Wyjątek stanowiły próby z dodatkiem TBHQ oraz 25% oleju z łubinu, które charakteryzowały się wysoką stabilnością tokochromanoli w 170°C, a w przypadku próby z dodatkiem 25% oleju z łubinu także w 200°C.
8. Najmniej stabilnym homologiem tokoferoli był α -tokoferol, a najbardziej odpornym na degradację był δ -tokoferol, co jest zgodne z mechanizmem objaśniającym właściwości przeciwutleniające tokoferoli w oparciu o energię odłączenia atomu oraz liczbę i pozycję podstawników metylowych w pierścieniu benzenowym.
9. Analiza PCA w I i III etapie wykazała niewielkie różnicowanie między próbami nieogrzanyymi i ogrzanyymi w 170°C oraz widoczne różnicowanie między wynikami prób ogrzanych w 170 i 200°C, co wskazuje na znaczne pogłębienie procesów degradacyjnych w temperaturze 200°C. W II etapie badań również obserwowano różnicowanie między próbami, jednakże wynikało ono nie tylko z zastosowanej temperatury ogrzewania, ale także w dużym stopniu z zastosowanego dodatku.
10. Należy zauważyć, że wpływ poszczególnych substancji czynnych na zmniejszenie degradacji olejów podczas obróbki cieplnej, w tym polimeryzacji TAG, jest bardzo złożony i wymaga dalszych badań m.in. pod względem optymalnej zawartości i składu poszczególnych substancji w olejach, a także ich formy (wolnej lub zestryfikowanej), ich interakcji z matrycą i innymi przeciwutleniaczami oraz znaczeniem warunków procesu smażenia.

15. Literatura

1. Ahangari, H., King, J. W., Ehsani, A., & Yousefi, M. (2021). Supercritical fluid extraction of seed oils – A short review of current trends. *Trends in Food Science & Technology*, *111*, 249–260. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.066>
2. Aksoylu Özbek, Z., & Günç Ergönül, P. (2020). Cold pressed pumpkin seed oil. *Cold Pressed Oils*, 219–229. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818188-1.00018-9>
3. Al Faruq, A., Khatun, M. H. A., Azam, S. M. R., Sarker, M. S. H., Mahomud, M. S., & Jin, X. (2022). Recent advances in frying processes for plant-based foods. *Food Chemistry Advances*, *1*, 100086. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100086>
4. Al Juhaimi, F., Özcan, M. M., Ghafoor, K., Babiker, E. E., & Hussain, S. (2018). Comparison of cold-pressing and soxhlet extraction systems for bioactive compounds, antioxidant properties, polyphenols, fatty acids and tocopherols in eight nut oils. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(8), 3163–3173. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3244-5>
5. Aladedunye, F. (2016). Toxic contaminants of thermo-oxidatively processed edible oils/fats. *Lipid Technology*, *27*(7), 117–121. <https://doi.org/10.1002/lite.201600032>
6. Aladedunye, F. A., & Przybylski, R. (2013). Minor components in oils and their effects on frying performance. *Lipid Technology*, *25*(4), 87–90. <https://doi.org/10.1002/lite.201300267>
7. Aladedunye, F., & Gruczynska, E. (2018). Configuring Phenolic Antioxidants for Frying Applications. In *Encyclopedia of Food Chemistry*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.21659-4>
8. Aladedunye, F., & Matthäus, B. (2014). Phenolic extracts from *Sorbus aucuparia* (L.) and *Malus baccata* (L.) berries: Antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage. *Food Chemistry*, *159*, 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.139>
9. Aladedunye, F., & Przybylski, R. (2013). Frying stability of high oleic sunflower oils as affected by composition of tocopherol isomers and linoleic acid content. *Food Chemistry*, *141*(3), 2373–2378. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.061>
10. Aladedunye, F., Przybylski, R., & Matthaus, B. (2017). Performance of antioxidative compounds under frying conditions: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(8), 1539–1561. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.777686>
11. Ali, A., Waly, M. I., & Devarajan, S. (2019). *Impact of Processing Meat on the Formation of Heterocyclic Amines and Risk of Cancer*. December. <https://doi.org/10.1039/9781788015813-00187>
12. Ali, M. A., & Chew, S. C. (2022). Efficacy of exogenous natural antioxidants in stability of polyunsaturated oils under frying temperature. *Journal of Food Measurement and Characterization*. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01601-0>
13. Ali Redha, A. (2021). Review on Extraction of Phenolic Compounds from Natural Sources Using Green Deep Eutectic Solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *69*(3), 878–912. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06641>

14. Aljahdali, N., & Carbonero, F. (2019). Impact of Maillard reaction products on nutrition and health: Current knowledge and need to understand their fate in the human digestive system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 474–487. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1378865>
15. Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Al-Mahasneh, M. A., Almajwal, A., Gammoh, S., Ereifej, K., Johargy, A., & Alli, I. (2017). A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. *Food Chemistry*, 218, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.057>
16. An, K. J., Liu, Y. L., & Liu, H. L. (2017). Relationship between total polar components and polycyclic aromatic hydrocarbons in fried edible oil. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 34(9), 1596–1605. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1338835>
17. Anderson, K. E., Kadlubar, F. F., Kulldorff, M., Harnack, L., Gross, M., Lang, N. P., Barber, C., Rothman, N., & Sinha, R. (2005). *Short Communication Dietary Intake of Heterocyclic Amines and Benzo(a)Pyrene: Associations with Pancreatic Cancer*. 14(September), 2261–2266. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0514>
18. Ardabili, A. G., Farhoosh, R., & Khodaparast, M. H. H. (2010). Frying stability of canola oil in presence of pumpkin seed and olive oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(8), 871–877. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200900257>
19. Asadi, Y., & Farahmandfar, R. (2020). Frying stability of canola oil supplemented with ultrasound-assisted extraction of Teucrium polium. *Food Science and Nutrition*, 8(2), 1187–1196. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1405>
20. Assmann, G., & Seedorf, U. (2011). Phytosterols, Plasma Lipids and CVD Risk. *Nutritional and Metabolic Bases of Cardiovascular Disease*, 224–228. <https://doi.org/10.1002/9781444318456.ch29>
21. Athanasiadis, V., Chatzimitakos, T., Kalompatsios, D., Palaogiannis, D., Makrygiannis, I., Bozinou, E., & Lalas, S. I. (2023). Evaluation of the Efficacy and Synergistic Effect of α - and δ -Tocopherol as Natural Antioxidants in the Stabilization of Sunflower Oil and Olive Pomace Oil during Storage Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2). <https://doi.org/10.3390/ijms24021113>
22. Augustsson, K., Skog, K., Jägerstad, M., Dickman, P. W., & Steineck, G. (1999). Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study. *Lancet*, 353(27), 703–707. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)06099-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)06099-1)
23. Azzi, A. (2018). Many tocopherols, one vitamin E. *Molecular Aspects of Medicine*, 61, 92–103. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.06.004>
24. Bai, G., Ma, C.-G., & Chen, X.-W. (2020). Phytosterols in edible oil: Distribution, analysis and variation during processing. *Grain & Oil Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2020.12.003>
25. Bakhia, N., & Appel, K. E. (2010). Toxicity and carcinogenicity of furan in human diet. *Archives of Toxicology*, 84(7), 563–578. <https://doi.org/10.1007/s00204-010-0531-y>
26. Barouh, N., Bourlieu-Lacanal, C., Figueroa-Espinoza, M. C., Durand, E., & Villeneuve, P.

- (2022). Tocopherols as antioxidants in lipid-based systems: The combination of chemical and physicochemical interactions determines their efficiency. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(1), 642–688. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12867>
27. Baschieri, A., Ajvazi, M. D., Tonfack, J. L. F., Valgimigli, L., & Amorati, R. (2017). Explaining the antioxidant activity of some common non-phenolic components of essential oils. *Food Chemistry*, 232, 656–663. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.036>
 28. Bastaki, M., Lu, V., Aubanel, M., Cachet, T., Demyttenaere, J., Diop, M. M., Etter, S., Han, X., Harman, C. L., Hayashi, S. mo, Keig-Shevlin, Z., Krammer, G., Renskers, K. J., Schnabel, J., & Taylor, S. V. (2019). 2,4-Decadienal does not induce genotoxic effects in in vivo micronucleus studies. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 846(May), 503082. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.503082>
 29. Batool, Z., Xu, D., Zhang, X., Li, X., Li, Y., Chen, Z., Li, B., & Li, L. (2021). A review on furan: Formation, analysis, occurrence, carcinogenicity, genotoxicity and reduction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(3), 395–406. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1734532>
 30. Belayneh, H. D., Wehling, R. L., Reddy, A. K., Cahoon, E. B., & Ciftci, O. N. (2017). Ethanol-Modified Supercritical Carbon Dioxide Extraction of the Bioactive Lipid Components of *Camelina sativa* Seed. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(6), 855–865. <https://doi.org/10.1007/s11746-017-2993-z>
 31. Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Huđek, A., Bačun-Družina, V., & Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813572-3.00001-4>
 32. Bensid, A., El Abed, N., Houicher, A., Regenstein, J. M., & Özogul, F. (2022). Antioxidant and antimicrobial preservatives: Properties, mechanism of action and applications in food—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(11), 2985–3001. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1862046>
 33. Berdahl, D. R., Nahas, R. I., & Barren, J. P. (2010). Synthetic and natural antioxidant additives in food stabilization: current applications and future research. In E. A. Decker (Ed.), *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications* (pp. 272–320). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857090447.2.272>
 34. Besaratinia, A., & Pfeifer, G. P. (2004). Genotoxicity of acrylamide and glycidamide. *Journal of the National Cancer Institute*, 96(13), 1023–1029. <https://doi.org/10.1093/jnci/djh186>
 35. Bhatt, T., & Patel, K. (2020). Carotenoids: Potent to Prevent Diseases Review. *Natural Products and Bioprospecting*, 10(3), 109–117. <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00244-2>
 36. Billek, G. (2000). Health aspects of thermoxidized oils and fats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(8–9), 587–593. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200009\)102:8/9<587::AID-EJLT587>3.3.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200009)102:8/9<587::AID-EJLT587>3.3.CO;2-R)
 37. Blekas, G., & Boskou, D. (2016). Phytosterols and Frying Oils. In *Frying of Food Oxidation, Nutrient and Non-Nutrient Antioxidants, Biologically Active Compounds and High Temperatures* (2nd ed., pp. 223–248).

38. Boskou, D. (2015). Olive Fruit, Table Olives, and Olive Oil Bioactive Constituents. In *Olive and Olive Oil Bioactive Constituents* (pp. 1–30). AOCS Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-041-2.50007-0>
39. Boskou, G., Salta, F. N., Chiou, A., Troullidou, E., & Andrikopoulos, N. K. (2006). Content of trans,trans-2,4-decadienal in deep-fried and pan-fried potatoes. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *108*(2), 109–115. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200500236>
40. Bozdoğan Konuşkan, D. (2020). Minor bioactive lipids in cold pressed oils. *Cold Pressed Oils*, 7–14. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-818188-1.00002-5>
41. Bradford, P. G., & Awad, A. B. (2007). Phytosterols as anticancer compounds. *Molecular Nutrition and Food Research*, *51*(2), 161–170. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600164>
42. Brühl, L. (2014). Fatty acid alterations in oils and fats during heating and frying. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *116*(6), 707–715. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300273>
43. Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, *14*(5), 323–328. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200008\)14:5<323::AID-PTR621>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200008)14:5<323::AID-PTR621>3.0.CO;2-Q)
44. Butler, L. M., Sinha, R., Millikan, R. C., Martin, C. F., Newman, B., Gammon, M. D., & Sandler, R. S. (2003). *Heterocyclic Amines, Meat Intake, and Association with Colon Cancer in a Population-based Study*. *157*(5), 434–445. <https://doi.org/10.1093/aje/kwf221>
45. Butterfield, D. A., Bader Lange, M. L., & Sultana, R. (2010). Involvements of the lipid peroxidation product, HNE, in the pathogenesis and progression of Alzheimer’s disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1801*(8), 924–929. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2010.02.005>
46. Cahill, L. E., Pan, A., Chiuve, S. E., Sun, Q., Willett, W. C., Hu, F. B., & Rimm, E. B. (2014). Fried-food consumption and risk of type 2 diabetes and coronary artery disease: A prospective study in 2 cohorts of US women and men. *American Journal of Clinical Nutrition*, *100*(2), 667–675. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.084129>
47. Cao, W., Wang, X., Zhang, W., & Wang, X. (2013). Toxic effects of triacylglycerol polymer on macrophages in vitro. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *115*(7), 756–763. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201300020>
48. Chandran, J., Nayana, N., Roshini, N., & Nisha, P. (2017). Oxidative stability, thermal stability and acceptability of coconut oil flavored with essential oils from black pepper and ginger. *Journal of Food Science and Technology*, *54*(1), 144–152. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2446-y>
49. Chang, C., Wu, G., Zhang, H., Jin, Q., & Wang, X. (2020). Deep-fried flavor: characteristics, formation mechanisms, and influencing factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(9), 1496–1514. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1575792>
50. Chang, M., Xu, Y., Li, X., Shi, F., Liu, R., Jin, Q., & Wang, X. (2020). Effects of stigmasterol on the thermal stability of soybean oil during heating. *European Food Research and Technology*, *246*(9), 1755–1763. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03528-6>
51. Cheetangdee, N. (2019). Rice Phenolics: Extraction, Characterization, and Utilization in

