

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Waclawa Dąbrowskiego –
Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie

mgr inż. Justyna Susik

**Studia nad pozyskiwaniem oleju kukurydzianego
spożywczego z ubocznego produktu
pofermentacyjnego z zastosowaniem technologii
zachowawczej**

Studies on the obtaining of edible corn oil from post-fermentation by-
product using preservative technology

Praca doktorska
Doctoral thesis

Promotor

prof. dr hab. inż. Stanisław Ptasznik
Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. W. Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Technologii Mięsa i Tłuszczu

Promotor pomocniczy

dr inż. Katarzyna Ratusz
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Wydział Technologii Żywności, Instytut Nauk o Żywności

Recenzenci:

prof. dr hab. inż. Magdalena Rudzińska
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego

prof. dr hab. inż. Wojciech Golimowski
Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu
Wydział Inżynierii Produkcji

dr hab. inż. Małgorzata Wroniak, prof. SGGW
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Wydział Technologii Żywności, Instytut Nauk o Żywności

Warszawa, 2024

Serdeczne podziękowania składam:

Panu Prof. dr hab. inż. Stanisławowi Ptasznikowi, Promotorowi niniejszej pracy za pomoc i rady podczas prowadzenia eksperymentów, przekazaną wiedzę, motywację do pracy, wyrozumiałość i cierpliwość.

Pani dr inż. Katarzynie Ratusz, Promotorowi pomocniczemu niniejszej pracy za cenne rady, krytyczne uwagi oraz okazaną sympatię.

Mojemu mężowi Maciejowi, córce Martynie i synowi Maksymilianowi oraz całej rodzinie za każdy dzień zrozumienia, wsparcia, mobilizację do pracy i wiarę w to, że dzięki pracy mogę osiągnąć zamierzony cel.

Panu Prezesowi mgr inż. Wiesławowi Dziągowi i Panu mgr inż. Grzegorzowi Sawickiemu za możliwość rozwoju moich zainteresowań naukowych, poparcie nowych pomysłów i wspieranie przy ich realizacji oraz mobilizację.

Pani mgr Magdalenie Czernin za wsparcie, cierpliwość i nieocenioną pomoc przy realizacji badań do niniejszej pracy.

Pracę dedykuję moim dzieciom

Warszawa, dn. 06.09.2024

Prof. dr hab. inż.
stopień/tytuł naukowy Promotora

Stanisław Ptasznik
Imię i nazwisko Promotora

Nauki rolnicze / Technologia Żywności i Żywnienia
Dziedzina / dyscyplina naukowa Promotora

Oświadczenie Promotora o przyjęciu rozprawy doktorskiej Pani/Pana

mgr inż. (mgr/inż.)¹ Justyna Susik

**pt.: Studia nad pozyskiwaniem oleju kukurydzianego spożywczego z ubocznego produktu
pofermentacyjnego z zastosowaniem technologii zachowawczej**

Dziedzina: nauki rolnicze

Dyscyplina naukowa: technologia żywności i żywienia / ~~rolnictwo i ogrodnictwo~~ / zootechnika
i rybactwo²

Jako promotor przyjmuję rozprawę doktorską, która spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. 2023, poz. 742 z późn. zm.) oraz może być skierowana do dalszych etapów związanych z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora.

06.09.2024 J. Ptasznik
Data i podpis Promotora

¹ Niepotrzebne wykreślić

² Pozostawić właściwą dyscyplinę, pozostałe wykreślić

Warszawa, dn. 04 09 2024

Dr inż.
stopień/tytuł naukowy Promotora Pomocniczego

Katarzyna Ratusz
Imię i nazwisko Promotora Pomocniczego

Nauki rolnicze / Technologia Żywności i Żywienia
Dziedzina / dyscyplina naukowa Promotora

Oświadczenie Promotora Pomocniczego o przyjęciu rozprawy doktorskiej Pani/Pana

mgr inż. (mgr/inż.)¹ Justyna Susik

**pt.: Studia nad pozyskiwaniem oleju kukurydzianego spożywczego z ubocznego produktu
pofermentacyjnego z zastosowaniem technologii zachowawczej**

Dziedzina: nauki rolnicze

Dyscyplina naukowa: technologia żywności i żywienia /rolnictwo i ogrodnictwo / zootechnika
i rybaństwo²

Jako promotor pomocniczy przyjmuję rozprawę doktorską, która spełnia wymagania określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. 2023, poz. 742 z późn. zm.) oraz może być skierowana do dalszych etapów związanych z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora.

04 09 2024 K.R. R.
Data i podpis Promotora

¹ Niepotrzebne wykreślić

² Pozostawić właściwą dyscyplinę, pozostałe wykreślić

Oświadczenie Autora rozprawy doktorskiej

Świadom(a) odpowiedzialności prawnej oświadczam, że rozprawa doktorska przygotowana przeze mnie nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami prawa.

Oświadczam również, że przedstawiona rozprawa nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego w wyższej uczelni lub innej uprawnionej instytucji naukowej.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja rozprawy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Data.....24.09.2024..... Podpis autora rozprawy doktorskiej.....Justyna Susik.....

STRESZCZENIE

Studia nad pozyskiwaniem oleju kukurydzianego spożywczego z ubocznego produktu pofermentacyjnego z zastosowaniem technologii zachowawczej

Rozprawa doktorska poświęcona jest badaniom nad rafinacją oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, którego jakość odpowiadałaby jakości spożywczej. Surowy olej kukurydziany otrzymany jako produkt uboczny w procesie produkcji etanolu, charakteryzuje się wysoką liczbą kwasową, ciemnym zabarwieniem, zapachem charakterystycznym dla procesów fermentacyjnych i z tych powodów nie nadaje się do spożycia. W ramach przeprowadzonych badań zastosowano technologię rafinacji, obejmującą procesy neutralizacji, bielienia, winteryzacji i odwaniania. Po każdym jednostkowym procesie kontrolowano jakość otrzymanego oleju. Zaobserwowano, że proces neutralizacji za pomocą roztworu wodorotlenku sodu lub żywicy jonowymiennej daje pozytywne wyniki i pozwala uzyskać olej o niskiej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych, pozostawiając wysoką zawartość substancji bioaktywnych takich jak fitosterole. W procesie bielienia oleju kukurydzianego pofermentacyjnego uzyskano optymalne wyniki, stosując ziemie bielące Tnosil 41AFF i Supreme 122FF. Otrzymano olej o niskiej zawartości składników barwiących, głównie karotenoidów. W dalszej kolejności przeprowadzono usunięcie wosków (odwoskowanie) oraz dezodoryzację, uzyskując olej charakteryzujący się obniżoną liczbą kwasową i nadtlenkową, pożądanym smakiem i zapachem oraz jasną barwą. Zastosowanie optymalnych warunków, w jakich przeprowadzono deodoryzację, nie spowodowało istotnej straty fitosteroli. Ostatnią częścią badań była ocena jakości rafinowanego oleju kukurydzianego pofermentacyjnego oraz porównanie właściwości fizykochemicznych i sensorycznych na tle innych olejów kukurydzianych otrzymanych metodami standardowymi. Wykonane badania potwierdziły jednoznacznie, iż olej kukurydziany pofermentacyjny po procesie rafinacji posiadał akceptowalną ocenę w aspekcie jego zapachu, smaku i barwy oraz zgodne parametry jakościowe z wytycznymi Standardu Codex Alimentarius, dla oleju kukurydzianego rafinowanego z zarodków kukurydzianych. Uzyskane wyniki potwierdzają, iż zastosowana metoda rafinacji skutecznie poprawia jakość oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. Olej kukurydziany pofermentacyjny w wyniku zastosowanego zachowawczego sposobu oczyszczania odznacza się wysoką zawartością fitosteroli, co potwierdza jego właściwości prozdrowotne.

W pracy udowodniono, iż za pomocą dostosowania istniejących metod rafinacji, możliwe jest otrzymanie oleju kukurydzianego, spełniającego wymagania dla oleju jadalnego zgodnie z międzynarodowymi standardami.

Słowa kluczowe: olej kukurydziany pofermentacyjny, zarodki kukurydziane, rafinacja, neutralizacja, bielienie, deodoryzacja, ocena sensoryczna.

ABSTRACT

Studies on the obtaining of edible corn oil from post-fermentation by-product using preservative technology

The doctoral dissertation is devoted to research on refining post-fermentation corn oil, the quality of which would correspond to food quality. Crude corn oil, obtained as a by-product of ethanol production, is characterized by high acidity, dark colour, odour typical for fermentation processes. As part of the studies, refining processes were used, which included neutralization, bleaching, winterization and deodorization. After each unit process, the quality of the resulting oil was checked and the basic physicochemical parameters were analysed.

It has been observed that the neutralization process with sodium hydroxide solution or ion exchange resin gives positive results and allows to obtain an oil with a low content of free fatty acids, leaving a high content of bioactive substances such as phytosterols. After that in the process of bleaching post-fermentation corn oil, optimal results were obtained using Tnosil 41AFF and Supreme 122FF bleaching earths, obtaining an oil with a lower content of colouring components, including carotenoids. After bleaching, the oil was subjected to winterization and deodorization, where an oil with a reduced acid value, peroxide value, good taste and odour, and a lower content of colouring substances was obtained. The mild conditions under which deodorization was carried out did not result in a significant loss of phytosterols.

