

Elżbieta Dłużewska, Anna Florowska, Tomasz Florowski

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

e-mail: elzbieta_dluzewska@sggw.pl

WPLYW DODATKU WYBRANYCH PRZECIWUTLENIACZY NA STABILNOŚĆ OLEJOWYCH KONCENTRATÓW β -KAROTENU

Streszczenie: Celem pracy było określenie wpływu rodzaju i ilości dodatku przeciwutleniaczy oraz warunków i czasu przechowywania na stabilność olejowych koncentratów β -karotenu. Do olejowych koncentratów β -karotenu dodawano ekstrakt z rozmarynu w ilości 0,02-0,06 % oraz BHA w ilości 0,02-0,04 %. Określano stabilności β -karotenu przez spektrofotometryczne oznaczenie zawartości β -karotenu w roztworach olejowych z dodatkiem przeciwutleniaczy w czasie przechowywania w warunkach z dostępem światła i bez dostępu światła dziennego oraz w temp. 20°C i w warunkach chłodniczych. Stabilność olejowych koncentratów β -karotenu uzależniona była od warunków przechowywania. Większą stabilność barwnika stwierdzono w próbkach przechowywanych bez dostępu światła i w temperaturze chłodniczej. Dodatek przeciwutleniaczy zwiększał stabilności β -karotenu w olejowych koncentratkach tylko w przypadku ich przechowywania w temperaturze pokojowej, przy dostępie światła dziennego. W tych warunkach lepszymi właściwościami cechował się ekstrakt z rozmarynu.

Słowa kluczowe: β -karoten, przeciwutleniacze, BHA, rozmaryn.

DOI: 10.15611/nit.2014.3.02

1. Wstęp

β -karoten jest stosowany jako dodatek do żywności głównie ze względu na właściwości barwiące. Ma ponadto właściwości prozdrowotne, związane z aktywnością jako prowitaminy A, właściwości przeciwnowotworowe oraz zdolność do inaktywacji wolnych rodników [Robak, Zachwieja 1998; Wilska-Jeszka 1994; Block, Langseth 1994]. β -karoten jest substancją powszechnie występującą w przyrodzie i można go pozyskać m.in. na drodze ekstrakcji z marchwi [Kunachowicz i in. 2004]. Niestety związek ten jest bardzo wrażliwy na działanie światła i innych czynników utleniających. Obniżenie stabilności tego barwnika następuje również w trakcie

wielu procesów technologicznych wykorzystywanych w produkcji żywności oraz w trakcie przechowywania. Do niekorzystnych zmian β -karotenu należą jego degradacja i izomeryzacja, prowadzące m.in. do zmiany barwy i zapachu oraz utraty aktywności biologicznej [Rodriguez-Amaya 2001; Podsędek 2007].

W celu zwiększenia trwałości β -karotenu stosowane są przeciwutleniacze, najczęściej kwas L-askorbinowy, oraz tokoferole. Jednak w ostatnich latach producenci żywności coraz częściej sięgają po inne, naturalne przeciwutleniacze, w tym m.in. ekstrakty z ziół i przypraw, np.: rozmaryn, oregano [Hać-Szymańczuk, Roman, Bednarczyk 2009]. Związki te poza tym, że wykazują silne właściwości przeciwutleniające, mogą również powodować pożądaną zmianę smaku produktu. Silnymi przeciwutleniaczami są także produkty syntezy chemicznej jak BHA (butylohydroksyanizol). Nie oddziałują one na smak, w związku z czym mogą być stosowane do szerszej gamy produktów [Romano i in. 2009].

Celem podjętych badań było porównanie zdolności do stabilizowania olejowych koncentratów β -karotenu przez naturalny przeciwutleniacz (ekstrakt z rozmarynu) i BHA, a także określenie wpływu warunków przechowywania na stabilność olejowych koncentratów β -karotenu.

2. Materiał i metodyka

Materiał do badań stanowił olejowy koncentrat β -karotenu otrzymany z marchwi. Celem uzyskania koncentratu świeżą marchew tarto, wyciskano z niej sok, po czym zakwaszono go do pH 4,8 za pomocą 0,1 M HCl i podgrzewano do temperatury $90 \pm 1^\circ\text{C}$. Następnie koagulat sedymentowano w warunkach chłodniczych (0°C) przez około 12 godzin i odwirowywano przez 10 minut z prędkością 25000 obr./min (wirówka Sigma typ MPW-340, Polska). Powstały materiał zamrażano, a następnie poddawano liofilizacji przy użyciu liofilizatora firmy Sigma (24 h w temperaturze -80°C). Liofilizat mieszano z heksanem, zachowując proporcję 1:2, z prędkością 370 obr./min (mieszadło laboratoryjne typu RW 20 DZM firmy Janke&Kunkel, Niemcy). Ekstrakt poddawano filtracji próżniowej przy użyciu lejka Büchnera, następnie odparowywano go na wyparce typu Rotavapor R-210 firmy Büchi (Szwajcaria). Powstały proszek mieszano z prędkością 370 obr./min z rafinowanym olejem rzepakowym (mieszadło laboratoryjne typu RW 20 DZM firmy Janke&Kunkel, Niemcy) do uzyskania 0,015-procentowego roztworu olejowego β -karotenu.