- Foods. In *Polyphenols in Plants* (2nd ed.). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813768-0.00015-3>
52. Chen, J., Zhang, L., Li, Y., Zhang, N., Gao, Y., & Yu, X. (2021). The formation, determination and health implications of polar compounds in edible oils: Current status, challenges and perspectives. *Food Chemistry*, 364(June), 130451. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130451>
 53. Cheynier, V. (2012). Phenolic compounds: From plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, 11(2–3), 153–177. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9242-8>
 54. Choe, E., & Min, D. B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*, 72(5). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00352.x>
 55. Choe, Eunok, & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4), 169–186. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x>
 56. Christie, W. W., & Dobson, G. (2000). Formation of cyclic fatty acids during the frying process. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(8–9), 515–520. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200009\)102:8/9<515::aid-ejlt515>3.0.co;2-z](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200009)102:8/9<515::aid-ejlt515>3.0.co;2-z)
 57. Cirillo, G., Parisi, O. I., Restuccia, D., Puoci, F., & Picci, N. (2012). Antioxidant activity of phenolic acids: Correlation with chemical structure and in vitro assays for their analytical determination. In S. Munné-Bosch (Ed.), *Phenolic Acids: Composition, Applications and Health Benefits* (pp. 1–33). Nova Science Publishers Inc., New York.
 58. Condurso, C., Cincotta, F., & Verzera, A. (2018). Determination of furan and furan derivatives in baby food. *Food Chemistry*, 250(November 2017), 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.091>
 59. Cowan, A. K. (2006). Phospholipids as plant growth regulators. *Plant Growth Regulation*, 48(2), 97–109. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-5481-7>
 60. Craft, N. E. (2015). Tocopherols: Properties and Determination. In *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed., pp. 309–318). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00694-2>
 61. Cuco, R. P., Cardozo-Filho, L., & Silva, C. da. (2019). Simultaneous extraction of seed oil and active compounds from peel of pumpkin (*Cucurbita maxima*) using pressurized carbon dioxide as solvent. *Journal of Supercritical Fluids*, 143(August 2018), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.08.002>
 62. Cui, L., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2015). Impact of phosphatidylethanolamine on the antioxidant activity of α -tocopherol and trolox in bulk oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(12), 3288–3294. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00243>
 63. Cui, Y., Hao, P., Liu, B., & Meng, X. (2017). Effect of traditional Chinese cooking methods on fatty acid profiles of vegetable oils. *Food Chemistry*, 233, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.084>
 64. Da Silveira Vasconcelos, M., De Oliveira, L. M. N., Nunes-Pinheiro, D. C. S., Da Silva Mendes, F. R., De Sousa, F. D., De Siqueira Oliveira, L., De Aquino, A. C., De Fátima Goebel De Souza, T., Silva, A. S., Nabavi, S. M., & De Melo, D. F. (2020). Analysis of tetraterpenes and

- tetraterpenoids (carotenoids). *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 427–456. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00012-3>
65. Dana, D., & Saguy, I. S. (2001). Frying of Nutritious Foods: Obstacles and Feasibility. *Food Science and Technology Research*, 7(4), 265–279. <https://doi.org/10.3136/fstr.7.265>
 66. de la Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2018). Phenolic compounds. In *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 253–271). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>
 67. Del Carlo, M., Sacchetti, G., Di Mattia, C., Compagnone, D., Mastrocola, D., Liberatore, L., & Cichelli, A. (2004). Contribution of the phenolic fraction to the antioxidant activity and oxidative stability of olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(13), 4072–4079. <https://doi.org/10.1021/jf049806z>
 68. DellaPenna, D., & Mène-Saffrané, L. (2011). Vitamin E. In *Advances in Botanical Research* (Vol. 59, pp. 179–227). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385853-5.00002-7>
 69. Devi, S., Zhang, M., Ju, R., & Bhandari, B. (2021). Recent development of innovative methods for efficient frying technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(22), 3709–3724. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1804319>
 70. Dobarganes, C., & Márquez-Ruiz, G. (2015). Possible adverse effects of frying with vegetable oils. *British Journal of Nutrition*, 113(S2), S49–S57. <https://doi.org/10.1017/s0007114514002347>
 71. Dobarganes, C., Márquez-Ruiz, G., & Velasco, J. (2000). Interactions between fat and food during deep-frying. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102(8–9), 521–528. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200009\)102:8/9<521::aid-ejlt521>3.0.co;2-a](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200009)102:8/9<521::aid-ejlt521>3.0.co;2-a)
 72. Dobarganes, M. C., & Márquez-Ruiz, G. (2007). Formation and Analysis of Oxidized Monomeric, Dimeric, and Higher Oligomeric Triglycerides. In Michael D. Erickson (Ed.), *Deep Frying: Chemistry, Nutrition, and Practical Applications: Second Edition* (Second, Issue 5, pp. 87–110). AOCs Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-92-9.50012-8>
 73. Drescher, S., & van Hoogevest, P. (2020). The phospholipid research center: Current research in phospholipids and their use in drug delivery. *Pharmaceutics*, 12(12), 1–36. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121235>
 74. Edris, A. E. (2010). Evaluation of the volatile oils from different local cultivars of nigella sativa L. Grown in Egypt with emphasis on the effect of extraction method on thymoquinone. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 13(2), 154–164. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2010.10643805>
 75. Eggersdorfer, M., & Wyss, A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 652(May), 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.06.001>
 76. El Qarnifa, S., El Antari, A., & Hafidi, A. (2019). Effect of Maturity and Environmental Conditions on Chemical Composition of Olive Oils of Introduced Cultivars in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/1854539>
 77. Erickson, Maxwell D., Yevtushenko, D. P., & Lu, Z.-X. (2022). Oxidation and Thermal Degradation of Oil during Frying: A Review of Natural Antioxidant Use. *Food Reviews International*, 00(00), 1–32. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2039689>

78. Erkan, N., Ayranci, G., & Ayranci, E. (2012). Lipid oxidation inhibiting capacities of black seed essential oil and rosemary extract. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(2), 175–184. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201100113>
79. Esterbauer, H. (1993). Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation. *American Journal of Clinical Nursing*, 57(Suppl.), 779S-786S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/57.5.779S>
80. FAS. (n.d.). *Custom Query. Foreign Agricultural Service. United States Department of Agriculture.* Retrieved March 23, 2023, from <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>
81. Fellows, P. J. (2017). Frying. In P. J. Fellows (Ed.), *Food Processing Technology* (Fourth, pp. 783–810). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100522-4.00018-3>
82. Feng, S., Wang, L., Shao, P., Sun, P., & Yang, C. S. (2022). A review on chemical and physical modifications of phytosterols and their influence on bioavailability and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(20), 5638–5657. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1888692>
83. Fernandes, A. S., Nascimento, T. C. do, Jacob-Lopes, E., Rosso, V. V. De, & Zepka, L. Q. (2018). Introductory Chapter: Carotenoids - A Brief Overview on Its Structure, Biosynthesis, Synthesis, and Applications. *Progress in Carotenoid Research*, 1–16. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79542>
84. Fraser, P. D., & Bramley, P. M. (2004). The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*, 43(3), 228–265. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2003.10.002>
85. Gadiraju, T. V., Patel, Y., Gaziano, J. M., & Djoussé, L. (2015). Fried food consumption and cardiovascular health: A review of current evidence. *Nutrients*, 7(10), 8424–8430. <https://doi.org/10.3390/nu7105404>
86. Ganesan, K., Sukalingam, K., & Xu, B. (2019). Impact of consumption of repeatedly heated cooking oils on the incidence of various cancers- A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 488–505. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1379470>
87. Gao, P., Liu, R., Jin, Q., & Wang, X. (2018). Comparison of Different Processing Methods of Iron Walnut Oils (*Juglans sigillata*): Lipid Yield, Lipid Compositions, Minor Components, and Antioxidant Capacity. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(9). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800151>
88. Gharavi, N., Haggarty, S., & S. El-Kadi, A. (2006). Chemoprotective and Carcinogenic Effects of tert-Butylhydroquinone and Its Metabolites. *Current Drug Metabolism*, 8(1), 1–7. <https://doi.org/10.2174/138920007779315035>
89. Główny Urząd Statystyczny. (2013). *Rocznik statystyczny rolnictwa 2021.* 1–449.
90. González-Muñoz, M. J., Bastida, S., & Sánchez-Muniz, F. J. (2003). Short-term in vivo digestibility assessment of a highly oxidized and polymerized sunflower oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 413–418. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1383>
91. Gordon, M. H., & Magos, P. (1983). The effect of sterols on the oxidation of edible oils. *Food Chemistry*, 10(2), 141–147. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(83\)90030-4](https://doi.org/10.1016/0308-8146(83)90030-4)
92. Górnaś, P., Baškirovs, G., & Siger, A. (2022). *Free and Esterified Tocopherols, Tocotrienols*

and Other Extractable and Non-Extractable Tocochromanol-Related Molecules: Compendium of Knowledge, Future Perspectives and Recommendations for Chromatographic Techniques, Tools, and Approaches Used for Tococ. 1–30.

93. Gorzynik-Debicka, M., Przychodzen, P., Cappello, F., Kuban-Jankowska, A., Gammazza, A. M., Knap, N., Wozniak, M., & Gorska-Ponikowska, M. (2018). Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(3). <https://doi.org/10.3390/ijms19030686>
94. Goyal, A., Sharma, V., Upadhyay, N., Gill, S., & Sihag, M. (2014). Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food. *Journal of Food Science and Technology*, *51*(9), 1633–1653. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1247-9>
95. Grajzer, M., Szmalczel, K., Kuźmiński, Ł., Witkowski, M., Kulma, A., & Prescha, A. (2020). Characteristics and Antioxidant Potential of Cold-Pressed Oils—Possible Strategies to Improve Oil Stability. *Foods*, *9*(11), 1630. <https://doi.org/10.3390/foods9111630>
96. Gramza-Michałowska, A., Kulczyński, B., & Sidor, A. (2021). Carotenoids as Food Products Components and Health Promoting Agents. In M. Jeszka-Skowron, A. Zgoła-Grześkowiak, T. Grześkowiak, & A. Ramakrishna (Eds.), *Analytical Methods in the Determination of Bioactive Compounds and Elements in Food* (pp. 101–120). Springer, Cham. <https://doi.org/doi.org/10.1007/978-3-030-61879-7>
97. Graßmann, J. (2005). Terpenoids as Plant Antioxidants. *Vitamins and Hormones*, *72*, 505–535. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(05\)72015-X](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(05)72015-X)
98. Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, *94*(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
99. Guo, Y., Baschieri, A., Amorati, R., & Valgimigli, L. (2021). Synergic antioxidant activity of γ -terpinene with phenols and polyphenols enabled by hydroperoxyl radicals. *Food Chemistry*, *345*(October 2020), 128468. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128468>
100. Guschina, I. A., Everard, J. D., Kinney, A. J., Quant, P. A., & Harwood, J. L. (2014). Studies on the regulation of lipid biosynthesis in plants: Application of control analysis to soybean. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, *1838*(6), 1488–1500. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.02.008>
101. Gylling, H., & Simonen, P. (2015). Phytosterols, phytostanols, and lipoprotein metabolism. *Nutrients*, *7*(9), 7965–7977. <https://doi.org/10.3390/nu7095374>
102. Hamama, A. A., & Bhardwaj, H. L. (2004). *Phytosterols, Triterpene Alcohols, and Phospholipids in Seed Oil from White Lupin*. *81*(11), 483074.
103. Hamed, S. F., Shaaban, H. A., Ramadan, A. A., & Edris, A. E. (2017). Potentials of enhancing the physicochemical and functional characteristics of *Nigella sativa* oil by using the screw pressing technique for extraction. *Grasas y Aceites*, *68*(2), 1–9. <https://doi.org/10.3989/gya.0818162>
104. Hayes, D. G. (2021). Oils and Their Use Beyond the Food Industry. In T. Lafarga, G. Bobo, & I. Aguiló-Aguayo (Eds.), *Oil and Oilseed Processing: Opportunities and Challenges*, (First, pp. 119–148). 1 John Wiley & Sons Ltd All.
105. Hematian Sourki, A., Pasalar, H., & Ghani, A. (2022). Evaluation of Oxidative Stability of