The last part of the study was the assessment of the quality of the obtained refined post-fermentation corn oil and the comparison of its physicochemical and sensory properties against other corn oils obtained by standard methods. The tests carried out have clearly confirmed that the post-fermentation corn oil after the refining process has an desired rating in terms of its smell, taste and colour, as well as quality parameters in accordance with the Codex Alimentarius guidelines, which have been determined for corn oil obtained from corn germ. The obtained results confirm that the applied refining effectively improves the quality of post-fermentation corn oil. Corn oil, as a result of the applied purification method, has a high content of phytosterol, which are attributed with health-promoting properties.

In conclusion the paper proves that with adaptation of existing refining methods it is possible to obtain post-fermentation corn oil, the quality of which corresponds to food quality, within the parameters set by international standards.

Key words: post-fermented corn oil, corn germs, refining, neutralization, bleaching, deodorization, sensory assessment.

WYKAZ SKRÓTÓW	17
1. WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO PRZEDKŁADANEGO DO OCENY	19
2. WPROWADZENIE I PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA	21
2.1. WSTĘP.....	21
2.2. KUKURYDZA	22
2.3. OLEJ KUKURYDZIANY	22
2.4. METODY OTRZYMYWANIA OLEJU KUKURYDZIANEGO	23
2.5. METODY OTRZYMYWANIA OLEJU KUKURYDZIANEGO PO FERMENTACYJNEGO.....	24
2.6. METODY RAFINACJI FIZYKOCHEMICZNEJ OLEJÓW ROŚLINNYCH	27
2.6.1. Odkwaszanie olejów roślinnych.....	27
2.6.2. Bielenie olejów roślinnych.....	30
2.6.3. Odwoskowanie olejów roślinnych	32
2.6.4. Dezodoryzacja olejów roślinnych	33
2.7. SUBSTANCJE TOWARZYSZĄCE W OLEJACH ROŚLINNYCH	35
2.7.1. Fitosterole.....	36
2.7.2. Karotenoidy.....	39
3. CEL I HIPOTEZY BADAWCZE	41
4. ZAKRES PRACY	43
5. MATERIAŁ DOŚWIADCZALNY I METODY BADAŃ	45
5.1. MATERIAŁ BADAWCZY	45
5.2. METODY BADAŃ	46
5.2.1. Część technologiczna	46
5.2.2. Analiza fizykochemiczna	51
5.2.3. Analiza statystyczna.....	57
6. CYKL PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ	59
PUBLIKACJA 1	61
PUBLIKACJA 2	75
PUBLIKACJA 3	89
PUBLIKACJA 3	91
PUBLIKACJA 4	103
7. WYNIKI I DYSKUJA.....	117
7.1. CHARAKTERYSTYKA OLEJU KUKURYDZIANEGO PO FERMENTACYJNEGO.....	117
7.2. WPLYW PROCESU NEUTRALIZACJI NA JAKOŚĆ OLEJU KUKURYDZIANEGO PO FERMENTACYJNEGO.....	119
7.3. WPLYW PROCESU BIELENIA NA JAKOŚĆ OLEJU KUKURYDZIANEGO PO FERMENTACYJNEGO PO NEUTRALIZACJI.....	123

7.4.	WPLYW PROCESU WINTERYZACJI NA JAKOŚĆ OLEJU KUKURYDZIANEGO POFERMENTACYJNEGO PO BIELENIU.....	125
7.5.	WPLYW PROCESU DEZODORYZACJI NA JAKOŚĆ OLEJU KUKURYDZIANEGO POFERMENTACYJNEGO PO BIELENIU I WINTERYZACJI.....	127
7.6.	OCENA JAKOŚCI ŻYWIENIOWEJ OLEJU KUKURYDZIANEGO POFERMENTACYJNEGO RAFINOWANEGO.....	129
7.6.1.	Badania porównawcze	130
7.6.2.	Ocena jakości oleju kukurydzianego pofermentacyjnego zgodnie z wymaganiami Standardu Codex Alimentarius	132
8.	STWIERDZENIA I WNIOSKI.....	133
9.	SPIS LITERATURY.....	137

WYKAZ SKRÓTÓW

A269	absorbancja przy długości fali 269 mm, <i>absorbance 269 mm wavelength</i>
A446	absorbancja przy długości fali 446 mm, <i>absorbance 446 mm wavelength</i>
BECO	inna nazwa dla oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, dosłownie olej kukurydziany z końca procesu, <i>Back-End Corn Oil</i>
BSTFA	N,O-Bis(trimetylosililo)trifluoroacetamid
DCO	inna nazwa dla oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, dosłownie: olej kukurydziany destylacyjny, <i>Distiller Corn Oil</i>
DDGS	Suszony gorzelniany wywar kukurydziany, <i>Dried Distillers Grains with Solubles</i>
DOBI	współczynnik pogorszenia bielenia; <i>DOBI coefficient Deterioration Of Bleachability Index</i>
KT	kwasy tłuszczowe, <i>FA fatty acid</i>
LA	liczba anizydynowa, <i>AnV (p-AV) Anisidine Value</i>
LJ	liczba jodowa, <i>IV – Iodine Value</i>
LK	liczba kwasowa, <i>AV - Acide Value,</i>
LN	liczba nadtlenkowa, <i>PV – Peroxide Value</i>
LZ	liczba zmydlania, <i>SV – Saponification Value</i>
s.m.b.	sucha masa beztłuszczowa, <i>d.m – dry mass</i>
SNZ	substancje niezmydlające, <i>UM – Unsaponifiable Matter</i>
TL	strata teoretyczna, <i>teoretical losses</i>
TMCS	Chlorotrimetylosilan
WKT	wolne kwasy tłuszczowe, <i>FFA – Free Fatty Acid;</i>

1. WYKAZ PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO PRZEDKŁADANEGO DO OCENY

Na cykl publikacji stanowiących rozprawę doktorską pt.: „Studia nad pozyskiwaniem oleju kukurydzianego spożywczego z ubocznego produktu pofermentacyjnego z zastosowaniem technologii zachowawczej” składa się spójny tematycznie zbiór czterech publikacji zgodny z wymaganiami art. 13 ust. 2 ustawy z dn. 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 Nr 65 poz. 595 ze zm.):

Cykl publikacyjny obejmuje trzy pozycje opublikowane w anglojęzycznych czasopismach należących do listy Journal Citation Report oraz jednej pozycji o charakterze przeglądowym w czasopiśmie krajowym.

[P1] **Susik J.** (2021) Metody otrzymywania oleju kukurydzianego determinujące jego właściwości chemiczne. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 28, 4 (129), 47 – 56, DOI: 10.15193/zntj/2021/129/399.

MNiSW / MEiN₂₀₂₁ = **20** pkt

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: przeprowadzeniu badań literaturowych, przygotowanie tekstu manuskryptu, wykonaniu rysunku; odpowiedzi na uwagi recenzentów i korespondencja z redaktorem naczelnym czasopisma; edycja do ostatecznej formy.

[P2] **Susik J.***, Ptasznik S. (2023) The first stage of refining of post-fermentation corn oil with a high content of free fatty acids and phytosterols – Comparison of neutralisation by an ion-exchange resin without solvent and base neutralisation. *Food Research International*, 164, 112302, doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112302.

IF₂₀₂₂=**8.1**, MNiSW / MEiN₂₀₂₃ = **140** pkt

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji i planu pracy, wyborze metodyki badań i walidacja, zapewnienie potrzebnych surowców i aparatury, wykonaniu doświadczeń, analizie i opracowaniu wyników, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego.

[P3] **Susik J.***, Ptasznik S. (2023) Effect of bleaching with different clay on the final composition of post-fermentation corn oil with high content of β -sitosterol. *LWT Food Science and Technology*, 184, 114958, doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114958.

IF₂₀₂₂=**6.0**, MNiSW / MEiN₂₀₂₃ = **100** pkt

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji i planu pracy, wyborze metodyki badań, walidacji, zapewnienie potrzebnych surowców i aparatury, wykonaniu doświadczeń, analizie i opracowaniu wyników, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego.

[P4] **Susik J.***, Ptasznik S. (2024) Comparison of deodorized post-fermentation corn oil to commercial corn germ oil. *LWT Food Science and Technology*, 116161, doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116161

IF₂₀₂₂=**6.0**, MNiSW / MEiN₂₀₂₃ = **100** pkt

Mój wkład w powstanie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji i planu pracy, wyborze metodyki badań, zapewnienie potrzebnych surowców i aparatury, wykonaniu doświadczeń, analizie i opracowaniu wyników, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego.

Spójny tematycznie zbiór publikacji będący podstawą do ubiegania się o tytuł doktora w dziedzinie nauk rolniczych, dyscyplina technologia żywności i żywienia, zawiera cztery publikacje o łącznym współczynniku IF = **20.1**, co odpowiada **360** punktom MNiSW/MEiN. IF oraz liczbę punktów MNiSW / MEiN obliczono na podstawie danych z roku, w którym ukazała się publikacja lub ostatniego roku, dla którego dane te zostały opublikowane.