Do olejowego koncentratu β -karotenu dodawano przeciwutleniacze. Zastosowano dodatek 0,02, 0,04 i 0,06% olejowego ekstraktu z rozmarynu (Herbor, Polska) oraz 0,02, 0,03 i 0,04% BHA (Sigma-Aldrich, Polska) w stosunku do masy olejowego koncentratu β -karotenu. Po wymieszaniu roztwory olejowe β -karotenu umieszczano w szklanych słoikach i przetrzymywano przez 16 tygodni w temperaturze $20 \pm 2^\circ\text{C}$ przy dostępie do światła dziennego oraz bez dostępu światła, a także w temperaturze $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$ bez dostępu światła. Stabilność olejowych koncentratów

β -karotenu badano co 4 tygodnie, wykonując oznaczenia w dwóch równoległych powtórzeniach dla wszystkich próbek.

Zawartość β -karotenu w olejowym koncentracie określano zgodnie z Polską Normą PN-90/A-75101/12. W celu wyznaczenia czasu połowicznego rozpadu β -karotenu dokonywano oznaczenia zawartości β -karotenu w czasie przeprowadzenia testu przechowalniczego. Do matematycznego opisu zależności stężenia β -karotenu od czasu zastosowano logarytmiczny model pierwszego stopnia, który scharakteryzowano zgodnie z równaniem:

$$\ln S = \ln S_0 - k_1 t,$$

gdzie: t – czas, S – stężenie β -karotenu w czasie t , S_0 – stężenie β -karotenu w czasie t_0 , k_1 – stała prędkość pierwszego rzędu. Połowiczny czas rozpadu β -karotenu wyliczano przy użyciu programu Microsoft Excel, stosując statystyczną metodę regresji.

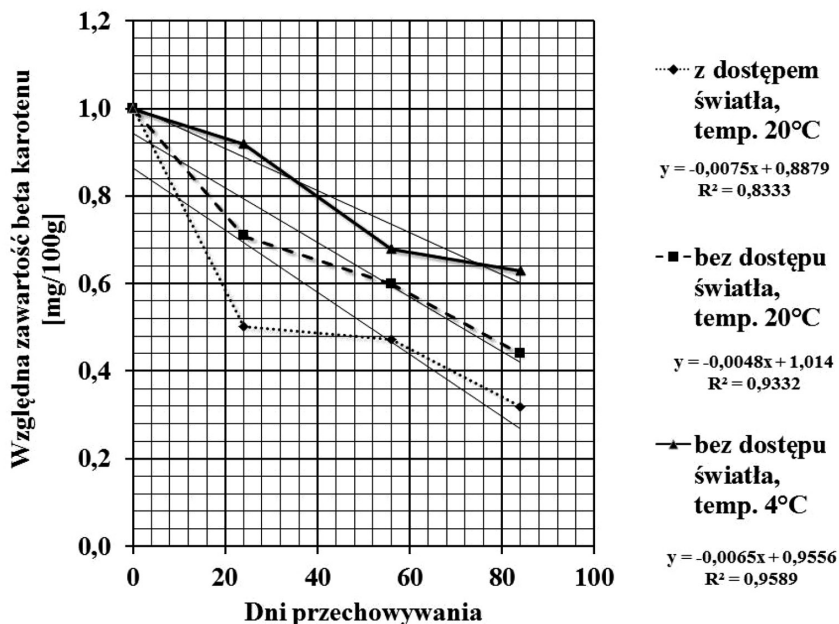
Statystyczne opracowanie wyników przeprowadzono przy użyciu programu Statistica 10, wykorzystując metodę analizy trendu do obserwacji zmiany zawartości β -karotenu w czasie, przyjmując poziom istotności $\alpha = 0,05$.

3. Omówienie i dyskusja wyników

Na podstawie przeprowadzonych badań, w których olejowe koncentraty β -karotenu przetrzymywano w temperaturze około 20°C bez dostępu światła i przy dostępie światła dziennego oraz w temperaturze chłodniczej bez dostępu światła dziennego przez 112 dni, stwierdzono zmiany zawartości β -karotenu w roztworach olejowych w czasie przechowywania (rys. 1).

Niezależnie od warunków przechowywania (tj. temperatury i dostępu światła) we wszystkich analizowanych próbkach stwierdzono zmniejszenie zawartości barwnika. Największe było ono w pierwszych czterech tygodniach przechowywania, w kolejnych tygodniach tempo degradacji β -karotenu ulegało zmniejszeniu. Jest to zgodne ze stwierdzeniem Rodriguez-Huezo [2004], który udowodnił, że proces rozpadu karotenoidów najszybciej postępuje w pierwszych tygodniach testu przechowalniczego.