- Cupcake Oil: Comparison of Antioxidant Properties of *Dracocephalum kotschyi* Essential Oil versus TBHQ. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 124(7), 1–10. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202100197>
106. Heredia, A., Castelló, M. L., Argüelles, A., & Andrés, A. (2014). Evolution of mechanical and optical properties of French fries obtained by hot air-frying. *Lwt*, 57(2), 755–760. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.038>
 107. Hosseini, H., Ghorbani, M., Meshginfar, N., & Mahoonak, A. S. (2016). A Review on Frying: Procedure, Fat, Deterioration Progress and Health Hazards. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(4), 445–466. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2791-z>
 108. Hu, Y., Ma, C., Chen, X., Bai, G., & Guo, S. (2022). Hydrophilic phytosterol derivatives: A short review on structural modifications, cholesterol-lowering activity and safety. *Grain and Oil Science and Technology*, 5(3), 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2022.02.001>
 109. Hwang, H. S., Ball, J. C., Doll, K. M., Anderson, J. E., & Vermillion, K. (2020). Investigation of polymers and alcohols produced in oxidized soybean oil at frying temperatures. *Food Chemistry*, 317(February), 126379. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126379>
 110. Hwang, H. S., & Winkler-Moser, J. K. (2016). Oxidative Stability and Shelf Life of Frying Oils and Fried Foods. In *Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-056-6.00007-0>
 111. Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821–1835. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
 112. Ivanova-Petropulos, V., Mitrev, S., Stafilov, T., Markova, N., Leitner, E., Lankmayr, E., & Siegmund, B. (2015). Characterisation of traditional Macedonian edible oils by their fatty acid composition and their volatile compounds. *Food Research International*, 77, 506–514. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.014>
 113. Ixtaina, V. Y., Mattea, F., Cardarelli, D. A., Mattea, M. A., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2011). Supercritical carbon dioxide extraction and characterization of Argentinean chia seed oil. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88(2), 289–298. <https://doi.org/10.1007/s11746-010-1670-2>
 114. Janiszewska, E., & Witrowa-Rajchert, D. (2005). Ekstrakcja nadkrytyczna w przemyśle spożywczym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4(45), 5–16.
 115. Javad, T., Hashemi, B. S. M., Khaneghah, A. M., Barba, F. J., Amorati, R., Kenari, R. E., & Amarowicz, R. (2018). Improving the Frying Performance and Oxidative Stability of Refined Soybean Oil by Tocotrienol-Rich Unsaponifiable Matters of Kolkhoung (*Pistacia khinjuk*) Hull Oil. *J Am Oil Chem Soc*, 95, 619–628. <https://doi.org/10.1002/aocs.12065>
 116. Jiménez, P., García, P., Bustamante, A., Barriga, A., & Robert, P. (2017). Thermal stability of oils added with avocado (*Persea americana* cv. Hass) or olive (*Olea europaea* cv. Arbequina) leaf extracts during the French potatoes frying. *Food Chemistry*, 221, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.051>
 117. Jong-Sun, L., Ji-Won, H., Munyhung, J., Kwang-Won, L., & Myung-Sub, C. (2020). Effects of Thawing and Frying Methods on the Formation of Acrylamide and Polycyclic Aromatic.

Foods, 9(5), 573.

118. Julian, D., & Eric, M. (2013). *Impact of Free Fatty Acids and Phospholipids on Reverse Micelles Formation and Lipid Oxidation in Bulk Oil*. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2388-8>
119. Kalogianni, E. P., Karapantsios, T. D., & Miller, R. (2011). Effect of repeated frying on the viscosity, density and dynamic interfacial tension of palm and olive oil. *Journal of Food Engineering*, 105(1), 169–179. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.021>
120. Kamal-Eldin; Afaf. (2019). Antioxidative Activity of Vitamin E. In P. Weber, M. Birringer, J. B. Blumberg, M. Eggersdorfer, & F. Jan (Eds.), *Vitamin E in Human Health* (pp. 19–30). Humana Cham.
121. Kamal-Eldin, A. (2006). Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(12), 1051–1061. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600090>
122. Kamal-Eldin, A., & Appelqvist, L. Å. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671–701. <https://doi.org/10.1007/BF02522884>
123. Kazemi, M. (2014a). Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* L. Essential Oil. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 17(5), 1002–1011. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.914857>
124. Kazemi, M. (2014b). Phytochemical Composition, Antioxidant, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of *Nigella sativa* L. Essential Oil. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 17(5), 1002–1011. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.914857>
125. Khan, M. A., & Shahidi, F. (2001). Effects of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of borage and evening primrose triacylglycerols. *Food Chemistry*, 75(4), 431–437. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00232-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00232-1)
126. Kim, J. Y., Oh, S., Yi, B., Kim, M. J., & Lee, J. H. (2015). Synergism of phosphatidylcholine on the antioxidant properties of α -tocopherol in corn oils under different relative humidity. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(6), 1421–1428. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12793>
127. Kiralan, M., Kiralan, S. S., Ozkan, G., & Ramadan, M. F. (2021). Composition and functionality of *Nigella sativa* fixed oil. In M. F. Ramadan (Ed.), *Black Cumin (Nigella sativa) Seeds: Chemistry, Technology, Functionality, and Applications* (pp. 319–333). Springer, Cham.
128. Kiran, C. R., Sasidharan, I., & Kumar, D. R. S. (2015). Influence of natural and synthetic antioxidants on the degradation of Soybean oil at frying temperature. *Journal of Food Science and Technology*, 52(8), 5370–5375. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1774-7>
129. Kmiecik, D., Fedko, M., Rudzińska, M., Siger, A., Gramza-Michałowska, A., & Kobus-Cisowska, J. (2020). Thermo-Oxidation of Phytosterol Molecules in Rapeseed Oil during Heating: The Impact of Unsaturation Level of the Oil. *Foods*, 10(1), 50. <https://doi.org/10.3390/foods10010050>
130. Kmiecik, D., Fedko, M., Siger, A., & Kulczyński, B. (2019). Degradation of tocopherol molecules and its impact on the polymerization of triacylglycerols during heat treatment of

oil. *Molecules*, 24, 4555. <https://doi.org/10.3390/molecules24244555>

131. Kmiecik, D., Gramza-Michałowska, A., & Korczak, J. (2018). Anti-polymerization activity of tea and fruits extracts during rapeseed oil heating. *Food Chemistry*, 239, 858–864. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.025>
132. Kmiecik, D., & Korczak, J. (2010). Tłuszcz smażalnicze – jakość, degradacja termiczna i ochrona. *Nauka Przyroda Technologie*, 2(4), 1–11. http://www.npt.up-poznan.net/tom4/zeszyt1/art_2.pdf
133. Kmiecik, D., Korczak, J., Rudzińska, M., Kobus-Cisowska, J., Gramza-Michałowska, A., & Hęś, M. (2011). β -Sitosterol and campesterol stabilisation by natural and synthetic antioxidants during heating. *Food Chemistry*, 128(4), 937–942. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.122>
134. Kochhar, S. P. (2000). Stabilisation of frying oils with natural antioxidative components. *Eur.J.Lipid Sci.Technol.*, 102(8/9), 552–559. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200009\)102:8/9<552::AID-EJLT552>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200009)102:8/9<552::AID-EJLT552>3.0.CO;2-V)
135. Kochhar, S. P., & Gertz, C. (2004). New theoretical and practical aspects of the frying process. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(11), 722–727. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200400996>
136. Kopanska, M., Muchacka, R., Czech, J., Batoryna, M., & Formicki, G. (2018). Acrylamide toxicity and cholinergic nervous system. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 69(6), 847–858. <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.6.03>
137. Korczak, J., & Kmiecik, D. (2016). Proces smażenia. In E. Czarniecka-Skubina (Ed.), *Technologia Gastronomiczna* (I, pp. 108–134). Wydawnictwo SGGW.
138. Korczak, J., & Nogal-Kałużka, M. (2015). Przeciwutleniacze w żywności. In J. Czapski & D. Górecka (Eds.), *Żywność prozdrowotna - składniki i technologia* (pp. 85–99). Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.
139. Kostadinovic-Velickovska, S., & Mitrev, S. (2013). Characterization of fatty acid profile, polyphenolic content and antioxidant activity of cold pressed and refined edible oils from Macedonia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1–6. <http://www.escijournals.net/JFCN>
140. Kostadinović Veličkovska, S., Brühl, L., Mitrev, S., Mirhosseini, H., & Matthäus, B. (2015). Quality evaluation of cold-pressed edible oils from Macedonia. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(12), 2023–2035. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400623>
141. Koszucka, A., & Nowak, A. (2019). Thermal processing food-related toxicants: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(22), 3579–3596. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1500440>
142. Koubaa, M., Mhemdi, H., Barba, F. J., Angelotti, A., Bouaziz, F., Chaabouni, S. E., & Vorobiev, E. (2017). Seed oil extraction from red prickly pear using hexane and supercritical CO₂: assessment of phenolic compound composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(2), 613–620. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7774>
143. Langi, P., Kiokias, S., Varzakas, T., & Proestos, C. (2018). Carotenoids: From plants to food

- and feed industries. *Methods in Molecular Biology*, 1852, 57–71. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8742-9_3
144. Lars, M., Theile, K., & Bo, V. (2010). *In vitro antioxidant activity of tocopherols and tocotrienols and comparison of vitamin E concentration and lipophilic antioxidant capacity in human plasma*. 731–742. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900399>
 145. Lemus, C., Angelis, A., Halabalaki, M., & Skaltsounis, A. L. (2014). γ -Oryzanol: an attractive bioactive component from rice bran. In *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health* (pp. 409–430). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-401716-0.00032-5>
 146. Lerma-García, M. J., Herrero-Martínez, J. M., Simó-Alfonso, E. F., Mendonça, C. R. B., & Ramis-Ramos, G. (2009). Composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol. *Food Chemistry*, 115(2), 389–404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.063>
 147. Li, L. H., Lee, J. C. Y., Leung, H. H., Lam, W. C., Fu, Z., & Lo, A. C. Y. (2020). Lutein supplementation for eye diseases. *Nutrients*, 12(6), 1–27. <https://doi.org/10.3390/nu12061721>
 148. Li, X., Wu, G., Wu, Y., Karrar, E., Huang, J., Jin, Q., Zhang, H., & Wang, X. (2020). Effectiveness of the rapid test of polar compounds in frying oils as a function of environmental and compositional variables under restaurant conditions. *Food Chemistry*, 312(June 2019). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126041>
 149. Lin, P., Lee, H. L., Cheng, H. I., Chen, C. Y., Tsai, M. H., & Liu, H. J. (2014). Metabolomic profiling of mice urine and serum associated with trans-trans 2, 4-decadienal induced lung lesions by liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(17), 4287–4297. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7681-3>
 150. Lin, Y., Knol, D., Valk, I., van Andel, V., Friedrichs, S., Lütjohann, D., Hrncirik, K., & Trautwein, E. A. (2017). Thermal stability of plant sterols and formation of their oxidation products in vegetable oils and margarines upon controlled heating. *Chemistry and Physics of Lipids*, 207, 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.01.007>
 151. Liu, R., Xu, Y., Chang, M., Tang, L., Lu, M., Liu, R., Jin, Q., & Wang, X. (2021). Antioxidant interaction of α -tocopherol, γ -oryzanol and phytosterol in rice bran oil. *Food Chemistry*, 343(September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128431>
 152. Liu, X., Xia, B., Hu, L. T., Ni, Z. J., Thakur, K., & Wei, Z. J. (2020). Maillard conjugates and their potential in food and nutritional industries: A review. *Food Frontiers*, 1(4), 382–397. <https://doi.org/10.1002/fft2.43>
 153. Lopes, I. M. G., & Bernardo-Gil, M. G. (2005). Characterisation of acorn oils extracted by hexane and by supercritical carbon dioxide. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 107(1), 12–19. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200401039>
 154. López-Varela, S., Sánchez-Muniz, F. J., & Cuesta, C. (1995). Decreased food efficiency ratio, growth retardation and changes in liver fatty acid composition in rats consuming thermally oxidized and polymerized sunflower oil used for frying. *Food and Chemical Toxicology*, 33(3), 181–185. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(94\)00133-9](https://doi.org/10.1016/0278-6915(94)00133-9)
 155. Mahanta, B. P., Bora, P. K., Kemprai, P., Borah, G., Lal, M., & Haldar, S. (2021). Thermolabile