2. WPROWADZENIE I PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA

2.1. WSTĘP

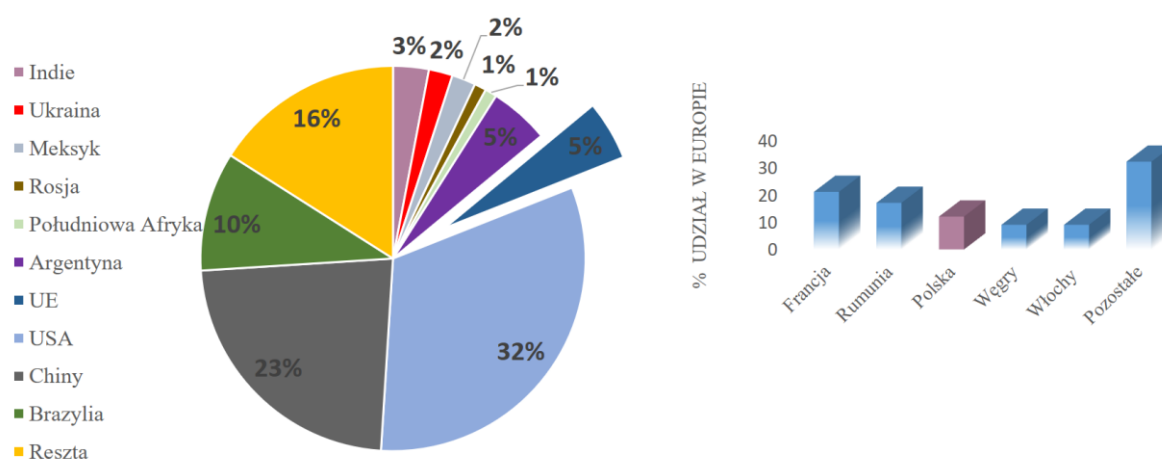
Olej kukurydziany pofermentacyjny jest otrzymywany podczas produkcji bioetanolu z kukurydzy, jako produkt uboczny. W procesie fermentacji całych ziaren kukurydzy i oddestylowaniu etanolu powstają wywary pogorzelnicze, z których odzyskiwana jest frakcja tłuszczowa. Dotychczasowe doniesienia literaturowe wskazują, iż w stanie surowym i nieoczyszczonym olej wykorzystuje się, jako surowiec do produkcji biopaliw oraz jako dodatek do mieszanek paszowych. Jednocześnie zawarte w oleju bioaktywne substancje o właściwościach przeciwutleniających, przeciwzapalnych, hipocholesterolemicznych, przeciwstarzeniowych pozostają zasadniczo niewykorzystane. Aktualnie brakuje doniesień literaturowych na temat otrzymywania oleju kukurydzianego pofermentacyjnego spożywczego o potwierdzonej jakości.

W związku z tym zaistniała potrzeba opracowania zachowawczych metod rafinacji, pozwalających na otrzymanie rafinowanego oleju kukurydzianego pofermentacyjnego spełniającego wymagania jakościowe stawiane olejom spożywczym. Jednym z powodów podjęcia niniejszego tematu badawczego była niestandardowa jakość materiału badawczego, który różni się istotnie jakością w stosunku do olejów zarodkowych. Badania nad zachowawczą rafinacją dają szansę na otrzymanie produktu o większej zawartości składników prozdrowotnych, jakimi są fitosterole.

Badania prowadzone w ramach doktoratu posiadają charakter poznawczy i w przyszłości umożliwią rafinację w warunkach przemysłowych. Opracowanie optymalnego schematu oczyszczania oraz wyznaczenie optymalnych warunków procesu pozwolą na otrzymanie produktu o korzystnej jakości. Ponadto wraz ze zwiększającą się liczbą ludności, brakiem pożywienia, wykorzystanie produktu ubocznego, jakim jest surowy olej pofermentacyjny, wpisuje się w politykę cyklu zamkniętego i oszczędnego gospodarowania płodami rolnymi.

2.2. KUKURYDZA

Kukurydza (*Zea Meas L.*) to roślina jednoroczna, która należy do rodziny wielichowatych. Według doniesień historycznych nasiona tego ziarna uprawiane były ponad 6,7 tysiąca lat temu. Dzisiaj kukurydza jest powszechnie uprawianym zbożem, a w roku 2023 światowa produkcja kukurydzy osiągnęła wartość 1 230 241 tys. ton [IPAD, 2023]. Najwięcej tego ziarna uprawia się w Ameryce Północnej i Chinach (rys 1). W zależności od odmiany biologicznie ziarno kukurydzy posiada 61-78% skrobi w przeliczeniu na suchą masę, białka 6-12% s.m. i tłuszczu 3-6% s.m. [Zhang i wsp., 2021]. Obecnie głównymi kierunkami wykorzystania kukurydzy są: pasze dla zwierząt, żywność i produkcja bioetanolu.



Rysunek 1. Procentowy udział w światowej produkcji kukurydzy w roku 2023 oraz w UE (dane USDA.GOV).

2.3. OLEJ KUKURYDZIANY

Biorąc pod uwagę różnorodność odmian kukurydzy, zawartość oleju w ziarnie mieści się w przedziale 4,2 – 6,8 g/100g [Vázquez-Carrillo i wsp., 2015]. Frakcja tłuszczowa w przeważającej ilości znajduje się zarodku kukurydzianym i potrafi osiągać 44 g/100g masy zarodka [Esmata i wsp., 2018]. Olej otrzymany z zarodków charakteryzuje się wysoką zawartością kwasów nienasyconych. Kwas linolowy (C18:2), należący do grupy kwasów omega-6, jest w przeważającej ilości i osiąga zawartość w przybliżeniu 57 g/100g oleju [Publikacja 1]. Ogólna zawartość kwasów nasyconych jest na niskim poziomie i największą ilość reprezentuje w oleju kukurydzianym kwas palmitynowy (C16:0) w ilości

10, 72 g/100g oleju [Moreau i wsp., 2009]. Poza wysoką zawartością korzystnych dla zdrowia kwasów nienasyconych olej kukurydziany jest źródłem innych związków bioaktywnych, takich jak fitosterole czy karotenoidy. Według doniesień literaturowych olej ten posiada 800mg/100g fitosteroli oraz niską zawartość związków karotenoidowych (2,3 µg/g). Zaakcentować należy wysoką zawartość substancji przeciwutleniających w oleju po ekstrakcji heksanem, do których należą tokoferole i tokotrienole, a ich ilość sięga 320 mg/100g oleju [Moreau i wsp., 2010].

Odmienne właściwości prezentuje olej kukurydziany pofermentacyjny, znany również pod nazwami DCO (Distiller Corn Oil) i Back-End Corn Oil (BECO). Ze względu na specyficzny sposób otrzymywania olej odznacza się wyższą zawartością wolnych kwasów tłuszczowych, których ilość mieści się w przedziale 11-16 % mas. i stosunkowo niską zawartością fosfolipidów oznaczonych jako fosfor w ilości 3,5 – 34,5 mg/kg oleju [Moreau i wsp., 2010; Di Lena i wsp., 2020]. Warto wspomnieć o większej zawartości substancji biologicznie aktywnych. Z dotychczasowych badań wynika, że zawartość fitosteroli w oleju kukurydzianym pofermentacyjnym wynosi 600 – 930 mg/100g, tokoferoli 90 – 108 mg/100g, oraz znaczne ilości karotenoidów charakterystycznych dla kukurydzy takich jak: β-kryptoksantina (103 – 170 µg/g), luteina (86 – 95 µg/g), czy zeaksantina (56 – 88 µg/g). Zaobserwowano, że olej odseparowany z wywarów podestylacyjnych charakteryzuje się wyższą zawartością wosków łącznie z estrami steroli (3640 – 4100 mg/100g). Z badań wynika również, że w oleju pofermentacyjnym zostały zidentyfikowane znaczne ilości związków fenolowych, takich jak estry kwasu hydroksycynamonowego (380 – 410 mg/100g), posiadające silne właściwości przeciwutleniające, i których obecności nie stwierdzono w olejach kukurydzianych pochodzących z zarodków [Moreau i wsp., 2010].

W przeglądowej **Publikacji 1** opisałam również parametry charakterystyczne dla olejów kukurydzianych wyizolowanych z łusek kukurydzianych oraz całych nasion kukurydzy, będących do tej pory przedmiotem jedynie badań naukowych.