Na tempo rozkładu β -karotenu wpływ miały również warunki przechowywania próbek. Stwierdzono, że zarówno dostęp do światła, jak i przechowywanie w wyższej temperaturze przyspieszały degradację tego barwnika. Największą stabilnością cechował się olejowy koncentrat β -karotenu przechowywany w temperaturze 4°C bez dostępu światła, natomiast w temperaturze pokojowej i przy dostępie światła dziennego stabilność koncentratu była mniejsza (rys. 1 i 8). Czas połowicznego rozpadu β -karotenu w próbce przechowywanej w warunkach chłodniczych wynosił 112 dni, a w próbce przechowywanej w temperaturze pokojowej i z dostępem światła – tylko 61 dni.

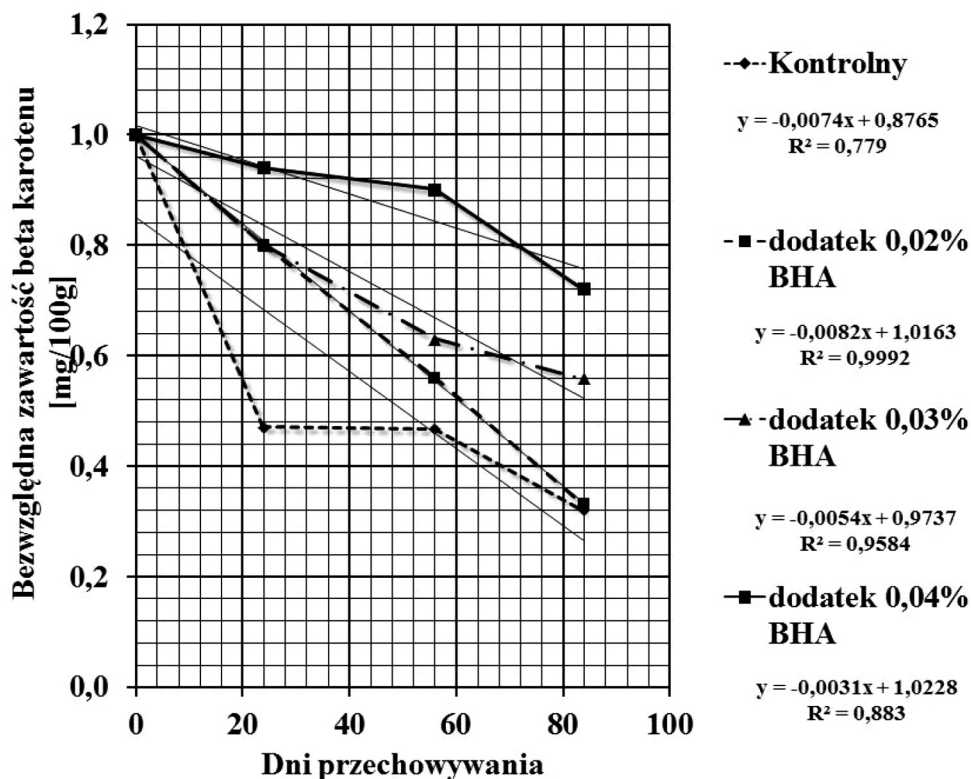


Rysunek 1. Wpływ warunków przechowywania na stabilność olejowych koncentratów β -karotenu
 Źródło: opracowanie własne.

Figure 1. Influence of storage conditions on the stability of oil concentrates of β -carotene
 Source: own elaboration.

W celu poprawy stabilności β -karotenu do roztworów barwnika dodano BHA w dawkach 0,02, 0,03 i 0,04%. W przypadku próbek przechowywanych w temperaturze pokojowej i z dostępem światła dziennego stwierdzono charakter zmian zawartości barwnika wraz z upływem czasu przechowywania podobny jak w przypadku próbek bez dodatku przeciwutleniacza. Niemniej dodatek BHA skutecznie hamował tempo rozpadu β -karotenu (rys. 2 i 8).

Najsukuteczniejszy w stabilizowaniu olejowego koncentratu β -karotenu okazał się dodatek przeciwutleniacza w największej analizowanej ilości, tj. 0,04%. Zastosowanie BHA w tej ilości skutecznie hamowało rozpad β -karotenu przez pierwsze 14 tygodni przechowywania. W próbkach z 0,02-procentowym dodatkiem BHA zaobserwowano, że w trakcie 16 tygodni przechowywania rozpadowi uległo 67,5% początkowej zawartości barwnika, a przy zastosowaniu 0,04-procentowego dodatku – tylko 33%. Dodatek BHA w ilości 0,04% pozwolił na wydłużenie czasu połowicznego rozpadu β -karotenu o 90 dni w porównaniu z próbkami bez dodatku przeciwutleniacza.