- essential oils, aromas and flavours: Degradation pathways, effect of thermal processing and alteration of sensory quality. *Food Research International*, 145(April), 110404. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110404>
156. Makahleh, A., Saad, B., & Bari, M. F. (2015). Synthetic phenolics as antioxidants for food preservation. In F. Shahidi (Ed.), *Handbook of Antioxidants for Food Preservation* (pp. 51–78). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00003-8>
 157. Manochkumar, J., Doss, C. G. P., El-Seedi, H. R., Efferth, T., & Ramamoorthy, S. (2021). The neuroprotective potential of carotenoids in vitro and in vivo. *Phytomedicine*, 91(July), 153676. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153676>
 158. Manzoor, S., Masoodi, F. A., Rashid, R., & Dar, M. M. (2022). Improving oxidative stability of soyabean oil by apple pomace extract during deep frying of french fries. *Food Bioscience*, 49(June), 101874. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101874>
 159. Maoka, T. (2020). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines*, 74(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
 160. Márquez-Ruiz, G., Guevel, G., & Dobarganes, M. C. (1998). Applications of chromatographic techniques to evaluate enzymatic hydrolysis of oxidized and polymeric triglycerides by pancreatic lipase in vitro. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 119–126. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0021-z>
 161. Márquez-Ruiz, G., Pérez-Camino, M. C., & Dobarganes, M. C. (1992). Digestibility of fatty acid monomers, dimers and polymers in the rat. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 69(9), 930–934. <https://doi.org/10.1007/BF02636346>
 162. Márquez-Ruiz, G., Ruiz-Méndez, M. V., Velasco, J., & Dobarganes, C. (2010). Preventing oxidation during frying of foods. *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications*, 239–273. <https://doi.org/10.1533/9780857090331.2.239>
 163. Márquez-Ruiz, Gloria, & Dobarganes, M. C. (2007). Nutritional and Physiological Effects of Used Frying Oils and Fats. In Michael D. Erickson (Ed.), *Deep Frying: Chemistry, Nutrition, and Practical Applications: Second Edition* (Second, pp. 173–203). AOCS Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-92-9.50015-3>
 164. Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. Bin, Nainu, F., & Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry: X*, 13(October 2021), 100217. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217>
 165. Milos, M., & Makota, D. (2012). Investigation of antioxidant synergisms and antagonisms among thymol, carvacrol, thymoquinone and p-cymene in a model system using the Briggs-Rauscher oscillating reaction. *Food Chemistry*, 131(1), 296–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.042>
 166. Minatel, I. O., Francisqueti, F. V., Corrêa, C. R., & Pereira Lima, G. P. (2016). Antioxidant activity of γ-oryzanol: A complex network of interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/ijms17081107>
 167. Miras-Moreno, B., Sabater-Jara, A. B., Pedreno, M. A., & Almagro, L. (2016). Bioactivity of

- Phytosterols and Their Production in Plant in Vitro Cultures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(38), 7049–7058. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02345>
168. Mishra, S. K., Belur, P. D., & Iyyaswami, R. (2021). Use of antioxidants for enhancing oxidative stability of bulk edible oils: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14716>
 169. Mohammed, N. K., Abd Manap, M. Y., Tan, C. P., Muhialdin, B. J., Alhelli, A. M., & Hussin, A. S. M. (2016). The Effects of Different Extraction Methods on Antioxidant Properties, Chemical Composition, and Thermal Behavior of Black Seed (*Nigella sativa* L.) Oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016(August). <https://doi.org/10.1155/2016/6273817>
 170. Morales, J. C., & Lucas, R. (2010). Structure-Activity Relationship of Phenolic Antioxidants and Olive Components. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00097-8>
 171. Moreau, R. A., Nyström, L., Whitaker, B. D., Winkler-Moser, J. K., Baer, D. J., Gebauer, S. K., & Hicks, K. B. (2018). Phytosterols and their derivatives: Structural diversity, distribution, metabolism, analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research*, 70(April), 35–61. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.001>
 172. Moreau, R. A., Whitaker, B. D., & Hicks, K. B. (2002). Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: Structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research*, 41(6), 457–500. [https://doi.org/10.1016/S0163-7827\(02\)00006-1](https://doi.org/10.1016/S0163-7827(02)00006-1)
 173. Murkovic, M. (2016). Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis. In *Encyclopedia of Food and Health* (1st ed., pp. 346–351). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00539-0>
 174. Murkovic, Michael. (2004). Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic aromatic amines in fried products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(11), 777–785. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200400993>
 175. Myszka, K., Schmidt, M. T., Majcher, M., Juzwa, W., & Czaczyk, K. (2017). β -Caryophyllene-rich pepper essential oils suppress spoilage activity of *Pseudomonas fluorescens* KM06 in fresh-cut lettuce. *LWT - Food Science and Technology*, 83, 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.012>
 176. Nde, D. B., & Anuanwen, C. F. (2020). Optimization methods for the extraction of vegetable oils: A review. *Processes*, 8(2). <https://doi.org/10.3390/pr8020209>
 177. Negishi, S., Itakura, M., Arimoto, S., Nagasawa, T., & Tsuchiya, K. (2003). Measurement of foaming of frying oil and effect of the composition of TG on foaming. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80(5), 471–474. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0722-0>
 178. Neri-Numa, I. A., Arruda, H. S., Geraldi, M. V., Maróstica Júnior, M. R., & Pastore, G. M. (2020). Natural prebiotic carbohydrates, carotenoids and flavonoids as ingredients in food systems. *Current Opinion in Food Science*, 33, 98–107. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.03.004>

179. Nes, W. D. (2011). Biosynthesis of cholesterol and other sterols. *Chemical Reviews*, *111*(10), 6423–6451. <https://doi.org/10.1021/cr200021m>
180. Niki, E., & Traber, M. G. (2012). A history of vitamin E. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *61*(3), 207–212. <https://doi.org/10.1159/000343106>
181. Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, *275*(May 2018), 644–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083>
182. Nyström, L., Achrenius, T., Lampi, A. M., Moreau, R. A., & Piironen, V. (2007). A comparison of the antioxidant properties of steryl ferulates with tocopherol at high temperatures. *Food Chemistry*, *101*(3), 947–954. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.046>
183. Nyström, L., Schär, A., & Lampi, A. M. (2012). Steryl glycosides and acylated steryl glycosides in plant foods reflect unique sterol patterns. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *114*(6), 656–669. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201200033>
184. Obranović, M., Škevin, D., Kraljić, K., Pospišil, M., Nederal, S., Blekić, M., & Putnik, P. (2015). Influence of climate, variety and production process on tocopherols, plastochromanol-8 and pigments in flaxseed oil. In *Food Technology and Biotechnology* (Vol. 53, Issue 4, pp. 496–504). <https://doi.org/10.17113/ftb.53.04.15.4252>
185. Olmedo, R. H., Asensio, C. M., & Grosso, N. R. (2015). Thermal stability and antioxidant activity of essential oils from aromatic plants farmed in Argentina. *Industrial Crops and Products*, *69*, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.005>
186. Oroian, M., & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, *74*, 10–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>
187. Orthoefer, F. T., & List, G. R. (2007). Evaluation of Used Frying Oil. In *Deep Frying: Chemistry, Nutrition, and Practical Applications: Second Edition* (Second Edi, Issue 8). AOCS Press. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-92-9.50024-4>
188. Palmieri, S., Pellegrini, M., Ricci, A., Compagnone, D., & Lo Sterzo, C. (2020). Chemical composition and antioxidant activity of thyme, hemp and coriander extracts: A comparison study of maceration, soxhlet, UAE and RSLDE techniques. *Foods*, *9*(9). <https://doi.org/10.3390/foods9091221>
189. Perez-Herrera, A., Rangel-Zuñiga, O. A., Delgado-Lista, J., Marin, C., Perez-Martinez, P., Tasset, I., Tunes, I., Quintana-Navarro, G. M., Lopez-Segura, F., De Castro, M. D. L., Lopez-Miranda, J., Camargo, A., & Perez-Jimenez, F. (2013). The antioxidants in oils heated at frying temperature, whether natural or added, could protect against postprandial oxidative stress in obese people. *Food Chemistry*, *138*(4), 2250–2259. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.12.023>
190. Pieszka, M., Migda, W. B. B. B., Robert, G., N, M. R., A, D. B.-, Pieszka, M., & Szczurek, P. (2015). *Native Oils from Apple, Blackcurrant, Raspberry, and Strawberry Seeds as a Source of Polyenoic Fatty Acids, Tocochromanols, and Phytosterols: A Health Implication. 2015.*
191. Piras, A., Rosa, A., Marongiu, B., Porcedda, S., Falconieri, D., Dessì, M. A., Ozcelik, B., & Koca, U. (2013). Chemical composition and in vitro bioactivity of the volatile and fixed oils

- of *Nigella sativa* L. extracted by supercritical carbon dioxide. *Industrial Crops and Products*, 46, 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.013>
192. Poli, A., Marangoni, F., Corsini, A., Manzato, E., Marrocco, W., Martini, D., Medea, G., & Visioli, F. (2021). Phytosterols, cholesterol control, and cardiovascular disease. *Nutrients*, 13(8), 1–13. <https://doi.org/10.3390/nu13082810>
193. PSPO. (2023). Przerób rzepaku w 2022 roku utrzymuje się na rekordowym poziomie. *Oil Express (Polskie Stowarzyszenie Producentów Oleju)*, 132(II), 2. <https://www.pspo.com.pl/publications/8d226451853d5ee33d1147a09ec3b558be8046d3.pdf>
194. Qureshi, A. A., Mo, H., Packer, L., & Peterson, D. M. (2000). Isolation and identification of novel tocotrienols from rice bran with hypocholesterolemic, antioxidant, and antitumor properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3130–3140. <https://doi.org/10.1021/jf000099t>
195. Ramadan, M. F., & Moersel, J. T. (2006). Screening of the antiradical action of vegetable oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(8), 838–842. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.02.013>
196. Rani, H., Sharma, S., & Bala, M. (2021). Technologies for extraction of oil from oilseeds and other plant sources in retrospect and prospects: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 44(11), 1–19. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13851>
197. Ribeiro, D., Freitas, M., Silva, A. M. S., Carvalho, F., & Fernandes, E. (2018). Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 681–699. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.07.060>
198. Rohrmann, S., Hermann, S., & Linseisen, J. (2009). Heterocyclic aromatic amine intake increases colorectal adenoma risk: Findings from a prospective European cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89(5), 1418–1424. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26658>
199. Rój, E. (2000). *Ekstrakcja surowców roślinnych w warunkach nadkrytycznych z użyciem CO₂* (pp. 413–428).
200. Rokosik, E., Dwiecki, K., & Siger, A. (2019). The quality of cold-pressed rapeseed oil obtained from seeds of *Brassica napus* L. with increased moisture content. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 18(2), 205–218. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2019.0672>
201. Rokosik, E., Siger, A., Rudzińska, M., & Dwiecki, K. (2020). Antioxidant activity and synergism of canolol and α -tocopherol in rapeseed oil is affected by the presence of phospholipid association colloids. *LWT*, 33, 110095. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110095>
202. Rokosik, E., Siger, A., Rudzińska, M., Siejak, P., & Dwiecki, K. (2020). Formation of Phospholipid Association Colloids in Rapeseed Oil and Their Effect on Lipid Autoxidation in the Presence of Sinapic and Ferulic Acid. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(2). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900243>
203. Rowles, J. L., & Erdman, J. W. (2020). Carotenoids and their role in cancer prevention.

- Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(11), 158613. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158613>
204. Rozner, S., & Garti, N. (2006). The activity and absorption relationship of cholesterol and phytosterols. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 282–283(October 2005), 435–456. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.12.032>
 205. Rudzińska, M. (2015). Sterole roślinne. In *Żywność prozdrowotna - składniki i technologia* (pp. 210–219). Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.
 206. Ruelland, E., Kravets, V., Derevyanchuk, M., Martinec, J., Zachowski, A., & Pokotylo, I. (2015). Role of phospholipid signalling in plant environmental responses. *Environmental and Experimental Botany*, 114, 129–143. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.08.009>
 207. Sabally, K., Sleno, L., Jauffrit, J., Iskandar, M. M., & Kubow, S. (2016). Inhibitory effects of apple peel polyphenol extract on the formation of heterocyclic amines in pan fried beef patties. *MESCI*, 117, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.040>
 208. Sabikhi, L., & Sathish Kumar, M. H. (2012). Fatty Acid Profile of Unconventional Oilseeds. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 67). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394598-3.00004-6>
 209. Sahena, F., Zaidul, I. S. M., Jinap, S., Karim, A. A., Abbas, K. A., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2009). Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. *Journal of Food Engineering*, 95(2), 240–253. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026>
 210. Sánchez-Muniz, F. J., Bastida, S., Márquez-Ruiz, G., & Dobarganes, C. (2007). Effect of Heating and Frying on Oil and Food Fatty Acids. In C. K. Chow (Ed.), *Fatty Acids in Foods and their Health Implications* (pp. 511–544). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420006902>
 211. Sánchez-Muniz, F. J., López-Varela, S., Garrido-Polonio, M. C., & Cuesta, C. (1998). Dietary effects on growth, liver peroxides, and serum and lipoprotein lipids in rats fed a thermoxidised and polymerised sunflower oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(3), 364–372. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199803\)76:3<364::AID-JSFA951>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199803)76:3<364::AID-JSFA951>3.0.CO;2-E)
 212. Sandmann, G. (2021). Diversity and origin of carotenoid biosynthesis: its history of coevolution towards plant photosynthesis. *New Phytologist*, 232(2), 479–493. <https://doi.org/10.1111/nph.17655>
 213. Santiago, L. A., & Mayor, A. B. R. (2014). Lupeol: An antioxidant triterpene in *Ficus pseudopalma* Blanco (Moraceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), 109–118. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60218-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60218-5)
 214. Santos-Zea, L., Villela-Castrejón, J., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2019). Bound Phenolics in Foods. *Reference Series in Phytochemistry*, 973–989. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78030-6_13
 215. Santos, C. S. P., Cunha, S. C., & Casal, S. (2017). Deep or air frying? A comparative study with different vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(6), 1–14. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600375>
 216. Santos, N. A., Cordeiro, A. M. T. M., Damasceno, S. S., Aguiar, R. T., Rosenhaim, R., Carvalho