2.4. METODY OTRZYMYWANIA OLEJU KUKURYDZIANEGO

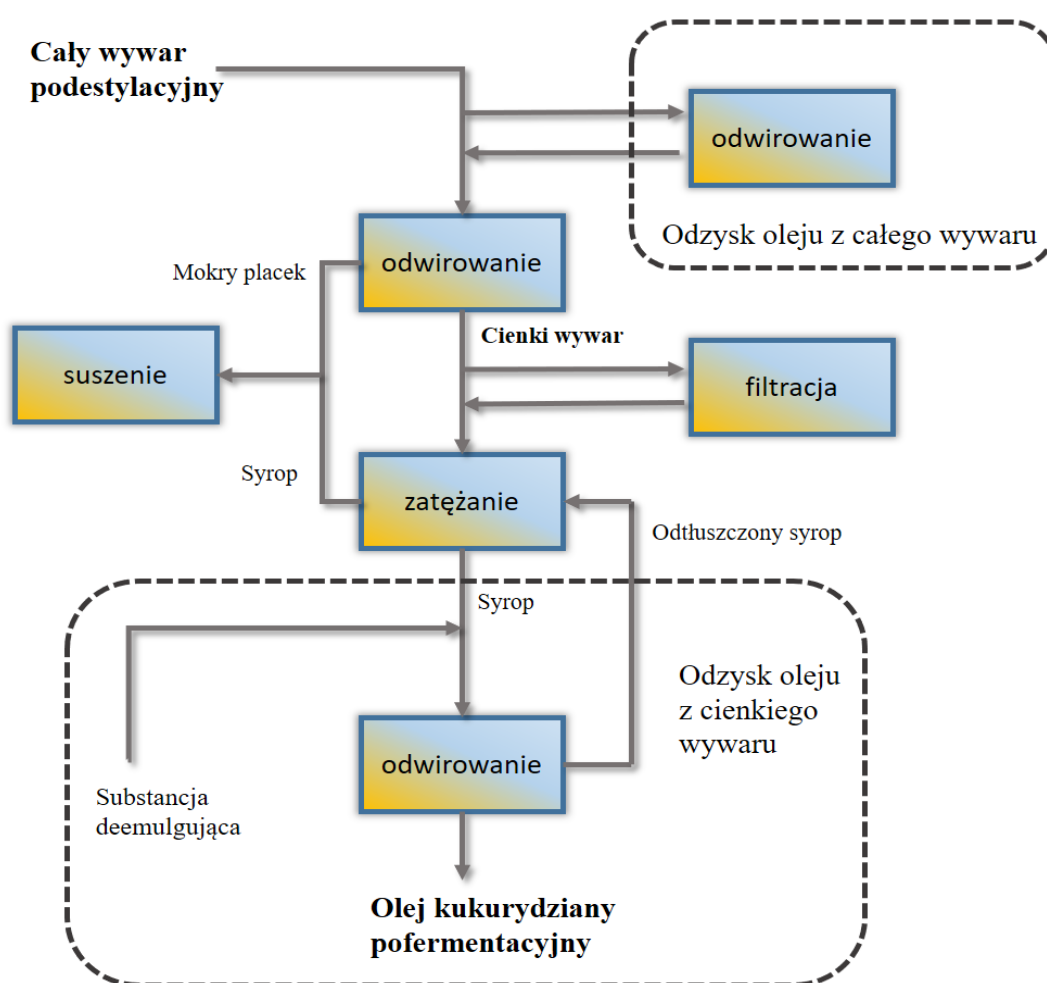
Metody otrzymywania oleju kukurydzianego zostały opisane w przeglądowej **Publikacji 1**. Powszechnym sposobem otrzymywania oleju jest odseparowanie zarodków kukurydzianych z ziarna i poddanie ich procesom tłoczenia oraz ekstrakcji

rozpuszczaniem. Oleje tłoczone w niższych temperaturach, ze względu na dobrą jakość, mogą być wykorzystywane jako dressingi do sałatek. Natomiast wysokotemperaturowe tłoczenie w połączeniu z ekstrakcją, np. heksanem, zazwyczaj wymagają zastosowania dodatkowych procesów rafinacyjnych, które pozwalają na otrzymanie oleju dobrej jakości. Wówczas rafinowany olej kukurydziany może być stosowany do smażenia ze względu na wysoką temperaturę dymienia, osiągającą wartość 230 – 236°C, oraz jako składniki np. majonezów, margaryn [Barrera-Arellano i wsp., 2019; Dymińska i wsp., 2021]. Drugim przemysłowym sposobem otrzymywania oleju kukurydzianego jest wyizolowanie go z wywarów pogorzelnicznych w procesie otrzymywania bioetanolu z kukurydzy. Oleje pofermentacyjne wykorzystywane są jako surowiec do produkcji biopaliw lub jako dodatek tłuszczowy do mieszanek paszowych [Kerr i wsp., 2016; Di Lena i wsp., 2020]. W **Publikacji 1** opisano również laboratoryjne sposoby otrzymywania oleju z łuski kukurydzianej lub całych nasion oraz określono parametry zarówno otrzymanych olejów, jak i zawartość charakterystycznych grup substancji bioaktywnych. Oleje te jednak nie są wytwarzane w skali pozwalającej na komercjalizację i pozostają przedmiotem jedynie badań naukowych. Przedstawiłam przegląd publikacji uwzględniający enzymatyczne otrzymywanie oleju kukurydzianego, ekstrakcji dwutlenkiem węgla w warunkach nadkrytycznych oraz wyniki dotychczasowych badań nad wyizolowywaniem frakcji tłuszczowej z osadów pogorzelnicznych.

2.5. METODY OTRZYMYWANIA OLEJU KUKURYDZIANEGO POFERMENTACYJNEGO

W przeglądowej **Publikacji 1** zostały opisane ogólne metody produkcji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. Wchodząc w szczegóły technologii wytwarzania oleju pofermentacyjnego, należy podkreślić, że zasadniczym sposobem jego otrzymania jest wyizolowanie oleju z wywarów pogorzelnicznych (całego i/lub cienkiego wywaru). Na **Rysunku 2** poglądowo został przedstawiony schemat technologiczny przemysłowej produkcji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego w procesie „mielenia na sucho” kukurydzy, uwzględniający dwa warianty. Pierwszy wariant polega na separacji oleju z cienkiego wywaru pogorzelnicznego. Druga możliwość uwzględnia wyizolowanie oleju z całego wywaru pogorzelnicznego. Obie technologie wykorzystują przemysłowe urządzenia, takie jak dekantery, trikantery, ewentualnie separatory talerzowe [e Oliveira, & Rosentrater, 2020; Huda i wsp., 2021]. Wszystkie powyższe aparaty różnią się konstrukcją

oraz reżimem pracy, mimo to każde z nich działała na zasadzie siły odśrodkowej w celu oddzielenia faz ciekłych i stałych w oparciu o różnicę gęstości. Zadaniem dekanterów jest odseparowanie cząstek stałych (mokry placek) od pozostałej fazy ciekłej zwanej cienkim wywarem. Trikantery, podobnie jak dekantery, separują wywar na trzy frakcje: cząstek stałych, ciężką fazę ciekłą i lekką fazę olejową. Separatory talerzowe podobnie, tak jak poprzednie urządzenia oddzielają fazę stałą od ciekłej lub na zasadzie różnicy gęstości, dwie fazy ciekłe [Mukutuma i wsp., 2008]. Ponadto w stosowanych technologiach wykorzystuje się wyparki, służące do zateżnienia wywarów do postaci syropów, z których również odwirowywany jest surowy olej pofermentacyjny [Kohl i wsp., 2015].



Rysunek 2. Poglądowy schemat odzysku oleju z frakcji pogorzelnicznych. [Moreau i wsp., 2014].

Nie tylko odpowiednie i dedykowane urządzenia są konieczne do wyizolowania oleju z wywarów. Frakcja tłuszczowa tworzy stabilną emulsję z wodą w wywarze podestylacyjnym i konieczne jest zastosowanie odpowiednich warunków lub dodatków ułatwiających separację oleju na w/w urządzeniach. Wywary pogorzelniczne to mieszaniny

zawierające między innymi białka, które stabilizują emulsję olej/woda. Podwyższenie lub obniżenie pH roztworu powoduje rozbicie emulsji przez zmianę punktu izoelektrycznego białek [Sillero & Ribeiro, 1989]. Obniżenie pH poniżej 4 prowadzi do zwiększenia uzysku oleju. Natomiast wzrost pH powyżej 9 również zwiększa uzysk oleju, ale nie tak bardzo jak przy niskich pH [Majoni i wsp., 2011]. Kolejnym czynnikiem wpływającym na proces odzysku oleju jest temperatura. Z badań wynika, że przy temperaturze ok 60° C obserwuje się zwiększony odzysk oleju, na skutek najprawdopodobniej denaturacji białek i tym samym destabilizacji emulsji [Majoni i wsp., 2011]. Możliwe jest wykorzystanie dodatków, które działają jako deemulgatory, przyspieszając rozbicie emulsji. Takimi deemulgatorami są najczęściej związki polimerowe na bazie krzemu [Fang i wsp., 2015]. Dostępne są również biodegradowalne substancje rozbijające emulsję olej/woda takie jak poliole z sorbitolu, które zostały opatentowane przez firmę Solenis Technologies, L.P. [Shepperd i wsp., 2014]. Z badań wykonanych przez Luangthongkam i współpracowników wynika, że aż 67 % wag. z całkowitej ilości oleju w wywarach pogorzelnicznych pozostaje po dekantacji w mokrym placku w nienaruszonych komórkach i matrycach białkowo – polisacharydowych. W wyniku zastosowania mieszaniny enzymów (nieskrobiowej hydrolazy, proteazy i fitazy) na poszczególnych etapach produkcji bioetanolu, udało się zwiększyć udział frakcji tłuszczowej w cienkim wywarze po dekantacji z 32 % wag. do 78 % wag [Luangthongkami i wsp., 2015]. Zwiększenie odzysku oleju w wyniku zastosowania enzymów w połączeniu ze środkami powierzchniowymi (polisorbitolami) potwierdzali również Fang i współpracownicy [Fang i wsp., 2018].

2.6. METODY RAFINACJI FIZYKOCHEMICZNEJ OLEJÓW ROŚLINNYCH

Rafinacja olejów roślinnych to fizykochemiczne procesy, których nadrzędnym celem jest poprawa jakości olejów. W olejach otrzymanych w wyniku tłoczenia i/lub ekstrakcji rozpuszczalnikiem mogą znajdować się substancje niepożądane, powodujące z czasem utlenianie i jełczenie oleju. Do tych substancji należą będą nadtlutki, aldehydy, ketony, które powodują pogorszenie cech sensorycznych oleju. Poza wymienionymi substancjami mogą występować związki, mające charakter zanieczyszczeń technologicznych (zewnętrznych), np. metale ciężkie, pestycydy, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Dodatkowym celem rafinacji jest maksymalizacja wydajności przy jednoczesnym zatrzymaniu w oleju substancji biologicznie aktywnych, wśród których wyróżnić można fitosterole, karotenoidy, tokoferole [Berski & De Greyt, 2001]. W zależności od rodzaju oleju dobierany jest odpowiedni schemat rafinacji uwzględniający charakter zanieczyszczeń. W przypadku oleju kukurydzianego pofermentacyjnego konieczne jest zastosowanie następujących etapów rafinacji, które zostały opisane w **Tabeli 1**.