Rysunek 2. Wpływ dodatku BHA na stabilność β -karotenu w warunkach z dostępem światła dziennego i w temp. pokojowej

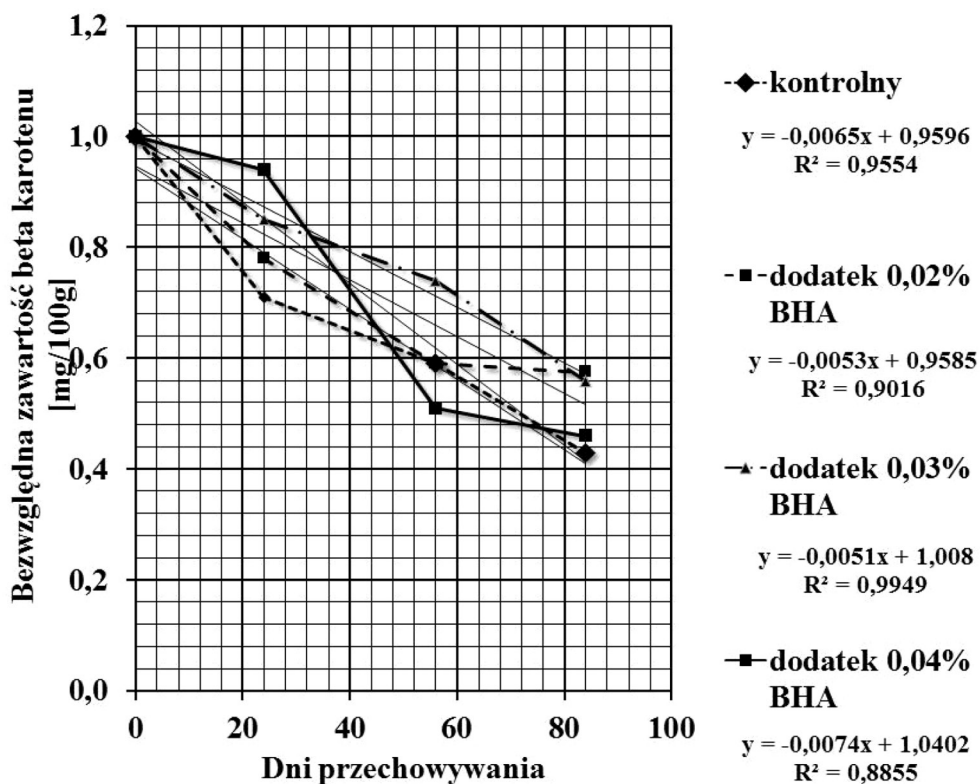
Źródło: opracowanie własne.

Figure 2. Effect of addition of BHA on β -carotene stability under conditions of daylight, at room temp.

Source: own elaboration.

Tendencje wpływu ilości dodatku BHA na tempo degradacji β -karotenu zaobserwowano również w przypadku próbek przechowywanych bez dostępu światła dziennego (rys. 3).

Przy zastosowaniu BHA w ilości 0,04% obserwowano hamowanie rozpadu β -karotenu w pierwszych 4 tygodniach przechowywania, w okresie między 4 i 8 tygodniem nastąpiła intensywne degradacja barwnika, natomiast po 8 tygodniach tempo degradacji barwnika uległo zmniejszeniu. W przypadku próbek z dodatkiem 0,04% BHA stwierdzono największe zmniejszenie zawartości β -karotenu (degradacji uległo 54% barwnika) w porównaniu z próbkami zawierającymi 0,02 i 0,03% przeciwutleniacza. Tempo degradacji β -karotenu w próbkach zawierających 0,04% BHA (przechowywanych bez dostępu światła) było nawet większe niż w przypadku



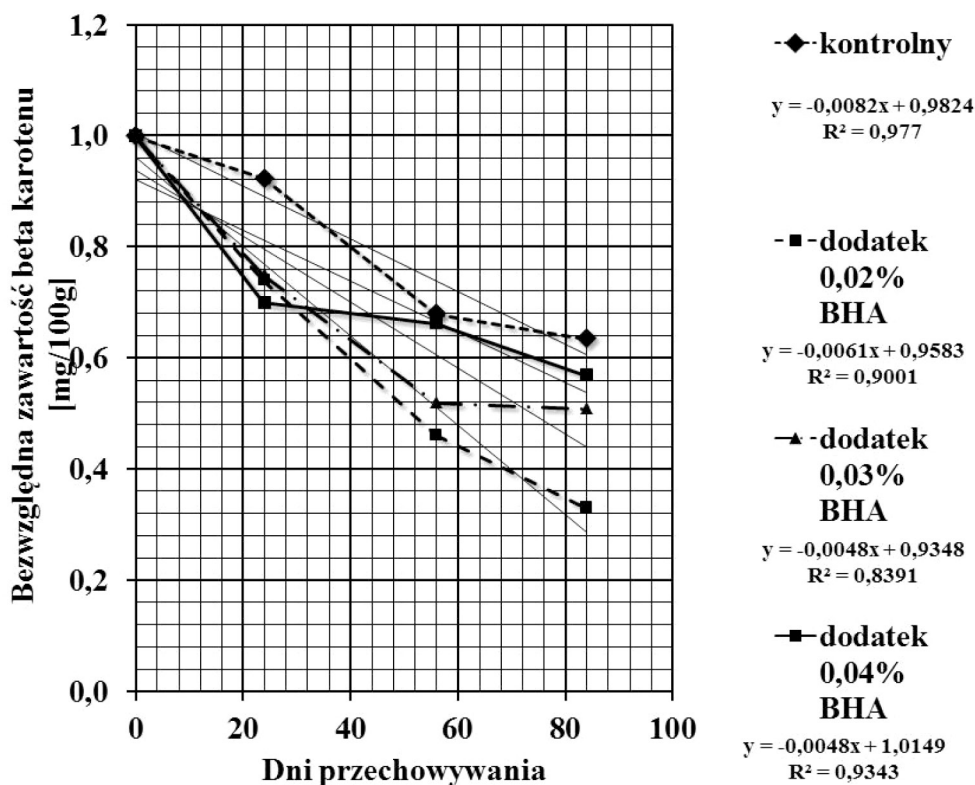
Rysunek 3. Wpływ dodatku BHA na stabilność β -karotenu w warunkach bez dostępu światła dziennego i w temp. pokojowej