- Filho, J. R., Santos, I. M. G., Maia, A. S., & Souza, A. G. (2012). Commercial antioxidants and thermal stability evaluations. *Fuel*, *97*, 638–643. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.01.074>
217. Sayon-Orea, C., Bes-Rastrollo, M., Basterra-Gortari, F. J., Beunza, J. J., Guallar-Castillon, P., de la Fuente-Arrillaga, C., & Martinez-Gonzalez, M. A. (2013). Consumption of fried foods and weight gain in a Mediterranean cohort: The SUN project. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *23*(2), 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2011.03.014>
218. Sayon-Orea, C., Martinez-Gonzalez, M. A., Gea, A., Flores-Gomez, E., Basterra-Gortari, F. J., & Bes-Rastrollo, M. (2014). Consumption of fried foods and risk of metabolic syndrome: The SUN cohort study. *Clinical Nutrition*, *33*(3), 545–549. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2013.07.014>
219. Schverer, M., O'Mahony, S. M., O'Riordan, K. J., Donoso, F., Roy, B. L., Stanton, C., Dinan, T. G., Schellekens, H., & Cryan, J. F. (2020). Dietary phospholipids: Role in cognitive processes across the lifespan. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *111*(November 2019), 183–193. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.012>
220. Segura, R., Javierre, C., Lizarraga, M. A., & Ros, E. (2006). Other relevant components of nuts: Phytosterols, folate and minerals. *British Journal of Nutrition*, *96*(SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1017/BJN20061862>
221. Seppanen, C. M., Song, Q., & Saari Csallany, A. (2010). The antioxidant functions of tocopherol and tocotrienol homologues in oils, fats, and food systems. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *87*(5), 469–481. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1526-9>
222. Serrano, A., Librelotto, J., Cofrades, S., Sánchez-Muniz, F. J., & Jiménez-Colmenero, F. (2007). Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method. *Meat Science*, *77*(3), 304–313. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.017>
223. Serreli, G., & Deiana, M. (2018). Biological relevance of extra virgin olive oil polyphenols metabolites. *Antioxidants*, *7*(12), 11–13. <https://doi.org/10.3390/antiox7120170>
224. Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2017). Antioxidants in oxidation control. *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*, 287–320. <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch14>
225. Shahzad, N., Khan, W., MD, S., Ali, A., Saluja, S. S., Sharma, S., Al-Allaf, F. A., Abduljaleel, Z., Ibrahim, I. A. A., Abdel-Wahab, A. F., Afify, M. A., & Al-Ghamdi, S. S. (2017). Phytosterols as a natural anticancer agent: Current status and future perspective. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *88*, 786–794. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.068>
226. Shamoto-Nagai, M., Maruyama, W., Hashizume, Y., Yoshida, M., Osawa, T., Riederer, P., & Naoi, M. (2007). In parkinsonian substantia nigra, α -synuclein is modified by acrolein, a lipid-peroxidation product, and accumulates in the dopamine neurons with inhibition of proteasome activity. *Journal of Neural Transmission*, *114*(12), 1559–1567. <https://doi.org/10.1007/s00702-007-0789-2>
227. Siger, A., Dwiecki, K., & Bąkowska, E. (2021). Tocochromanols. In *Analytical methods in the determination of bioactive compounds and elements in food* (pp. 121–161). Springer, Cham.

228. Siger, A., Michalak, M., & Rudzińska, M. (2016). Canolol, tocopherols, plastochromanol-8, and phytosterols content in residual oil extracted from rapeseed expeller cake obtained from roasted seed. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *118*(9), 1358–1367. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500314>
229. Siger, A., Nogala-Kalucka, M., & Lampart-Szczapa, E. (2008). The content and antioxidant activity of phenolic compounds in cold-pressed plant oils. *Journal of Food Lipids*, *15*(2), 137–149. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2007.00107.x>
230. Silenzi, A., Giovannini, C., Scazzocchio, B., Vari, R., D'Archivio, M., Santangelo, C., & Masella, R. (2020). Extra virgin olive oil polyphenols: biological properties and antioxidant activity. *Pathology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, 225–233. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00022-6>
231. Silva, J. A. C., Grilo, L. M., Gandini, A., & Lacerda, T. M. (2021). The prospering of macromolecular materials based on plant oils within the blooming field of polymers from renewable resources. *Polymers*, *13*(11), 1–12. <https://doi.org/10.3390/polym13111722>
232. Sims, R. J., Fioriti, J. A., & Kanuk, M. J. (1972). Sterol additives as polymerization inhibitors for frying oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *49*(5), 298–301. <https://doi.org/10.1007/BF02637578>
233. Singh, A. (2013). Sitosterol as an antioxidant in frying oils. *Food Chemistry*, *137*(1–4), 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.008>
234. Singh, L., Varshney, J. G., & Agarwal, T. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food. *Food Chemistry*, *199*, 768–781. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.074>
235. Singh, S., Das, S. S., Singh, G., Schuff, C., De Lampasona, M. P., & Catalán, C. A. N. (2014). Composition, in vitro antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and oleoresins obtained from black cumin seeds (*Nigella sativa* L.). *BioMed Research International*, *2014*. <https://doi.org/10.1155/2014/918209>
236. Sinha, R., Kulldorff, M., Swanson, C. A., Curtin, J., Brownson, R. C., & Alavanja, M. C. R. (2000). *Dietary Heterocyclic Amines and the Risk of Lung Cancer among Missouri Women*. *13*, 3753–3756.
237. Sordini, B., Veneziani, G., Servili, M., Esposto, S., Selvaggini, R., Loreface, A., & Taticchi, A. (2019). A quanti-qualitative study of a phenolic extract as a natural antioxidant in the frying processes. *Food Chemistry*, *279*(June 2018), 426–434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.029>
238. Suárez, M., Gual-Grau, A., Ávila-Román, J., Torres-Fuentes, C., Mulero, M., Aragonès, G., Bravo, F. I., & Muguerza, B. (2021). Oils and Oilseeds in the Nutraceutical and Functional Food Industries. In T. Lafarga, G. Bobo, & I. Aguiló-Aguayo (Eds.), *Oil and Oilseed Processing* (First, pp. 219–243). John Wiley & Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119575313.ch11>
239. Sun, N., Chen, J., Wang, D., & Lin, S. (2018). Advance in food-derived phospholipids: Sources, molecular species and structure as well as their biological activities. *Trends in Food Science and Technology*, *80*(1), 199–211. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.010>
240. Sun, Z., Gantt, E., & Cunningham, F. X. (1996). Cloning and functional analysis of the β -

- carotene hydroxylase of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Biological Chemistry*, 271(40), 24349–24352. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.40.24349>
241. Szewczyk, K., Chojnacka, A., & Górnicka, M. (2021). Tocopherols and tocotrienols—bioactive dietary compounds; what is certain, what is doubt? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12). <https://doi.org/10.3390/ijms22126222>
242. Szymańska, R., Nowicka, B., Trela, A., & Kruk, J. (2019). Vitamin E: Structure and forms. In *Molecular Nutrition: Vitamins* (pp. 67–90). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811907-5.00021-X>
243. Talbot, G. (2016). The Stability and Shelf Life of Fats and Oils. In P. Subramaniam (Ed.), *The Stability and Shelf Life of Food* (Second, pp. 461–503). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100435-7.00016-2>
244. Tamanna, N., & Mahmood, N. (2015). Food processing and maillard reaction products: Effect on human health and nutrition. *International Journal of Food Science*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/526762>
245. Tang, L., Liu, R., Xu, Y., Zhang, X., Liu, R., Chang, M., & Wang, X. (2022). Synergistic and antagonistic interactions of α -tocopherol, γ -oryzanol and phytosterol in refined coconut oil. *Lwt*, 154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112789>
246. Tian, P., Zhan, P., Tian, H., Wang, P., Lu, C., Zhao, Y., Ni, R., & Zhang, Y. (2021). Analysis of volatile compound changes in fried shallot (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) oil at different frying temperatures by GC–MS, OAV, and multivariate analysis. *Food Chemistry*, 345(September 2020), 128748. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128748>
247. Trela, A., & Szymańska, R. (2019). Less widespread plant oils as a good source of vitamin E. *Food Chemistry*, 296(May), 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.185>
248. Turkmani, M. O. Al, Karabet, F., Mokrani, L., & Soukkarieh, C. (2015). Chemical composition and in vitro antioxidant activities of essential oil from *Nigella sativa* L. Seeds cultivated in Syria. *International Journal of ChemTech Research*, 8(10), 76–82.
249. Uddin, M. S., Ferdosh, S., Haque Akanda, M. J., Ghafoor, K., Rukshana, A. H., Ali, M. E., Kamaruzzaman, B. Y., Fauzi, M. B., Hadijah, S., Shaarani, S., & Islam Sarker, M. Z. (2018). Techniques for the extraction of phytosterols and their benefits in human health: a review. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 53(14), 2206–2223. <https://doi.org/10.1080/01496395.2018.1454472>
250. Ur Rahman, U., Sahar, A., Issa Khan, M., & Nadeem, M. (2014). *Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. A review.* <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.005>
251. Vance, D. E., Vance, J. E., Vance, D. E., & Vance, J. E. (2008). Phospholipid biosynthesis in eukaryotes. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes* (Fifth Edit, Vol. 36). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53219-0.50010-6>
252. Velasco, J., Marmesat, S., & Dobarganes, C. M. (2009). Chemistry of Frying. In S. G. Sumnu & S. Sahin (Eds.), *Advances in deep-fat frying of foods* (pp. 33–57). CRC Press.
253. Vhangani, L. N., & Van Wyk, J. (2016). Antioxidant activity of Maillard reaction products (MRPs) in a lipid-rich model system. *Food Chemistry*, 208, 301–308.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.100>

254. Viana da Silva, M., Santos, M. R. C., Alves Silva, I. R., Macedo Viana, E. B., Dos Anjos, D. A., Santos, I. A., Barbosa de Lima, N. G., Wobeto, C., Jorge, N., & Lannes, S. C. D. S. (2021). Synthetic and Natural Antioxidants Used in the Oxidative Stability of Edible Oils: An Overview. *Food Reviews International*, 38(1), 349–372. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1869775>
255. Vu, G., Zhou, H., & McClements, D. J. (2022). Impact of cooking method on properties of beef and plant-based burgers: Appearance, texture, thermal properties, and shrinkage. *Journal of Agriculture and Food Research*, 9(July), 100355. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100355>
256. Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2018). Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. In *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
257. Wagner, K. H., Wotruba, F., & Elmadfa, I. (2001). Antioxidative potential of tocotrienols and tocopherols in coconut fat at different oxidation temperatures. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103(11), 746–751. [https://doi.org/10.1002/1438-9312\(200111\)103:11<746::AID-EJLT746>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/1438-9312(200111)103:11<746::AID-EJLT746>3.0.CO;2-P)
258. Wang, C., Duan, Z., & Fan, L. (2019). Supercritical CO₂ Fluid Extraction of *Elaeagnus mollis* Diels Seed Oil and Its Antioxidant Ability. *Molecules*, 24(5), 1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules24050911>
259. Wang, D., Wang, Q., Li, S., Xu, Y., Wang, X., & Wang, C. (2020). Carvacrol methyl ether, a compound from the essential oil of *Gardenia jasminoides* fruits, exhibits antioxidant effects in the deep-frying of Chinese Youmotou using sunflower oil. *Lwt*, 128(April), 109502. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109502>
260. Wang, W., Xiong, P., Zhang, H., Zhu, Q., Liao, C., & Jiang, G. (2021). Analysis, occurrence, toxicity and environmental health risks of synthetic phenolic antioxidants: A review. *Environmental Research*, 201(March), 111531. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111531>
261. Winkler-Moser, J. K., Hwang, H. S., Bakota, E. L., & Palmquist, D. A. (2015). Synthesis of steryl ferulates with various sterol structures and comparison of their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 169, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.119>
262. Winkler-Moser, J. K., Rennick, K. A., Hwang, H. S., Berhow, M. A., & Vaughn, S. F. (2013). Effect of tocopherols on the anti-polymerization activity of oryzanol and corn steryl ferulates in soybean oil. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(9), 1351–1358. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2279-z>
263. Winkler, Jill K., Warner, K., & Glynn, M. T. (2007). Effect of deep-fat frying on phytosterol content in oils with differing fatty acid composition. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(11), 1023–1030. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1138-1>
264. Winkler, Jill K., & Warner, K. (2008). *The effect of phytosterol concentration on oxidative stability and thermal polymerization of heated oils*. 455–464. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200700265>