Tabela 1. Rafinacja olejów roślinnych z podziałem na poszczególne procesy [Dijkstra 2013, Gharby, 2022].

Nazwa procesu	Główny cel
Odkwaszanie wraz z myciem	Usuwanie wolnych kwasów tłuszczowych, pozostałości fosfolipidów, pigmentów
Bielenie	Usuwanie substancji barwnikowych, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, metali ciężkich
Odwoskowanie	Usuwanie naturalnych wosków
Odwanianie	Usuwanie lotnych produkty wpływające na smak i zapach oraz na jego stabilność oksydacyjną

2.6.1. Odkwaszanie olejów roślinnych

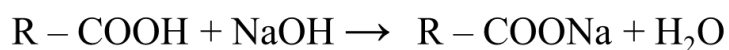
Oleje surowe o znacznym stopniu zhydrolizowania powinny przejść proces odkwaszania (inaczej neutralizacja), zazwyczaj łączony z następującym po sobie procesem mycia i suszenia. Głównym zadaniem procesu jest usunięcie z oleju wytworzonych wolnych kwasów tłuszczowych. Wolne kwasy tłuszczowe (WKT) w olejach powstają na skutek hydrolizy tłuszczu, czyli z chemicznego punktu widzenia estrów (triacylogliceroli),

wywołanej obecnością wody, enzymów, kwasów i temperatury [Avelar i wsp., 2013; Luo i wsp., 2014]. Konieczność usuwania z oleju WKT wynika z ich prooksydacyjnego charakteru, który może sprzyjać utlenianiu, już przy stężeniach 0,5 % wag. w oleju. [Paradiso i wsp., 2010]. Dodatkowym efektem neutralizacji jest redukcja zawartości fosfolipidów, metali ciężkich, a także związków barwnikowych, związków utlenionych [Gharby, 2022].

Wśród znanych metod odkwaszania wyróżnić można następujące sposoby usuwania wolnych kwasów tłuszczowych:

- odkwaszanie alkaliczne
- odkwaszanie fizyczne
- odkwaszanie adsorpcyjne

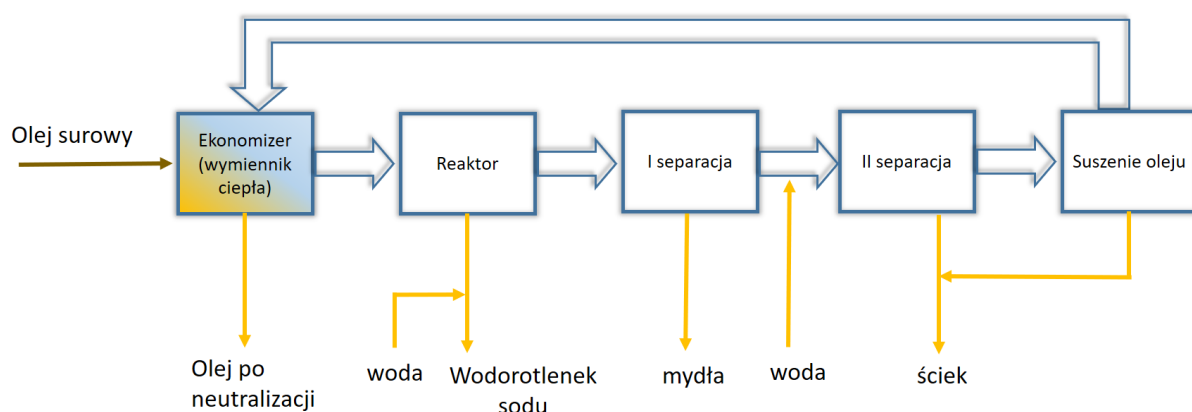
Odkwaszanie alkaliczne polega na przeprowadzeniu reakcji chemicznej pomiędzy wolnymi kwasami tłuszczowymi a zasadą [**Rysunek 3**]. Najczęściej stosowaną zasadą jest wodny roztwór wodorotlenku sodu. Utworzone mydła zostają usunięte z oleju poprzez odseparowanie z użyciem wirówek przemysłowych, wykorzystujących różnicę gęstości między olejem (faza lekka) a mydłem i wodą (faza ciężka). Powszechnie stosowanymi w przemyśle tłuszczowym urządzeniami są separatory talerzowe, które sprawdzają się w produkcji ciągłej i pozwalają na osiągnięcie dużej wydajności. Poglądowo proces odkwaszania alkalicznego zaprezentowano na **Rysunku 4**.



Rysunek 3. Reakcja zmydlania kwasów tłuszczowych za pomocą zasady.

Sama reakcja wytworzenia mydeł i ich separacja nie jest wystarczająca, olej na tym etapie posiada jeszcze resztkową ilość mydeł i wody. Kolejnym krokiem jest płukanie oleju za pomocą gorącej wody i ponowna separacja z wykorzystaniem wirówek. Olej, zanim zostanie skierowany do przechowywania lub kolejnego procesu rafinacyjnego, musi być osuszony, czyli pozbawiony nadmiaru wody, poniżej 0,1% wag. [Zeldenrust, 2018; Gharby, 2022]. Zaletą metody alkalicznej są niskie koszty surowców i eksploatacyjne oraz uniwersalność, pozwalająca na pracę z każdym typem oleju. Wśród wad warto wspomnieć o wysokich stratach rafinacyjnych, powstaniu produktów ubocznych tzw. mydeł,

koniecznych do zagospodarowania oraz odpadów generowanych podczas mycia oleju gorącą wodą [Anderson, 2005].



Rysunek 4. Ogólny schemat technologiczny chemicznego odkwaszania [Gupta, 2017].

W ostatnim czasie coraz bardziej popularne stają się fizyczne metody odkwaszania, wykorzystujące aparaty destylacyjne. Proces prowadzony jest w warunkach głębokiej próżni, dodatku pary wodnej lub azotu, wykorzystujący różnice w temperaturze wrzenia wolnych kwasów tłuszczowych [Bhosle & Subramanian, 2005; Japir i wsp., 2016]. Zaletą tego typu odkwaszania są niskie straty rafinacyjne, brak odpadów, otrzymywanie oleju i destylowanych kwasów tłuszczowych wysokiej jakości. Do wad należy zaliczyć energochłonność procesu oraz ograniczenia wynikające z wykorzystania olejów mniej wrażliwych na temperaturę, eliminując takie oleje jak przykładowo olej bawełniany [Bhosle & Subramanian, 2005; Vaisali i wsp., 2014] Olej kierowany do odkwaszania destylacyjnego powinien spełniać wymagania jakościowe, takie jak niska zawartość żelaza (poniżej 0,2 ppm), które w warunkach destylacji powoduje ciemnienie oleju i zmniejszenie jego stabilności oksydacyjnej, promując tworzenie produktów utleniania [Cleenewerck & Dijkstra, 1992; Sengupta & Bhattacharyya, 1992].

W procesie usuwania WKT często stosowane są technologie adsorpcyjne, wykorzystujące anionowe żywice jonowymienne. Metoda polega na przepuszczaniu mieszaniny oleju i rozpuszczalnika (misceli) przez kolumnę wypełnioną odpowiednio aktywowaną żywicą jonowymienną. Najczęściej stosowanymi rozpuszczalnikami są etanol, alkohol izopropylowy, heksan [Deboni i wsp., 2013; Deboni i wsp., 2015]. Dotychczasowe badania potwierdzają, że metody adsorpcyjne potrafią osiągnąć wysoki stopień redukcji WKT w oleju, nawet do 97 % [Chung i wsp., 2018]. Przy zastosowaniu żywic jonowymiennych zaobserwowano, że wraz z redukcją wolnych kwasów tłuszczowych, w istotnym stopniu

usuwane są substancje barwnikowe, co przyczynia się do poprawy koloru oleju [Baptiste i wsp., 2020]. Do wad należy zaliczyć konieczność dokonywania regeneracji, wymagającej kilkustopniowego płukania rozpuszczalnikiem (metanol). Regenerowana żywica z czasem będzie charakteryzować się mniejszą wydajnością, z powodu substancji barwnikowych, które pozostają w żywicy nawet po regeneracji [Jamal i wsp., 2014; Hadiyah i wsp., 2022]. Żywice jonowymienne cechują się niską temperaturą pracy i wymagają stosowania się do zaleceń producentów. Przykładowo temperatura pracy z formą anionową żywicy Amberlite wynosi do 40°C [Wołowicz, 2015].