Źródło: opracowanie własne.

Figure 3. Effect of addition of BHA on β -carotene stability under non-daylight, at room temp.

Source: own elaboration.

próbek bez dodatku BHA. Inne tempo przebiegu degradacji β -karotenu stwierdzono w przypadku próbek z dodatkiem 0,02% BHA i tylko te próbki były bardziej stabilne niż próbki, do których nie dodano BHA. Dzięki dodatkowi 0,02% BHA czas połowicznego rozpadu został wydłużony o 20 dni (rys. 8). W warunkach chłodniczych (rys. 1 i 4) tempo degradacji β -karotenu było większe po dodaniu BHA w porównaniu z próbkami bez dodatku przeciwutleniacza. Największa ilość β -karotenu uległa rozpadowi w próbkach z dodatkiem 0,04% BHA. Wyjaśnienie tego zjawiska wymagać będzie dalszych badań, niemniej można przypuszczać, że w warunkach chłodniczych i bez dostępu światła β -karoten okazał się silniejszym przeciwutleniaczem niż BHA i dlatego jego rozpad w obecności BHA był bardziej intensywny.



Rysunek 4. Wpływ dodatku BHA na stabilność β -karotenu w warunkach bez dostępu światła dziennego, w temp. chłodniczej

Źródło: opracowanie własne.

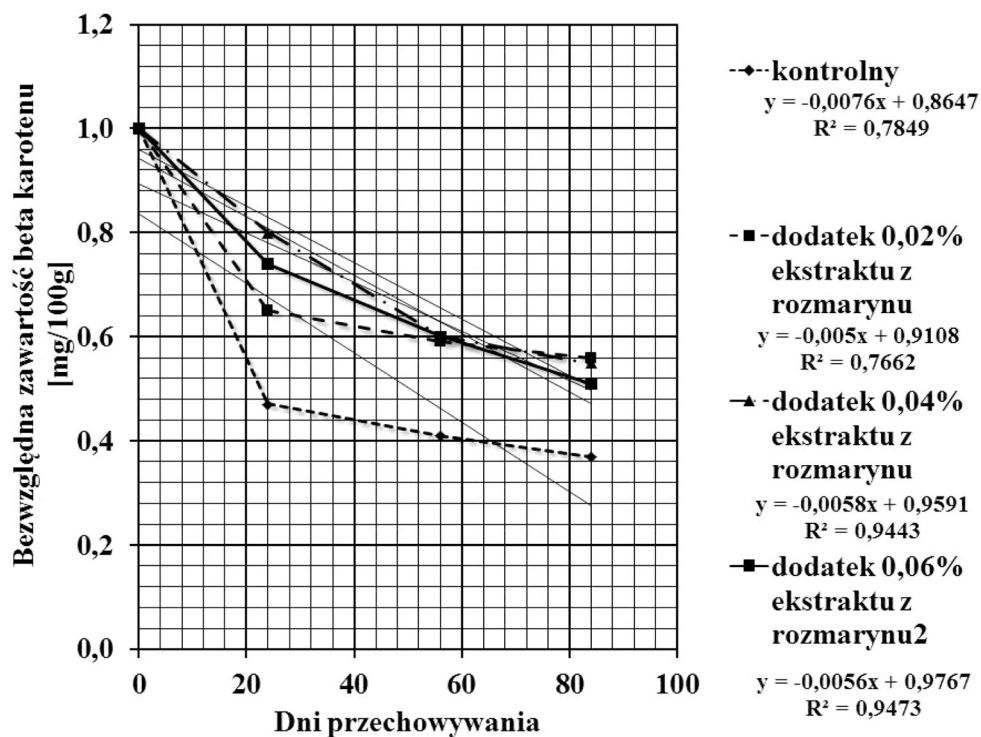
Figure 4. Effect of BHA on β -carotene stability under non-daylight in temperature, refrigerating

Source: own elaboration.