265. Winkler, Jill Kristine, & Warner, K. (2008). Effect of phytosterol structure on thermal polymerization of heated soybean oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(11), 1068–1077. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800089>
266. Wojdyło, A., Turkiewicz, I. P., Tkacz, K., Nowicka, P., & Bobak, Ł. (2022). Nuts as functional foods: Variation of nutritional and phytochemical profiles and their in vitro bioactive properties. *Food Chemistry: X*, 15(February). <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100418>
267. Wu, G., Chang, C., Hong, C., Zhang, H., Huang, J., Jin, Q., & Wang, X. (2019). Phenolic compounds as stabilizers of oils and antioxidative mechanisms under frying conditions: A comprehensive review. *Trends in Food Science and Technology*, 92(August), 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.043>
268. Wu, G., Han, S., Zhang, Y., Liu, T. T., Karrar, E., Jin, Q., Zhang, H., & Wang, X. (2022). Effect of phenolic extracts from *Camellia oleifera* seed cake on the formation of polar compounds, core aldehydes, and monoepoxy oleic acids during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 372(March 2021), 131143. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131143>
269. Xu, X., Liu, A., Hu, S., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M. R., Wang, X., Martínez, M., Anadón, A., & Martínez, M. A. (2021). Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. *Food Chemistry*, 353(September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129488>
270. Xue, H. W., Chen, X., & Mei, Y. (2009). Function and regulation of phospholipid signalling in plants. *Biochemical Journal*, 421(2), 145–156. <https://doi.org/10.1042/BJ20090300>
271. Yang, H., Wang, D., Lu, X., Wang, X., & Blasi, F. (2022). Eugenol, obtained from the bioassay-guided fractionation of *Coriandrum sativum* essential oil, displayed antioxidant effect in deep-frying procedure of sunflower oil and improved sensory properties of fried products, *Caijiao. Journal of Essential Oil Research*, 34(3), 240–250. <https://doi.org/10.1080/10412905.2022.2050955>
272. Yang, J., Zhou, F., Xiong, L., Mao, S., Hu, Y., & Lu, B. (2015). Comparison of phenolic compounds, tocopherols, phytosterols and antioxidant potential in Zhejiang pecan [*Carya cathayensis*] at different stir-frying steps. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 541–548. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.049>
273. Yang, R., Xue, L., Zhang, L., Wang, X., Qi, X., Jiang, J., Yu, L., Wang, X., Zhang, W., Zhang, Q., & Li, P. (2019). Phytosterol contents of edible oils and their contributions to estimated phytosterol intake in the Chinese diet. *Foods*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/foods8080334>
274. Yilmaz, E., & Güneşer, B. A. (2017). Cold pressed versus solvent extracted lemon (*Citrus limon* L.) seed oils: yield and properties. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7), 1891–1900. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2622-8>
275. yoon Jeong, S., Park, C. H., Kim, M. K., jun Nam, S., Hong, J., & Kim, S. K. (2012). Effect of Lysophosphatidylethanolamine and Brassinosteroids on Development of Arabidopsis Roots. *Journal of Plant Biology*, 55(2), 178–184. <https://doi.org/10.1007/s12374-011-9202-7>
276. Yorulmaz, H. O., & Konuskan, D. B. (2017). Antioxidant activity, sterol and fatty acid compositions of Turkish olive oils as an indicator of variety and ripening degree. *Journal of Food Science and Technology*, 54(12), 4067–4077. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2879-y>

277. Zaunschirm, M., Pignitter, M., Kienesberger, J., Hernler, N., Riegger, C., Eggersdorfer, M., & Somoza, V. (2018). Contribution of the ratio of tocopherol homologs to the oxidative stability of commercial vegetable oils. *Molecules*, 23(1), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules23010206>
278. Zeb, A. (2019a). Chemistry of Interactions in Frying. In *Food Frying: Chemistry, Biochemistry, and Safety* (Issue 1998, pp. 175–205). <https://doi.org/10.1002/9781119468417.ch6>
279. Zeb, A. (2019b). Chemistry of the Frying Medium. In A. Zeb (Ed.), *Food Frying: Chemistry, Biochemistry, and Safety* (First, pp. 73–113). John Wiley & Sons.
280. Zeb, A. (2019c). Fried Foods in Health and Disease. In A. Zeb (Ed.), *Food Frying: Chemistry, Biochemistry, and Safety* (First, pp. 327–345). John Wiley & Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119468417.ch10>
281. Zeb, A. (2019d). Toxicity of Food Frying. In *Food Frying: Chemistry, Biochemistry, and Safety* (pp. 365–406). John Wiley & Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119468417.ch12>
282. Zehiroglu, C., & Ozturk Sarikaya, S. B. (2019). The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 4757–4774. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03952-x>
283. Zhang, Q., Qin, W., Lin, D., Shen, Q., & Saleh, A. S. M. (2015). The changes in the volatile aldehydes formed during the deep-fat frying process. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7683–7696. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1923-z>
284. Zhang, Q., Saleh, A. S. M., Chen, J., & Shen, Q. (2012). Chemical alterations taken place during deep-fat frying based on certain reaction products: A review. *Chemistry and Physics of Lipids*, 165(6), 662–681. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2012.07.002>
285. Zhang, Q., Wan, C., Wang, C., Chen, H., Liu, Y., Li, S., Lin, D., Wu, D., & Qin, W. (2018). Evaluation of the non-aldehyde volatile compounds formed during deep-fat frying process. *Food Chemistry*, 243(March 2017), 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.121>
286. Zhang, Y. Y., Zhang, F., Thakur, K., Ci, A. Te, Wang, H., Zhang, J. G., & Wei, Z. J. (2018). Effect of natural polyphenol on the oxidative stability of pecan oil. *Food and Chemical Toxicology*, 119(October 2017), 489–495. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.001>
287. Zhao, Y. C., Zhou, M. M., Zhang, L. Y., Cong, P. X., Xu, J., Xue, C. H., Yanagita, T., Chi, N., Zhang, T. T., Liu, F. H., & Wang, Y. M. (2020). Recovery of brain DHA-containing phosphatidylserine and ethanolamine plasmalogen after dietary DHA-enriched phosphatidylcholine and phosphatidylserine in SAMP8 mice fed with high-fat diet. *Lipids in Health and Disease*, 19(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01253-3>
288. Zhao, Z., Huang, J., Jin, Q., & Wang, X. (2021). Influence of oryzanol and tocopherols on thermal oxidation of rice bran oil during the heating process at Chinese cooking temperatures. *Lwt*, 142(July 2020), 111022. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111022>
289. Zhu, D., & Nyström, L. (2019). Phytosterols. In *Whole Grains and their Bioactives* (pp. 427–466). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119129486.ch17>
290. Zia-ul-haq, M. (2021). Carotenoids: Structure and Function in the Human Body. In

Carotenoids: Structure and Function in the Human Body. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-46459-2>

291. Zlatanov, M. D. (1999). Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(12), 1620–1624. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199909\)79:12<1620::AID-JSFA410>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199909)79:12<1620::AID-JSFA410>3.0.CO;2-G)
292. Zlatanov, M. D., Antova, G. A., Angelova-Romova, M. J., & Teneva, O. T. (2013). Lipid composition of *Castanea sativa* Mill. and *Aesculus hippocastanum* fruit oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(3), 661–666. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5917>
293. Zulim Botega, D., Bastida, S., Marmesat, S., Pérez-Olleros, L., Ruiz-Roso, B., & Sánchez-Muniz, F. J. (2009). Carob fruit polyphenols reduce tocopherol loss, triacylglycerol polymerization and oxidation in heated sunflower oil. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(5), 419–425. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1368-5>

16. Wykaz rysunków

Rys. 1. Ogólna budowa strukturalna triacylgliceroli oraz wybranych kwasów tłuszczowych (Hayes, 2021; Silva et al., 2021)	13
Rys. 2. Struktura chemiczna najpopularniejszych fitosteroli olejów roślinnych, IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry (Moreau et al., 2002, 2018)	15
Rys. 3. Struktura chemiczna tokochromanoli (DellaPenna & Mène-Saffrané, 2011; Siger et al., 2021; Trela & Szymańska, 2019)	18
Rys. 4. Struktura klas związków fenolowych (Ali Redha, 2021; Santos-Zea et al., 2019)	21
Rys. 5. Struktura chemiczna wybranych karotenoidów (Siger et al., 2021; Z. Sun et al., 1996). 23	
Rys. 6. Schemat wymiany ciepła i masy w produkcie podczas procesu smażenia (Al Faruq et al., 2022)	30
Rys. 7. Schemat oksydacyjnych przemian tłuszczów podczas obróbki cieplnej (Velasco et al., 2009)	35
Rys. 8. Reakcja homolitycznego rozszczepienia wiązania C–C w łańcuchu kwasu tłuszczowego TAG oraz możliwe produkty (Brühl, 2014; Velasco et al., 2009).....	36
Rys. 9. Struktura przykładowych polimerów oraz ich substratów (Velasco et al., 2009)	37
Rys. 10. Struktura wybranych syntetycznych antyoksydantów (Makahleh et al., 2015), TBHQ - tert-butylohydrochinon, BHT - butylohydroksytoluen, BHA – butylohydroksyanizol, PG - galusan propylu, OG - galusan oktylu, DG - galusan dodecyłu.....	47
Rys. 11. Schemat I etapu badań: analiza mieszanek rafinowanego oleju rzepakowego z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi.....	56
Rys. 12. Schemat II etapu badań: analiza mieszanek rafinowanego oleju rzepakowego z olejami otrzymanymi metodą ekstrakcji CO ₂ w stanie nadkrytycznym (SFE).....	57
Rys. 13. Schemat III etapu badań: analiza mieszanek rafinowanego oleju rzepakowego z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz oleje z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki	58
Rys. 14. Wykresy stabilności α - tokoferolu (A) i β -tokoferolu (B) w mieszankach olejów zimnotłoczonych oraz w próbach kontrolnych podczas ogrzewania w 170 i 200°C; I. rafinowany olej rzepakowy i rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem TBHQ; II. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; III. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; IV. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli. 71	
Rys. 15. Wykresy stabilności γ -tokoferolu (A) i δ -tokoferolu (B) w mieszankach olejów zimnotłoczonych oraz w próbach kontrolnych podczas ogrzewania w 170 i 200°C; I. rafinowany olej rzepakowy i rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem TBHQ; II. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; III. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; IV. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli. 72	
Rys. 16. Wykresy stabilności PC-8 (A) i α -tokotrienolu (B), β -tokotrienolu (C), γ -tokotrienolu (D), δ -tokotrienolu (E) w mieszankach olejów zimnotłoczonych oraz w próbach kontrolnych podczas ogrzewania w 170 i 200°C; I. rafinowany olej rzepakowy i rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem TBHQ; II. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; III. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; IV. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli.....	73
Rys. 17. Wykresy stabilności tokochromanoli w mieszankach olejów zimnotłoczonych podczas ogrzewania w 170 i 200°C; I. rafinowany olej rzepakowy i rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem TBHQ; II. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; III. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; IV. mieszanki z dodatkiem 5 oraz 25% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli.....	74

Rys. 18. Zawartość związków polarnych (TCP); a) w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogrzanych mieszankach b) w mieszankach ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach ogrzanych w 200°C	79
Rys. 19. Zawartość monomerów utlenionych TAG (oxTAG) a) w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogrzanych mieszankach; b) w mieszankach ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach ogrzanych w 200°C.....	81
Rys. 20. Zawartość dimerów TAG w mieszankach z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi ogrzanych w 200°C	82
Rys. 21. Analiza głównych składowych w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogrzanych i ogrzewanych mieszankach a) rzut parametrów na płaszczyznę b) rzut prób na płaszczyznę (NOG – próby nieogrzewane, SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe)	84
Rys. 22. Wykresy stabilności tokochochromanoli w nieogrzanych i ogrzanych mieszankach z olejami SFE; RAF – rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ – rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; ŁSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion czarnuszki SFE	90
Rys. 23. Zawartość związków polarnych a) w olejach SFE oraz ich nieogrzanych mieszankach; b) w mieszankach ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach ogrzane w 200°C	95
Rys. 24. Zawartość monomerów utlenionych TAG (oxTAG) a) w olejach SFE oraz ich nieogrzanych mieszankach; b) w mieszankach ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach ogrzane w 200°C C ...	97
Rys. 25. Zawartość dimerów TAG w mieszankach z olejami SFE ogrzanych w 200°C.....	98
Rys. 26. Analiza głównych składowych w olejach SFE oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach a) rzut parametrów na płaszczyznę b) rzut prób na płaszczyznę (NOG – próby nieogrzewane, SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe)	100
Rys. 27. Wykresy stabilności tokochochromanoli i poszczególnych homologów podczas ogrzewania mieszanek z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejów z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki; RAF - rafinowany olej rzepakowy; E0,1% - rafinowany olej rzepakowego z dodatkiem 0,1% olejku eterycznego z czarnuszki; E0,2% - rafinowany olej rzepakowego z dodatkiem 0,2% olejku eterycznego z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego	107
Rys. 28. Zawartość związków polarnych a) w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogrzanych mieszankach oraz nieogrzanych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki b) w mieszankach oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 200°C	111
Rys. 29. Zawartość monomerów utlenionych TAG (oxTAG) w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki; a) w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogrzanych mieszankach oraz nieogrzanych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki b) w mieszankach oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 170°C oraz c) w mieszankach oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 200°C	113
Rys. 30. Zawartość dimerów TAG w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki ogrzanych w 200°C	114
Rys. 31. Analiza głównych składowych w mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki a) rzut parametrów na	

płaszczyznę b) rzut przypadków na płaszczyznę (NOG – próby nieogrzewane, SFA - nasycone kwasy tłuszczowe; MUFA - jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA - wielonienasycone kwasy tłuszczowe)..... 116