Wśród pozostały metod odkwaszania, o których warto wspomnieć to:

- odkwaszanie enzymatyczne [von der Haar i wsp., 2015]
- odkwaszanie w misceli [Wang i wsp., 2021]
- odkwaszanie z wykorzystaniem bentonitów [Kuleasan & Tekin, 2008]
- odkwaszanie na membranach [Fornasero i wsp., 2013]

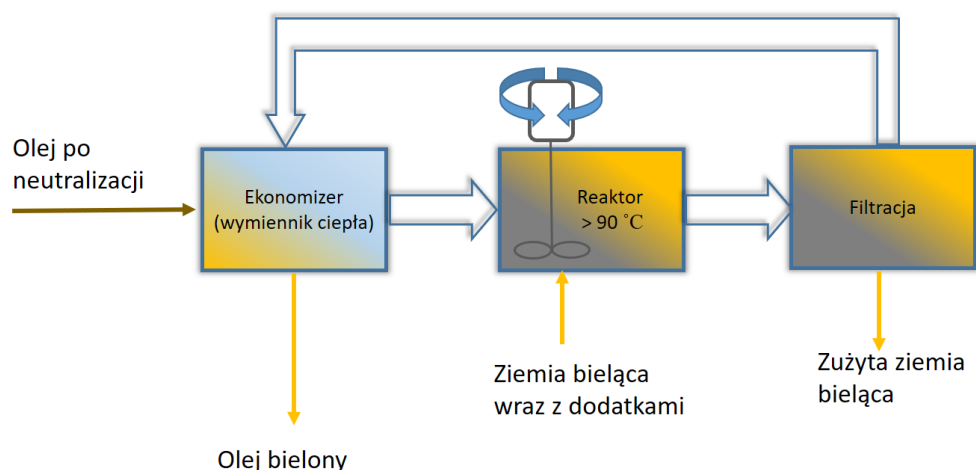
2.6.2. Bielenie olejów roślinnych

Bielenie, zwane inaczej odbarwianiem, jest jednym z istotnych etapów rafinacji olejów roślinnych, mającym wpływ nie tylko na kolor oleju. Oleje wymagające rafinacji posiadają szereg substancji niepożądanych, występujących w oleju naturalnie, jak chlorofile czy karotenoidy oraz substancje, które znalazły się w oleju dzięki działaniu czynników zewnętrznych, takich jak metale ciężkie, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczny lub pestycydy. Proces bielenia ma na celu redukcję związków wpływających na barwę oleju oraz eliminację/redukcję pozostałych zanieczyszczeń [Zschau, 2001; Ma i wsp., 2017]. W odbarwianiu wykorzystywane są ziemie okrzemkowe, które dzięki rozwiniętej powierzchni adsorpcji zatrzymują niepożądane substancje.

Najważniejszym czynnikiem wpływającym na proces odbarwiania jest dobór odpowiedniej ziemi bielącej. Dostępne ziemie bielące różnią się składem minerałów, powierzchnią adsorpcji, sposobem aktywacji, zawartością wilgoci czy obecnością innych dodatków, jak np. węgiel aktywny. Wszystkie te parametry będą miały wpływ na stopień redukcji zanieczyszczeń w oleju. W składzie ziemi bielącej w przeważającej ilości obecne są minerały takie jak: SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃. W mniejszej ilości mogą być obecne związki MgO, CaO, K₂O, MnO, Na₂O, P₂O₅, TiO₂ [Gomes de Oliveira & Porto, 2005]. W zależności od

miejsca wydobycia ziemi skład minerałów będzie różny. Na powierzchnię adsorpcji ziemi bielącej wpływ ma nie tylko struktura chemiczna, ale również aktywacja chemiczna. Adsorbenty nieaktywowane cechują się powierzchnią adsorpcji na poziomie 40 – 160 m²/g. W przypadku aktywacji kwasami mineralnymi powierzchnia adsorpcji ziemi bielącej może zwiększyć się do 150-350 m²/g [Zschau, 2001]. Ziemie bielące aktywowane kwasami mineralnymi, cechują się obecnością kwasów w ziemi. Przykładowo aktywacja kwasem chlorowodorowym powoduje zatrzymanie tego kwasu w ziemi poniżej 0,1% wag, a kwasem siarkowym już 0,1 – 1% wag. Poziom wilgotności również jest parametrem, który charakteryzuje adsorbent, zazwyczaj oscyluje w pobliżu 10% wag. i ułatwia usuwanie pozostałych fosfolipidów. Zjawisko redukcji fosfolipidów nazywane jest „mokrym bieleniem” [Zschau, 2001]. Stosowanie „mokrego bielenia” ma również wady, związane z podniesieniem zawartości nadtlenków, powstałych na skutek degradacji tłuszczu [De i wsp., 2009]. W procesie odbarwiania dodatkowo wykorzystywany jest węgiel aktywny w ilości do 20% wag. ziemi bielącej. Zaobserwowano, że niewielki dodatek węgla aktywnego (już 0,3% wag.) powoduje eliminację wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych [Aliyar-Zanjani i wsp., 2019]. W ostatnim czasie popularne stało się wykorzystanie zużytej ziemi bielącej do wstępnego bielenia oleju. Badania wskazują, że zużyta ziemia zachowuje jeszcze 40 – 45 % pierwotnych właściwości adsorpcyjnych [Marcinkowski i wsp., 2022]. Ponowne wykorzystanie adsorbentu pozwala obniżyć jego zużycie, a tym samym poprawia ekonomikę procesu oraz zmniejsza ilość odpadów. Ponadto raz wykorzystana ziemia bieląca zawierająca nawet do 40 % oleju może być zregenerowana i ponownie wykorzystana w procesie [Bachmann i wsp., 2020].

Przemysłowy sposób bielenia oleju został przedstawiony na **Rysunku 5**. Olej przed skierowaniem do reaktora (bielnika) zostaje podgrzany powyżej 90°C, celem zmniejszenia lepkości i ułatwienia migracji zanieczyszczeń do adsorbentu. Do oleju dodawana jest ziemia bieląca i rozpoczyna się adsorpcja zanieczyszczeń na jej powierzchni. W dalszej kolejności olej jest filtrowany w celu usunięcia zużytej ziemi bielącej. W praktyce do usunięcia ziemi bielącej z oleju stosuje się filtry płytowe. Zużyta ziemia bieląca stanowi odpad produkcyjny, natomiast bielony olej kierowany jest do dalszej rafinacji [Zschau, 2001; Bozoglan & Hepbasli 2009].

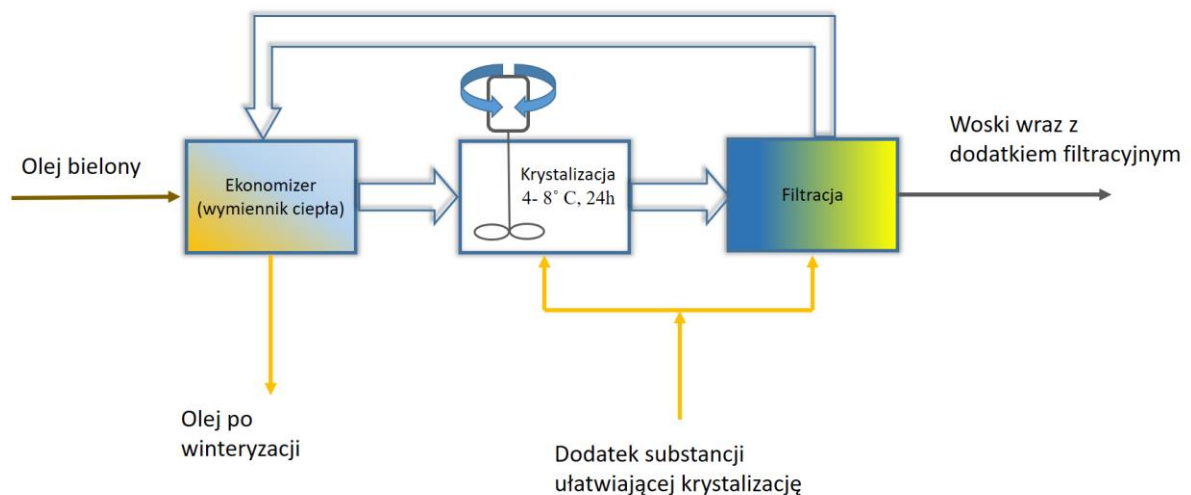


Rysunek 5. Schemat poglądowy technologii bielienia olejów roślinnych [Brooks & Hodgson, 2019]

2.6.3. Odwoskowanie olejów roślinnych

Odwoskowanie (inaczej winteryzacja) jest jednym z etapów rafinacji olejów roślinnych, który nie jest obligatoryjny, ale warunkowy. Olej poddaje się odwoskowaniu w przypadku, gdy zawiera taką ilość wosków, powodującą jego mętnienie. Celem winteryzacji jest zatem usunięcie wosków naturalnie występujących w oleju. Woski to substancje sklasyfikowane jako niepolarne lipidy rozpuszczalne w substancjach organicznych i charakteryzujące się niską temperaturą topnienia. Z chemicznego punktu widzenia są mieszaniną n-alkanów, estrów, kwasów tłuszczowych i alkoholi [Regert, 2009].

Proces odwoskowania prowadzony jest w niskiej temperaturze około 4-8°C w zbiorniku wyposażonym w system wolnego mieszania. W obniżonej temperaturze i w czasie 5 – 24h dochodzi do krystalizacji wosków, a powstające kryształy aglomerują w większe cząsteczki. Następnie olej jest filtrowany, tak by otrzymać produkt, który nie mętnieje pod wpływem niskiej temperatury i czasu. W przemysłowych warunkach ochłodzony olej filtruje się na poziomych filtrach płytowych [Nedić Grujin i wsp., 2023]. W trakcie procesu należy utrzymywać olej w temperaturze nasycenia oleju kryształami wosku [Puri, 1980; Mezouari i wsp, 2006]. Przemysłowe sposoby winteryzacji wspomagane są dodatkami, np. włóknami celulozowymi, na powierzchni których rozpoczyna się proces wytrącania kryształów, osiągając skuteczność 99 % [Nedić Grujin i wsp., 2023]. Na **Rysunku 6** został przedstawiony ogólny schemat technologiczny procesu odwoskowania.