Przeprowadzone badania pozwalają na stwierdzenie, że dodatek BHA do olejowych koncentratów β -karotenu powodował wzrost stabilności barwnika podczas przechowywania w temperaturze pokojowej, z dostępem światła dziennego. Zwiększenie dawki przeciwutleniacza korzystnie wpłynęło na ograniczenie degradacji β -karotenu. Jednakże trzeba zaznaczyć, że dalsze zwiększenie ilości dodatku BHA nie jest możliwe, gdyż przekroczona zostałaby maksymalna dopuszczalna dawka BHA do olejów [Rozporządzenie MZ z dnia 22 kwietnia 2011 r. ...].

W kolejnych doświadczeniach podjęto próbę ograniczenia rozpadu β -karotenu poprzez dodatek ekstraktu z rozmarynu w ilości od 0,02 do 0,06% w stosunku do masy roztworów olejowych β -karotenu. W próbkach z dodatkiem ekstraktu rozma-

rynu przechowywanych w temperaturze pokojowej i przy dostępie światła stwierdzono zmniejszenie zawartości β -karotenu w czasie przechowywania. Podobnie jak w próbkach z dodatkiem BHA zmniejszenie to było największe w pierwszych 4 tygodniach przechowywania. Ilość dodatku ekstraktu rozmarynu miała wpływ na tempo omawianych zmian. Przy dawce 0,02% ekstraktu rozmarynu w czasie pierwszych 28 dni przechowywania degradacji uległo 34% barwnika, przy dawce 0,04 – 19% barwnika, a przy największej dawce, tj. 0,06 – 26% barwnika. We wszystkich analizowanych roztworach (rys. 5) zaobserwowano zależność polegającą na tym, że wraz z upływem czasu ilość rozłożonego β -karotenu w olejowych koncentratkach zmniejszała się. Dla próbek z dodatkiem 0,02 i 0,04% ekstraktu z rozmarynu czas połowicznego rozpadu wynosił około 95 dni, zwiększenie dawki ekstraktu do 0,06% spowodowało skrócenie tego czasu do 85 dni.



Rysunek 5. Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu na stabilność β -karotenu w warunkach z dostępem światła dziennego, w temp. pokojowej

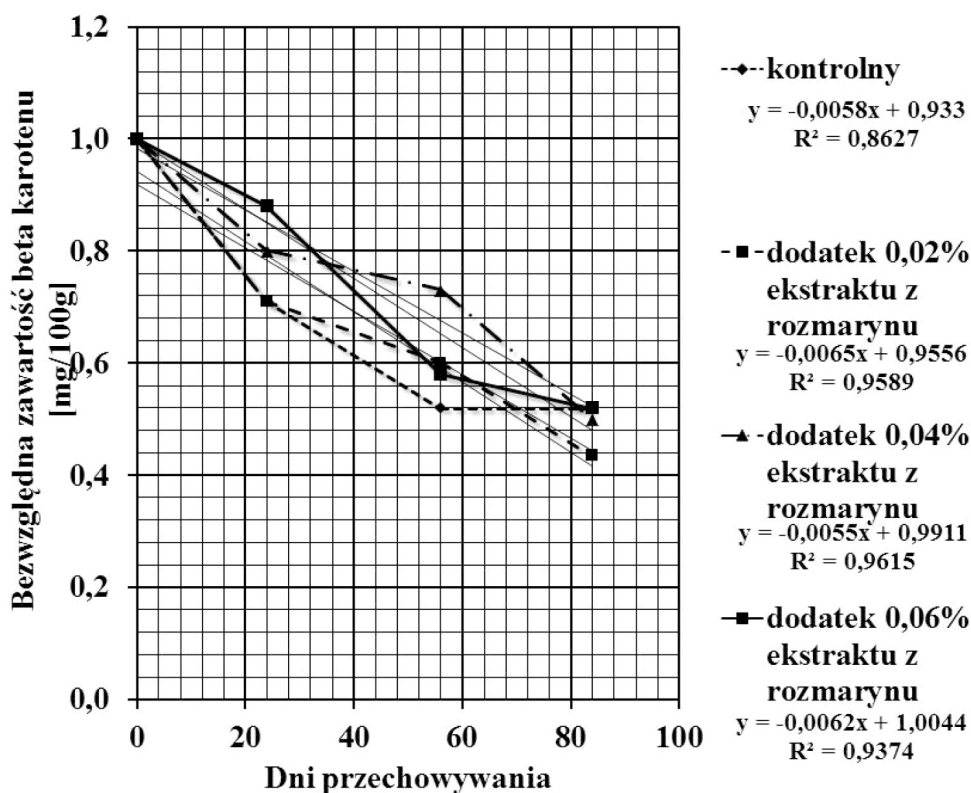
Źródło: opracowanie własne.

Figure 5. Effect of rosemary extract on the stability of β -carotene in conditions of daylight at room temp.

Source: own elaboration.

Porównując stabilność próbek z dodatkiem BHA i ekstraktu z rozmarynu, przechowywanych w temperaturze pokojowej i z dostępem światła dziennego (rys. 2, 5, 8), stwierdzono, że rozmaryn wykazuje większą zdolność do stabilizacji β -karotenu niż BHA.