17. Wykaz tabel

Tabela 1. Oznakowanie prób w I etapie badań: mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z wysokojednonienasyconymi olejami zimnotłoczonymi.....	60
Tabela 2. Oznakowanie prób w II etapie badań: mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z olejami otrzymanymi metodą ekstrakcji CO ₂ w stanie nadkrytycznym (SFE).....	61
Tabela 3. Oznakowanie prób w III etapie badań: mieszanki rafinowanego oleju rzepakowego z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz oleje z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki	62
Tabela 4. Profil kwasów tłuszczowych [%] w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach.....	67
Tabela 5. Udziały nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [%] oraz wartości obliczonej liczby jodowej w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych, w ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach.....	68
Tabela 6. Zawartość tokochochromanoli oraz poszczególnych homologów [mg/100g oleju] w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach.....	70
Tabela 7. Zawartość fitosteroli [mg/100 oleju] w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach.....	76
Tabela 8. Profil kwasów tłuszczowych [%] w olejach SFE oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach.....	86
Tabela 9. Udziały nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [%] oraz wartości obliczonej liczby jodowej w olejach SFE oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach.....	87
Tabela 10. Zawartość tokochochromanoli oraz poszczególnych homologów [mg/100g oleju] w olejach SFE oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach.....	89
Tabela 11. Zawartość fitosteroli [mg/100 oleju] w olejach SFE oraz ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach.....	92
Tabela 12. Skład olejku eterycznego.....	101
Tabela 13. Profil kwasów tłuszczowych [%] w nieogrzanych i ogrzanych mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki	103
Tabela 14. Udziały nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [%] oraz wartości obliczonej liczby jodowej w nieogrzanych i ogrzanych mieszankach z zimnotłoczonym olejem z nasion czarnuszki oraz olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki	104
Tabela 15. Zawartość tokochochromanoli oraz poszczególnych homologów [mg/100g oleju] w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogrzanych mieszankach oraz nieogrzewanych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki.....	106
Tabela 16. Zawartość fitosteroli [mg/100g oleju] w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogrzanych i ogrzanych mieszankach oraz nieogrzanych i ogrzanych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki	109

ANEKS

Tabela 1. Zawartość tokochromanoli i poszczególnych homologów w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz ich nieogranych i ogranych mieszankach [mg/100g oleju]

	RAF	TBHQ	RZEP5%	RZEP25%	RZEP100%	KOL5%	KOL25%	KOL100%	MOR5%	MOR25%	MOR100%	
α-tokoferol	nieogrzewane	30,70±0,05aB	30,18±0,48aB	25,2±0,23aA	28,18±0,11aE	26,41±0,24A	29,6±0,45aB	36,66±0,48aF	50,68±0,49G	25,45±0,12aA	20,76±0,28aD	1,66±0,00C
	170°C	1,62±0,12bAB	29,01±0,35bD	2,00±0,09bA	5,60±0,36bC	-	2,09±0,13bA	4,69±1,20bC	-	1,13±0,35bAB	0,73±0,23bB	-
	200°C	0,40±0,11cC	0,87±0,02cD	0,22±0,08cAB	0,29±0,08cBC	-	n/w	0,15±0,03cA	-	n/w	n/w	-
β-tokoferol	nieogrzewane	0,13±0,03aAB	0,16±0,02aA	0,05±0,01aAB	0,15±0,05aAB	0,09±0,01AB	0,19±0,01aA	0,43±0,05aC	1,39±0,08D	0,11±0,03aAB	0,06±0,01aAB	n/w
	170°C	0,06±0,04abAB	0,13±0,02aC	0,04±0,02aAB	0,03±0,02bAB	-	0,11±0,00bBC	0,27±0,03bD	-	0,03±0,02bA	0,03±0,03abA	-
	200°C	0,03±0,01bAB	0,05±0,03bB	n/w	n/w	-	n/w	0,09±0,03cC	-	n/w	n/w	-
γ-tokoferol	nieogrzewane	33,58±0,09aB	32,78±0,95aAB	24,15±0,16aD	31,78±0,26aAC	32,84±0,25AB	31,23±0,22aC	25,38±0,06aD	0,59±0,08E	32,63±0,13aABC	36,72±0,18aF	54,3±0,55G
	170°C	15,17±0,60bABC	32,15±0,28aD	15,16±0,08bABC	17,37±0,24bC	-	15,93±2,01bBC	13,53±0,96bAB	-	12,63±1,10bA	13,43±1,97bAB	-
	200°C	8,09±0,63cD	10,01±0,22bE	5,77±0,44cC	4,94±0,86cC	-	3,27±0,20cA	2,51±0,14cAB	-	2,92±0,41cA	1,73±0,07cB	-
δ-tokoferol	nieogrzewane	0,69±0,06aAB	0,74±0,02aAB	0,83±0,04aBC	0,68±0,04aAB	0,73±0,05AB	0,93±0,06aC	1,26±0,04aE	0,14±0,02D	0,64±0,03aA	0,92±0,04aC	1,65±0,01F
	170°C	0,58±0,04bA	0,68±0,03aBC	0,57±0,07bA	0,64±0,04aAB	-	0,72±0,07bBC	1,10±0,01bD	-	0,54±0,05aA	0,81±0,11aC	-
	200°C	0,43±0,02cA	0,43±0,05bA	0,35±0,03cA	0,34±0,04bA	-	0,40±0,05cA	0,65±0,04cB	-	0,34±0,07bA	0,42±0,02bA	-
PC-8	nieogrzewane	5,36±0,04aD	5,37±0,03aCD	3,60±0,08aG	4,79±0,19aBE	3,73±0,23AB	4,41±0,02aCE	4,00±0,07aCD	n/w	4,33±0,06aAB	3,79±0,09aA	n/w
	170°C	2,03±0,08bAB	5,12±0,12aF	2,17±0,11bBE	2,42±0,09bE	-	1,86±0,27bAB	1,77±0,17bAD	-	1,47±0,10bCD	1,22±0,16bC	-
	200°C	0,90±0,10cD	1,13±0,10bE	0,60±0,05cC	0,52±0,09cC	-	0,26±0,02cA	0,26±0,04cAB	-	0,28±0,05cA	0,11±0,01cB	-
α-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,04±0,01aA	0,15±0,00bB	0,33±0,01C	n/w	n/w	n/w
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	0,03±0,01aA	0,03±0,01aA	-	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	n/w	-	n/w	n/w	-
β-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,10±0,01bA	0,08±0,00bA	0,89±0,09B	n/w	n/w	n/w
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	0,03±0,00aA	0,04±0,01aA	-	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	n/w	-	n/w	n/w	-
γ-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,15±0,00bA	0,72±0,01bB	3,07±0,08C	n/w	n/w	n/w
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	0,04±0,01aA	0,36±0,06abB	-	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	0,08±0,00a	-	n/w	n/w	-

		RAF	TBHQ	RZEP5%	RZEP25%	RZEP100%	KOL5%	KOL25%	KOL100%	MOR5%	MOR25%	MOR100%
δ-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,08±0,00cA	0,86±0,02B	n/w	n/w	n/w
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	0,06±0,01b	-	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	-	n/w	0,05±0,00a	-	n/w	n/w	-
suma tokochromanoli	nieogrzewane	70,45±0,13aD	69,24±1,39aCD	53,82±0,33aG	65,56±0,43aBF	63,80±0,78AB	66,65±0,77aCF	68,75±0,37aCD	57,92±0,88E	63,16±0,36aAB	62,24±0,13aA	57,61±0,54E
	170°C	19,45±0,78bABC	67,09±0,74bE	19,93±0,32bAC	26,06±0,61bD	-	20,81±2,38bA	21,85±2,40bA	-	15,80±1,56bB	16,22±2,40bBC	-
	200°C	9,85±0,85cD	12,49±0,33cE	6,94±0,58cC	6,08±1,03cC	-	3,93±0,17cA	3,80±0,21cA	-	3,54±0,52cAB	2,25±0,05cB	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; RZEP5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP100% - zimnotłoczony olej rzepakowy; KOL5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; KOL25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z nasion kolendry; KOL100% - zimnotłoczony olej z nasion kolendry; MOR5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli; MOR25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z pestek moreli; MOR100% - zimnotłoczony olej z pestek moreli; NOG/OZ100% - nieogrzewane próby kontrolne, nieogrzewane mieszanki oraz oleje zimnotłoczone 100%; PC-8 – plastochochol-8; n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami, średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbka

Tabela II. Zawartość związków polarnych [%] w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz w ich nieogranych i ogranych mieszankach

	nieogrzewane		
	170°C	200°C	
RAF	2,31±0,11aA	7,78±1,00cB	12,34±1,19cC
rTBHQ	2,04±0,57aA	5,02±1,24abB	11,24±0,35acC
RZEP5%	2,71±0,21abA	3,61±0,57aA	8,45±0,83bB
RZEP25%	2,19±0,67aA	4,17±0,51aA	10,60±1,57abcB
RZEP100%	4,10±1,08abc	-	-
KOL5%	3,54±1,21abcA	4,96±0,86abA	9,79±1,25abB
KOL25%	3,03±1,71abcA	4,77±0,47abA	9,37±0,99abB
KOL100%	6,07±0,61c	-	-
MOR5%	2,94±0,45abcA	3,11±0,47aA	11,07±1,27acB
MOR25%	4,65±0,04abcA	6,54±0,66bcB	10,36±0,73abcC
MOR100%	5,80±0,49bc	-	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; RZEP5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP100% - zimnotłoczony olej rzepakowy; KOL5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; KOL25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z nasion kolendry; KOL100% - zimnotłoczony olej z nasion kolendry; MOR5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli; MOR25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z pestek moreli; MOR100% - zimnotłoczony olej z pestek moreli; Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogranych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami

Tabela III. Zawartość monomerów i dimerów TAG [mg/g oleju] w wysokojednonienasyconych olejach zimnotłoczonych oraz w ich nieogranych i ogranych mieszankach

	monomery TAG			dimery TAG		
	nieogrzewane	170°C	200°C	nieogrzewane	170°C	200°C
RAF	20,87±2,14aA	75,84±10,31cB	113,77±9,53cC	n/w	n/w	10,51±1,99aB
rTBHQ	18,20±5,65aA	49,06±12,29abB	98,76±4,06bcC	n/w	n/w	10,44±0,65aB
RZEP5%	24,94±1,51aA	34,80±6,11aA	73,20±10,35aB	n/w	n/w	7,98±0,37abB
RZEP25%	20,17±6,38aA	41,14±4,89aA	91,92±12,20abcB	n/w	n/w	10,55±2,91aB
RZEP100%	40,29±10,79ab	-	-	n/w	n/w	-
KOL5%	31,66±12,01abA	45,99±10,02abA	87,85±11,49abB	n/w	n/w	7,24±1,37abB
KOL25%	28,61±16,04abA	46,19±4,99abA	84,99±9,80abB	n/w	n/w	6,11±2,12bB
KOL100%	56,76±5,70b	-	-	n/w	n/w	-
MOR5%	27,64±4,21abA	29,04±4,61aA	101,09±14,49bcB	n/w	n/w	7,20±0,83abB
MOR25%	43,28±0,27abA	61,84±6,09bcA	90,81±9,42abcB	n/w	n/w	8,91±2,43abB
MOR100%	56,47±5,00b	-	-	n/w	n/w	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; RZEP5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; RZEP100% - zimnotłoczony olej rzepakowy; KOL5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z nasion kolendry; KOL25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z nasion kolendry; KOL100% - zimnotłoczony olej z nasion kolendry; MOR5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% zimnotłoczonego oleju z pestek moreli; MOR25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% zimnotłoczonego z pestek moreli; MOR100% - zimnotłoczony olej z pestek moreli. n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogranych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu dla wybranego parametru, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami.