Rysunek 6. Poglądowy schemat technologiczny procesu odwoskowania z wykorzystaniem dodatku wspomagającego krystalizację [Gupta, 2017].

Nie wszystkie oleje muszą być poddawane winteryzacji, a jedynie te, które w czasie przechowywania oraz w niskiej temperaturze mętnieją, bądź w których tworzy się osad. Olej kukurydziany należy do grupy olejów o podwyższonej zawartości wosków, których ilość wynosi 150-500 mg/kg, i dla których konieczne jest przeprowadzenie odwoskowania [Kang i wsp., 2023]. Wśród wosków obecnych w kukurydzy wyróżnić można estry alkoholu mirycylowego z kwasem lignocerynowym o temperaturze topnienia $81^{\circ} - 82^{\circ} \text{C}$ [Leibovitz & Ruckenstein 1983].

2.6.4. Dezodoryzacja olejów roślinnych

Ostatni etap rafinacji olejów to dezodoryzacja, inaczej odwanianie. Zasadniczym celem odwaniania jest usunięcie z oleju lotnych składników oraz pozostałych wolnych kwasów tłuszczowych, co skutkuje poprawą cech sensorycznych oleju i stabilności oksydacyjnej.

Głównym źródłem lotnych składników oleju są same kwasy tłuszczowe, które w specyficznych warunkach ulegają wolnorodnikowym reakcjom utleniania [Choe & Min, 2006]. Warunkami sprzyjającymi utlenianiu kwasów tłuszczowych jest obecność tlenu, światła i podwyższona temperatura. Autooksydacja oleju prowadzi do powstania nadtlenków, ostatecznie rozpadających się, tworząc lotne związki, mające negatywny wpływ na smak i zapach oleju. Wśród tej grupy związków zidentyfikowano substancje,

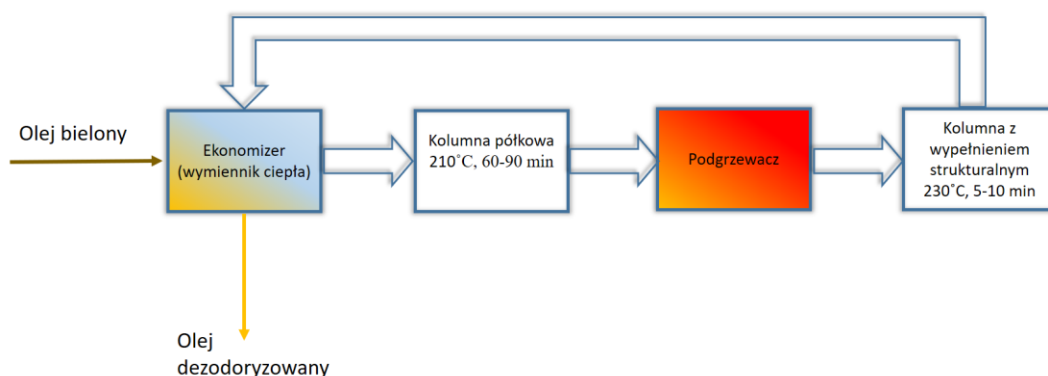
takie jak: aldehydy, ketony, alkohole, kwasy, węglowodory, furany, laktony [Jeleń i wsp., 2000; Hu i wsp., 2014].

W trakcie dezodoryzacji dochodzi dodatkowo do termicznego rozłożenia pigmentów i substancji barwnikowych. Oleje dezodoryzowane są jaśniejsze niż oleje bielone i charakteryzują się niższymi wartościami wskaźnika barwy żółtej i czerwonej w skali Lovibonda [Van Hoed i wsp., 2010; An i wsp., 2022]. Stopień redukcji barwy oleju będzie zależny od warunków, w jakich prowadzona jest dezodoryzacja oraz od jakości oleju. Odwanianie nie jest obojętne dla cząsteczek oleju. W wysokich temperaturach, które są stosowane w czasie procesu, dochodzi do reakcji izomeryzacji i polimeryzacji, skutkujących powstawaniem izomerów *trans* i spolimeryzowanych triacylogliceroli, powszechnie uznawanych za szkodliwe. Badania prowadzone na oleju kameliowym potwierdzają, że wzrost temperatury w zakresie 180- 240 °C prowadzi do tworzenia izomerów *trans* w ilości od 0,02 % do 4,35%. Znaczna ilość produktów polimeryzacji powstaje powyżej 220 °C. W warunkach 240°C oraz 90 min odnotowano ich zawartość na poziomie 0,6% [Hrastar i wsp., 2011].

Proces dezodoryzacji poza tym, że powoduje poprawę cech sensorycznych oleju, prowadzi do częściowej utraty substancji biologicznie aktywnych, takich jak fitosterole czy tokoferole. Z danych literaturowych wynika, że odwanianie odpowiedzialne jest za redukcję zawartości fitosteroli o ok. 33% wag. i 20-27% wag. tokoferoli [Kreps i wsp., 2014; Kreps i wsp., 2017; An i wsp., 2022].

W przemyśle proces dezodoryzacji prowadzi się w temperaturze 230-250°C, pod ciśnieniem < 2 mbar. W trakcie para wodna jest dodawana w ilości 1% wag. w stosunku do oleju, będąca czynnikiem ułatwiającym oddestylowanie lotnych substancji z oleju. Warunki temperatury, ciśnienia i czasu zależą od rodzaju oleju i od urządzeń, w których prowadzi się proces odwaniania. Prowadzone przez Riyadi i współpracowników badania odwaniania w łagodnych warunkach (140°C, 20 mmHg i 1 godzina), pozwoliły otrzymać olej o akceptowalnej ocenie sensorycznej [Riyadi i wsp., 2016]. Do przeprowadzenia dezodoryzacji stosowane są specjalnej konstrukcji urządzenia zwane kolumnami odpędowymi. W ramach powszechnie stosowanych technologii wyróżnić można kolumny półkowe wyposażone w pompy podające parę oraz kolumny z wypełnieniem strukturalnym. Oba rozwiązania konstrukcyjne pozwalają zapewnić kontakt pomiędzy olejem a parą wodną, tworząc odpowiednio dużą powierzchnię styku tych faz [Liu i wsp.,

2020]. Powyższe rozwiązania konstrukcyjne posiadają swoje wady, między innymi jedna (wysoka) temperatura oleju w czasie odwaniania, która przyczynia się do powstawania izomerów *trans* i produktów polimeryzacji. W ramach postępu technologicznego zaproponowano rozwiązania konstrukcyjne uwzględniające zastosowanie układu dwóch kolumn pracujących w różnych warunkach temperatury, czasu i ciśnienia. **Rysunek 7** przedstawia uproszczony schemat reżimu technologicznego dla dezodoryzacji oleju kukurydzianego [Liu i wsp., 2020]. Olej podgrzewany jest do temperatury 210°C i trafia do kolumny z wypełnieniem strukturalnym, czas dezodoryzacji wynosi 60-90 min, wówczas dochodzi do termicznego rozkładu barwników (zwane również bieleniem termicznym). Następnie ponownie jest podgrzewany do temperatury 230°C i trafia do drugiej kolumny półkowej. W tej kolumnie olej przebywa 5-10 minut i dochodzi do usunięcia z niego wolny kwasów tłuszczowych. Końcowym etapem rafinacji jest schładzanie oleju.



Rysunek 7. Schemat technologiczny odwaniania z wykorzystaniem dwóch kolumn [Liu i in., 2020].

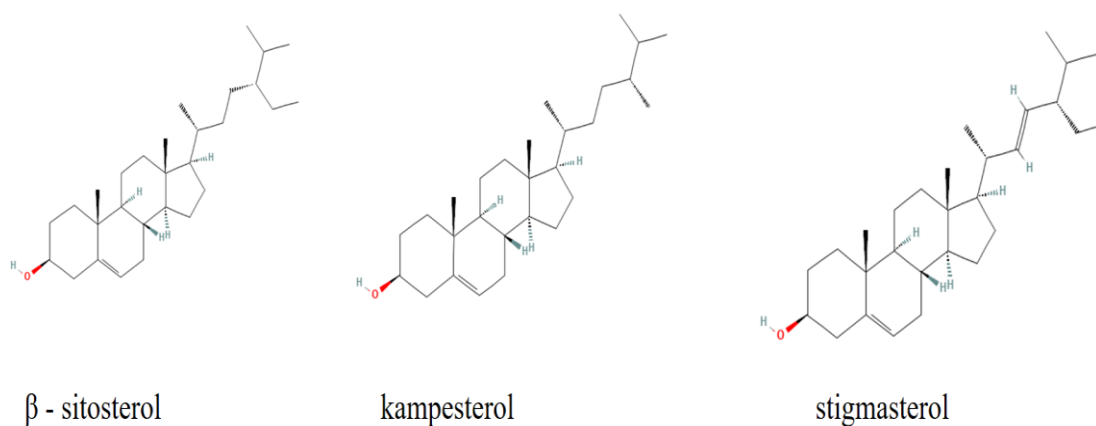
2.7. SUBSTANCJE TOWARZYSZĄCE W OLEJACH ROŚLINNYCH

Olej roślinny w swoim składzie poza triacyloglicerolami posiada szereg innych związków, które są klasyfikowane jako substancje niezmydlające, czyli niebędące tłuszczem. Do tej grupy związków należą między innymi: sterole, alkohole tripentenowe, karotenoidy, tokoferole i tokotrienole, nasycone węglowodory, nienasycone węglowodory (skwalen, terpeny), alkohole tłuszczowe (woski), polifenole [Fontanel, 2013]. Substancje te pełnią szereg funkcji w roślinie i wraz z ekstrakcją przechodzą do tłuszczu, wzbogacając oleje o

swoje nierzadko korzystne właściwości. W oleju kukurydzianym frakcja niezmydlająca się wynosi 1,3 – 2,5 % [Barrera-Arellano i wsp., 2019]. W dalszej części opracowania opisane zostaną wybrane grupy związków, które znajdują się w znacznej ilości w oleju kukurydzianym pofermentacyjnym.