Po dodaniu ekstraktu z rozmarynu do próbek przechowywanych w temperaturze około 20°C i bez dostępu światła (rys. 6) zauważono, że stabilność β -karotenu była uzależniona od ilości dodatku tego naturalnego przeciwutleniacza. Najmniejsza ilość barwnika uległa rozkładowi w próbkach, do których dodano 0,06% ekstraktu z rozmarynu, a największa przy 0,02% dodatku przeciwutleniacza. Czas połowicznego rozpadu β -karotenu dla próbek przechowywanych bez dostępu światła był je-



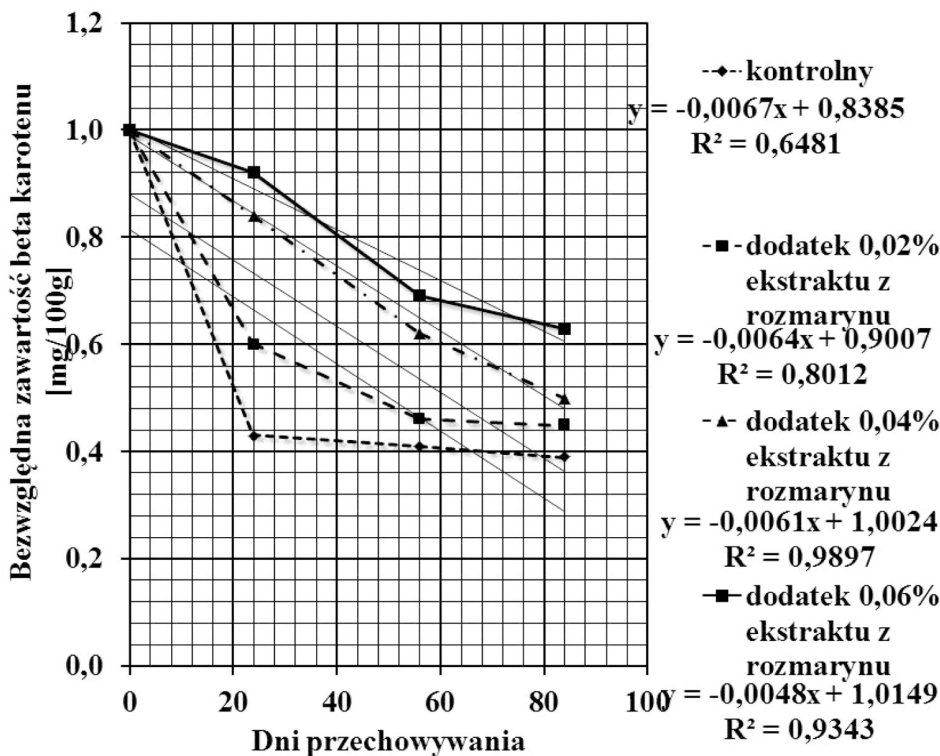
Rysunek 6. Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu na stabilność β -karotenu w warunkach bez dostępu światła dziennego, w temp. pokojowej

Źródło: opracowanie własne.

Figure 6. Effect of rosemary extract on the stability of β -carotene in conditions of non-daylight at room temp.

Source: own elaboration.

dynie dłuższy o około 10 dni w porównaniu z próbkami bez dodatku przeciwutleniacza. Porównując zdolność przeciwutleniającą ekstraktu z rozmarynu w próbkach przechowywanych z dostępem do światła i bez dostępu światła, stwierdzono, że jest ona znacznie mniejsza, gdy próbki nie są poddawane działaniu światła.



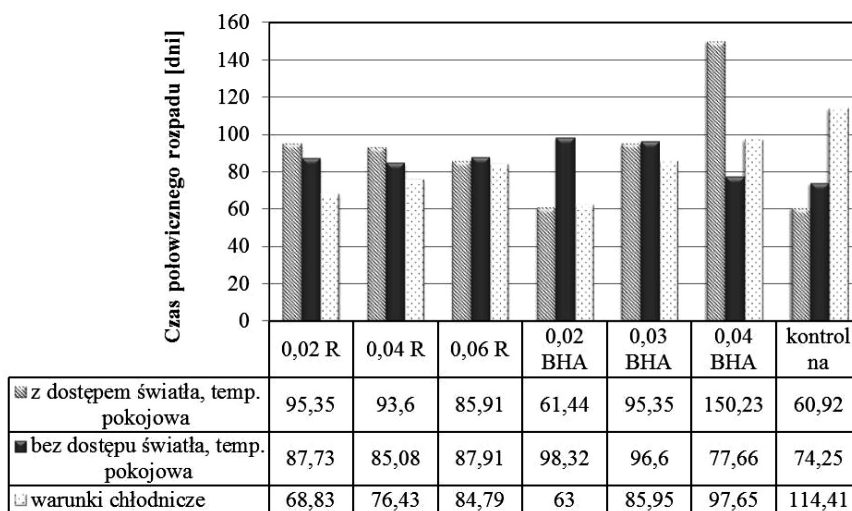
Rysunek 7. Wpływ dodatku ekstraktu z rozmarynu na stabilność β -karotenu w warunkach bez dostępu światła dziennego, w temp. chłodniczej

Źródło: opracowanie własne.