Tabela IV. Zawartość tokochromanoli i poszczególnych homologów [mg/100g oleju] w olejach SFE oraz w ich nieogranych i ogranych mieszankach

		RAF	rTBHQ	ŁSFE5%	ŁSFE25%	ŁSFE100%	CSFE5%	CSFE25%	CSFE100%
α-tokoferol	nieogrzewane	42,33±1,24aA	42,10±0,25aA	46,30±0,03aG	35,99±1,94aF	2,50±0,01B	26,17±0,18aE	22,22±1,59aD	9,64±0,01C
	170°C	0,43±0,11bA	42,12±0,26aE	14,76±1,60bC	29,47±0,16bD	-	2,53±1,49bB	0,03±0,04bA	-
	200°C	0,80±0,01bA	0,75±0,01bA	4,23±0,83cB	27,47±0,81cC	-	n/w	n/w	-
β-tokoferol	nieogrzewane	0,18±0,03aAB	0,19±0,02aA	0,14±0,01aAB	0,13±0,01aAB	n/w	0,18±0,04aA	0,1±0,01B	n/w
	170°C	0,05±0,02bC	0,16±0,03aB	0,12±0,02aAB	0,11±0,01aB	-	0,11±0,02bA	n/w	-
	200°C	0,04±0,01bA	0,05±0,01bA	0,08±0,02bB	0,10±0,01bC	-	n/w	n/w	-
γ-tokoferol	nieogrzewane	42,31±0,39aA	41,52±0,42aA	56,00±0,62aE	86,37±3,98aF	178,67±1,92G	31,73±0,43aD	24,42±0,46aC	1,00±0,11B
	170°C	10,93±3,67bC	41,53±0,13aA	37,16±0,29bA	79,17±0,51bE	-	16,35±3,83bD	0,08±0,1bB	-
	200°C	3,23±0,08cA	5,62±0,19bA	18,61±1,39cC	74,76±0,58cD	-	n/w	n/w	-
δ-tokoferol	nieogrzewane	0,94±0,01aA	0,94±0,00aA	1,25±0,03aD	2,16±0,10aE	5,14±0,09F	0,85±0,00aAB	0,72±0,00aB	0,22±0,05C
	170°C	0,80±0,06bA	0,92±0,02aC	1,14±0,01bD	2,10±0,05aE	-	0,79±0,06aA	0,23±0,03bB	-
	200°C	0,45±0,02cA	0,60±0,19bA	0,86±0,03cB	2,10±0,03aC	-	n/w	n/w	-
PC-8	nieogrzewane	9,76±0,33aA	9,27±0,06aA	10,39±0,02aF	8,47±0,19aE	3,19±0,01B	6,40±0,03aC	7,2±0,07D	n/w
	170°C	1,93±0,71bC	9,23±0,13aE	6,15±0,16bA	7,17±0,26bA	-	4,10±1,29bD	n/w	-
	200°C	0,42±0,02cA	0,83±0,05bB	2,47±0,27cC	6,47±0,11cD	-	n/w	n/w	-
α-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,19±0,00B	0,87±0,00A
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
β-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,90±0,04aA	4,21±0,04aB	16,68±0,04C
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,49±0,07bB	0,08±0,01bA	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
γ-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,29±0,03B	0,46±0,02A
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-

		RAF	rTBHQ	łSFE5%	łSFE25%	łSFE100%	CSFE5%	CSFE25%	CSFE100%
δ-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	0,08±0,01A	0,10±0,04A
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
suma tokochromanoli	nieogrzewane	95,51±1,35aC	94,02±0,71aA	114,07±0,56aA	133,11±6,19aB	189,49±2,00B	66,23±0,51aD	59,42±2,13aE	28,97±0,12F
	170°C	14,14±4,50bB	93,83±0,55aE	59,33±1,92bD	118,01±0,75bF	-	24,37±6,63bC	0,42±0,10bA	-
	200°C	4,93±0,10cA	7,85±0,29bB	26,25±2,53cC	110,90±1,15cD	-	n/w	n/w	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; łSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; łSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; łSFE100% - olej z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; CSFE100% - olej z nasion czarnuszki SFE; PC-8 – plastochochanol-8; n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszank nieogrzanych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice ($p < 0,05$) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice ($p < 0,05$) między próbkami

Tabela V. Zawartość związków polarnych [%] w olejach SFE oraz w ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach

	nieogrzewane	170°C	200°C
RAF	2,74±0,04aA	9,38±0,94bcB	16,78±0,85dC
rTBHQ	2,95±0,21aA	5,88±0,78aA	12,34±0,69aB
ŁSFE5%	3,57±0,35aA	6,78±1,26aA	11,42±1,04aB
ŁSFE25%	5,7±0,28bA	8,74±0,54cA	10,51±0,80bB
ŁSFE100%	13,19±0,91c	-	-
CSFE5%	5,44±0,21bA	7,77±0,42abB	14,96±0,62cC
CSFE25%	11,78±0,14cA	18,18±0,63dB	22,35±0,35eC
CSFE100%	32,63±0,11d	-	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; ŁSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE100% - olej z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; CSFE100% - olej z nasion czarnuszki SFE. Wartości dla prób mieszanek nieogrzanych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami

Tabela VI. Zawartość monomerów i dimerów TAG [mg/g oleju] w olejach SFE oraz w ich nieogrzanych i ogrzanych mieszankach

	monomery TAG			dimery TAG		
	nieogrzewane	170°C	200°C	nieogrzewane	170°C	200°C
RAF	26,73±0,96aA	91,67±9,06cB	151,91±6,76cC	n/w	n/w	14,46±1,81c
rTBHQ	28,46±2,07aA	56,91±7,90aB	111,45±5,49abC	n/w	n/w	10,05±1,17b
ŁSFE5%	34,79±3,80aA	66,48±12,42aB	107,44±11,89aC	n/w	n/w	5,03±1,37a
ŁSFE25%	55,27±1,94bA	85,44±5,43bcB	102,40±8,45aC	n/w	n/w	2,72±2,01a
ŁSFE100%	126,30±9,61d	-	-	n/w	-	-
CSFE5%	44,88±2,20abA	71,43±4,06abB	124,61±5,84bC	n/w	n/w	18,20±1,33d
CSFE25%	82,97±0,61cA	131,01±4,51dB	173,06±2,95dC	n/w	n/w	12,78±1,92bc
CSFE100%	306,14±7,22e	-	-	n/w	-	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; rTBHQ - rafinowany olej rzepakowy z dodatkiem tetrabutylhydrochinonu; ŁSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; ŁSFE100% - olej z nasion łubinu SFE; CSFE5% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 5% oleju z nasion czarnuszki SFE; CSFE25% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 25% oleju z nasion łubinu SFE; CSFE100% - olej z nasion czarnuszki SFE; n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszanek nieogrzanych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami

Tabela VII. Zawartość tokochromanoli i poszczególnych homologów [mg/100g oleju] w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogranych i ogranych mieszankach oraz nieogranych i ogranych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

		RAF	E0,1%	E0,2%	CZAR10%	CZAR20%	CZAR100%
α-tokoferol	nieogrzewane	28,71±0,45bA	28,69±1,24bA	29,26±0,75bA	25,82±0,36bD	23,78±0,6bC	0,53±0,01B
	170°C	4,66±0,21aAB	7,29±1,02aB	3,07±0,22aA	1,79±0,22aA	9,81±2,04aC	-
	200°C	n/w	n/w	0,32±0,05	n/w	n/w	-
β-tokoferol	nieogrzewane	0,12±0,03aAB	0,13±0,03bB	0,15±0,03bB	0,05±0,01A	0,05±0,01A	n/w
	170°C	0,05±0,02aA	0,05±0,00aA	0,05±0,03aA	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
γ-tokoferol	nieogrzewane	32,39±0,85cAB	32,21±0,27cA	33,65±0,81cB	30,08±0,51cE	27,67±0,63cD	0,29±0,01C
	170°C	21,38±0,72bAB	23,06±0,93bB	18,46±1,91bA	10,48±1,67bC	19,54±2,27bAB	-
	200°C	3,91±0,00aA	4,44±0,87aA	4,77±2,33aA	1,10±0,21aBC	0,58±0,21aBC	-
δ-tokoferol	nieogrzewane	0,73±0,05bA	0,65±0,02cA	0,67±0,04cA	0,56±0,01cB	0,54±0,04aB	2,88±0,00C
	170°C	0,6±0,08bA	0,57±0,05bA	0,57±0,02bA	0,42±0,07bB	0,49±0,01aAB	-
	200°C	0,26±0,00aA	0,34±0,01aA	0,31±0,04aA	0,19±0,06aA	0,34±0,25aA	-
PC-8	nieogrzewane	4,55±0,43cA	4,53±0,23cA	4,62±0,06cA	4,22±0,06bAB	3,81±0,23bB	n/w
	170°C	2,83±0,13bB	2,84±0,14bB	2,28±0,20bA	1,65±0,23aC	2,04±0,07aA	-
	200°C	0,32±0,01aA	0,46±0,08aA	0,39±0,21aA	n/w	n/w	-
α-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	0,55±0,05A	1,12±0,08bB	5,95±0,02C
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	0,30±0,09a	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
β-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	0,78±0,05A	2,72±0,11bB	18,46±0,02C
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	1,44±0,23a	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
γ-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-

		RAF	E0,1%	E0,2%	CZAR10%	CZAR20%	CZAR100%
δ-tokotrienol	nieogrzewane	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	2,78±0,02
	170°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
	200°C	n/w	n/w	n/w	n/w	n/w	-
Suma tokochromanoli	nieogrzewane	66,49±1,7cA	66,21±1,64cA	68,35±1,63cA	62,06±0,95cB	59,65±1,17cB	30,87±0,08C
	170°C	29,51±1,11bAB	33,78±2,06bA	24,42±2,36bB	14,34±2,15bC	33,60±3,95bA	-
	200°C	4,49±0,01aAB	5,24±0,94aB	5,63±2,76aB	1,29±0,27aA	0,92±0,41aA	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; E0,1% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,1% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; E0,2% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,2% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR100% - zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki 100%; PC-8 – plastochromanol-8; n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogrzanych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p < 0,05) między próbkami

Tabela VIII. Zawartość związków polarnych [%] w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogranych i ogranych mieszankach oraz nieogranych i ogranych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

	nieogrzewane		
	170°C	200°C	
RAF	3,08±0,26aA	6,90±0,42aB	13,73±0,75bC
E0,1%	2,25±0,30aA	6,59±0,31aB	11,63±0,79aC
E0,2%	2,74±0,40aA	6,67±0,48aB	13,56±0,37bC
CZAR10%	4,48±0,38cA	6,48±0,62aB	11,26±0,43aC
CZAR20%	4,22±0,27bA	11,38±1,10bB	16,24±0,90cC
CZAR100%	10,07±0,77c	-	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; E0,1% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,1% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; E0,2% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,2% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR100% - zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki. Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogranych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami

Tabela IX. Zawartość monomerów i dimerów TAG [mg/g oleju] w zimnotłoczonym oleju z nasion czarnuszki, jego nieogranych i ogranych mieszankach oraz nieogranych i ogranych olejach z dodatkiem olejku eterycznego z czarnuszki

	monomery TAG			dimery TAG		
	nieogrzewane	170°C	200°C	nieogrzewane	170°C	200°C
RAF	29,80±2,47abcA	63,74±4,20aB	113,89±1,77bC	n/w	n/w	8,00±0,57b
E0,1%	19,85±2,59aA	62,74±3,27aB	101,59±4,51aC	n/w	n/w	8,01±0,29b
E0,2%	25,64±2,85abA	58,48±2,54aB	114,59±4,64bC	n/w	n/w	11,49±0,55c
CZAR10%	38,97±4,13cA	58,72±4,03aB	94,59±3,42aC	n/w	n/w	5,81±0,73a
CZAR20%	33,76±5,23bcA	94,88±2,57bB	135,64±3,08cC	n/w	n/w	9,18±0,80b
CZAR100%	59,57±0,38d	-	-	n/w	n/w	-

RAF - rafinowany olej rzepakowy; E0,1% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,1% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; E0,2% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 0,2% oleju eterycznego i nasion z czarnuszki; CZAR10% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 10% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR20% - mieszanka rafinowanego oleju rzepakowego i 20% zimnotłoczonego oleju rzepakowego; CZAR100% - zimnotłoczony olej z nasion czarnuszki. n/w – nie wykryto. Wartości dla prób mieszanek nieogranych oraz olejów wyjściowych są średnimi z dwóch oznaczeń ± SD. Wartości dla prób ogranych są średnimi z czterech oznaczeń ± SD. Średnie w tej samej kolumnie dla wybranego parametru, po których następują różne małe litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami; średnie w tym samym wierszu, po których następują różne duże litery, wskazują na istotne różnice (p <0,05) między próbkami