Figure 7. Effect of rosemary extract on the stability of β -carotene in conditions of absence of daylight, refrigerating

Source: own elaboration.

W przypadku próbek przechowywanych w warunkach chłodniczych dodatek ekstraktu z rozmarynu nie poprawił stabilności (rys. 1 i 7). Zaobserwowano, że rozmaryn przyspieszał rozkład β -karotenu, co skutkowało znacznym skróceniem czasu jego połowicznego rozpadu w porównaniu z czasem wyliczonym dla próbek bez dodatku przeciwutleniacza (rys. 8). Można przypuszczać, że w warunkach chłodniczych i bez dostępu światła koncentrat β -karotenu będzie lepiej chroniony niż przy zastosowaniu dodatku BHA lub ekstraktu z rozmarynu.



Rysunek 8. Czas połowicznego rozpadu i stała szybkości rozpadu β -karotenu w roztworach z przeciwutleniaczem (R – ekstrakt z rozmarynu)

Źródło: opracowanie własne.

Figure 8. The half-life and degradation rate constant of β -carotene in solution with an antioxidant (R – rosemary extract)

Source: own elaboration.

4. Zakończenie

Stabilność β -karotenu w roztworach olejowych była uzależniona od warunków przechowywania. Większą stabilność barwnika stwierdzono w próbkach przechowywanych bez dostępu światła i w temperaturze chłodniczej niż w próbkach przechowywanych w temperaturze około 20°C.

Stwierdzono, że zastosowanie przeciwutleniaczy w celu zwiększenia stabilności β -karotenu w olejowych koncentratkach jest uzasadnione tylko w przypadku przechowywania w temperaturze pokojowej, przy dostępie światła dziennego. W tych warunkach lepszym działaniem charakteryzował się ekstrakt z rozmarynu.

W następnym etapie badań porównana zostanie stabilność β -karotenu w olejowych roztworach i zamkniętego w mikrokapsułkach.

Literatura

- Block G., Langseth L., 1994, *Antioxidant vitamins and disease prevention*, "Food Technology", vol. 2, s. 80-84.
- Hać-Szymańczuk E., Roman J., Bednarczyk K., 2009, *Badanie aktywności przeciwbakteryjnej rozmarynu lekarskiego (Rosmarinus Officinalis)*, „Nauka. Przyroda. Technologie”, t. 3, nr 4, s. 1-9.
- Kunachowicz H., Nadolna I., Wojtasik A., Przygoda B., 2004, *Żywność wzbogacana a zdrowie*, Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa.
- PN-90A-75101/12: Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. *Oznaczenie sumy karotenoidów i β -karotenu*.
- Podsędek A., 2007, *Karotenoidy*, [w:] *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*, red. W. Grajek, WNT, Warszawa, s. 171-176.
- Robak J., Zachwieja Z., 1998, *Znaczenie karotenoidów w diecie człowieka oraz w leczeniu niektórych schorzeń*, Bromat. Chem. Toksykol., t. 31, nr 4, s. 295-301.
- Rodriguez-Amyaya D.B., 2001, *A Guide to Carotenoid Analysis in foods*, ILSI Press, Washington DC, USA.
- Rodriguez-Huezo M., Pedroza-Islas R., Prado-Barragan L., Beristain C.I., Vernon-Carter E., 2004, *Microencapsulation by spray drying of multiple emulsion containing carotenoids*, J Food Sci., vol. 69, s. E351-E359.
- Romano C.S., Abadi K., Repetto V., Vojnow A., Moreno S., 2009, *Synergic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives*, Food Chem., vol. 115, no. 2, s. 456-461.
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu (Dz. U. nr 94, poz. 933).
- Wilska-Jeszka J., 1994, *Barwniki*, [w:] *Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności*, red. Z.E. Sikorski, WNT, Warszawa, s. 399-426.

THE IMPACT OF ANTIOXIDANTS ON THE STABILITY OF OIL CONCENTRATES OF B-CAROTENE

Summary: The aim of this study was to determine the influence of the type and amount of antioxidants and conditions and storage time on the stability of oil concentrates of β -carotene. To the oil concentrates of β -carotene the rosemary extract in the amount of 0.02 – 0.06% and BHA in the amount of 0.02 – 0.04% was added. The determination of the stability of β -carotene was made by spectrophotometric determinations for β -carotene in oil solutions during The stability of oil concentrates of β -carotene depended on the storage conditions. Better stability was found in samples stored without access to the daylight and in cooling temperatures. The addition of antioxidants increased the stability of β -carotene in oil concentrates only during the storage at room temperature with access to daylight. The rosemary extract had better antioxidant properties in these conditions.

Keywords: β -carotene, antioxidants, BHA, rosemary.