2.7.1. Fitosterole

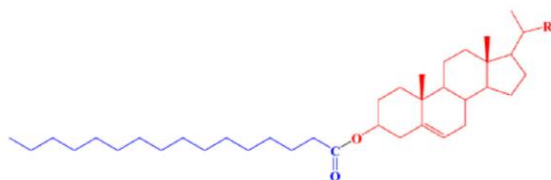
Fitosterole, inaczej sterole roślinne, są podstawowym składnikiem błon komórkowych organizmów roślinnych. Naturalnym źródłem fitosteroli są przede wszystkim rośliny oleiste (kukurydza, rzepak, słonecznik) oraz wyprodukowane z nich oleje [Ostlund i wsp., 2002; Bai i wsp., 2021]. Najczęściej występującymi sterolami są β -sitosterol ($C_{29}H_{50}O$), kampesterol ($C_{28}H_{48}O$), stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$), których cząsteczki zostały przedstawione na **Rysunku 8**. Z chemicznego punktu widzenia fitosterole są analogiem zwierzęcego cholesterolu i różnią się jedynie budową bocznego łańcucha węglowego. Warto również wspomnieć, że sterole to związki nienasycone, posiadające wiązanie podwójne w strukturze pierścienia, a jego formę nasyconą nazywamy stanolem. W olejach roślinnych sterole i stanole zaliczane są do grupy związków nazywanych substancjami niezmydlającymi, czyli niebędące lipidami.



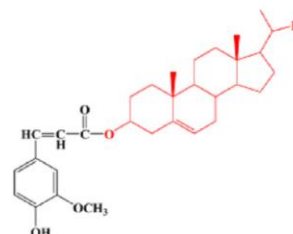
Rysunek 8. Struktura chemiczna cząsteczek steroli roślinnych: β -sitosterolu, kampesterolu i stigmasterolu.

Ze względu na funkcje, jakie sterole pełnią w roślinach, mogą występować w różnych konfiguracjach chemicznych. Do różnych form steroli zaliczane są estry w postaci wolnej,

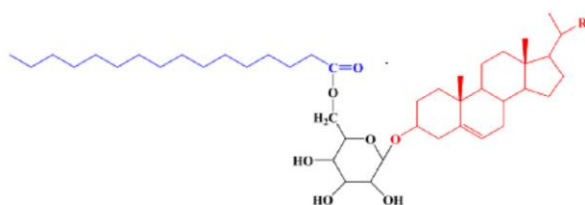
będące estrami kwasów tłuszczowych lub fenolowych w tym hydrokycynamonowego, ponadto glikozydy steroli oraz acylowe formy glikozydów steroli (**Rysunek 9**). [Bai i wsp. 2021].



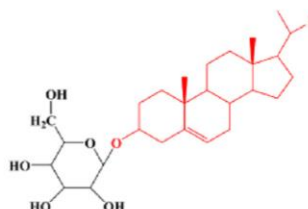
Estry kwasów tłuszczowych fitosterolu



Estry kwasów tłuszczowych fitosterolu



Acylowe formy glikozydów steroli



Glikozydy steroli

Rysunek 9. Pozostałe pochodne chemiczne, w jakich występują sterole roślinne.

Najwięcej steroli roślinnych posiadają olej kukurydziany (991 mg/100g), rzepakowy (893 mg/100g), sezamowy (637 mg/100g) [Yang i wsp., 2019]. Zawartość steroli zestryfikowanych jest różna i dla oleju kukurydzianego potrafi sięgać 46-59% sumy wszystkich steroli, a dla oleju rzepakowego nawet do 57% [Verleyen i wsp., 2002]. Rafinacja olejów istotnie wpływa na zmniejszenie zawartości związków bioaktywnych w oleju, nie omijając fitosteroli. W wyniku przeprowadzanej rafinacji dochodzi do redukcji całkowitej zawartości steroli przy jednoczesnym wzroście zestryfikowanych form tych związków. Przykładowo udział fitosteroli zestryfikowanych w oleju kukurydzianym rafinowanym wynosi 56-66% [Verleyen i wsp., 2002].

Fitosterole posiadają wiele korzyści zdrowotnych. Główną zaletą spożycia fitosteroli jest ograniczenie wchłaniania cholesterolu w jelicie cienkim i co za tym idzie obniżenie stężenia cholesterolu w krwi. Nadmierna ilość cholesterolu w krwi może prowadzić do rozwoju chorób, takich jak miażdżyca czy choroba wieńcowa serca. Zalecana dzienna

dawka fitosteroli nie powinna przekraczać 3 g/dobę [Rozp. Komisji Europejskiej z 2014]. Badania prowadzone z wykorzystaniem oleju kukurydzianego zawierającego 300 mg fitosteroli, wykazały częściowe obniżenie cholesterolu w krwi o 28%. Natomiast wyniki badań dla oleju kukurydzianego pozbawionego fitosteroli potwierdziły wzrost o 38% cholesterolu w krwi. [Ostlund i wsp. 2002].

Związki biologicznie aktywne, do których zaliczane są fitosterole, wykazują właściwości przeciwzapalne [Yuan i wsp, 2019]. Wchłaniane wraz z pożywieniem fitosterole zostały wykryte w korze mózgowej, przez co mogą wpływać na procesy przeciwzapalne w mózgu (komórki mikroglejowe) [Reinicke i wsp., 2021]. Badania na myszach potwierdzają obecność roślinnych steroli w błonach komórkowych w mózgu myszy i w wątrobie, a zmiana ich diety na niskotłuszczową wzbogaconą w fitosterole doprowadziła do zmniejszenia masy ciała o 14%. Badania wskazują, iż na zmniejszenie wagi wpłynąć mogła również dieta niskotłuszczowa, a nie fakt spożycia samych steroli, choć ich rola w obniżeniu wagi może być zasadnicza [Reinicke i wsp., 2021]. Wśród korzystnych efektów przypisywanych sterolom roślinnym należy wspomnieć, iż powodują zmniejszenie ilości trójglicerydów w osoczu krwi o 6-20% przy dziennej dawce 1,5 - 2 g/dzień [Plat & Mensink, 2009; Demonty i wsp. 2013].

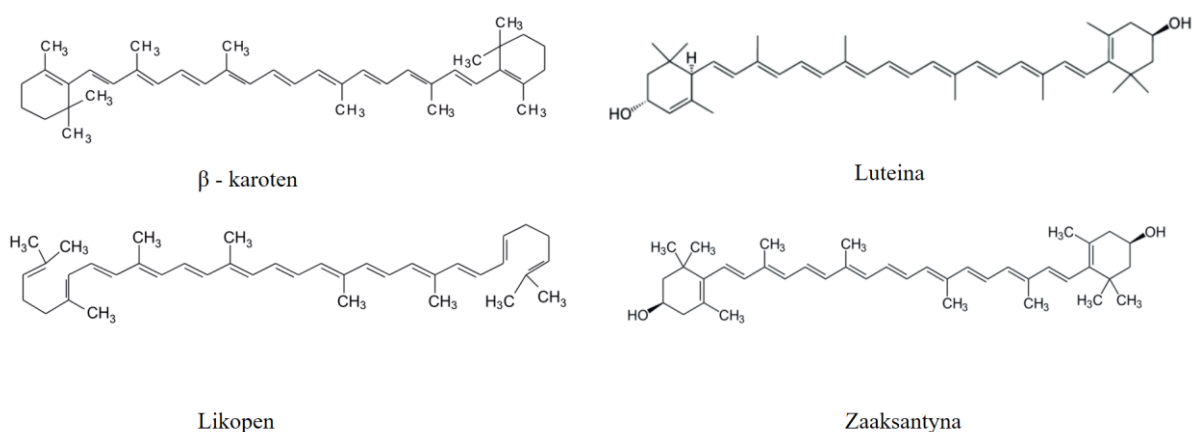
Odmienne wyniki badań na myszach zaprezentował zespół Tao (San Francisco, USA), potwierdzając, iż nagromadzenie w osoczu fitosteroli, głównie stigmasterolu, prowadzi do dysfunkcji lewej komory serca, śródmiąższowego zwłóknienia serca, przy jednoczesnej redukcji cholesterolu w osoczu krwi. Jednak mechanizm wywoływania chorób sercowo-naczyniowych przez sterole roślinne nie jest do końca zbadany, a osoby z diagnozowaną fitosterolemią powinny świadomie regulować i kontrolować poziom spożywanych steroli roślinnych [Tao i wsp., 2019]. Randomizowane badania potwierdziły pozytywny wpływ fitosteroli na hipoglikemię. Dieta wzbogacona o sterole/stanole roślinne w ilości 1-2 g/dziennie doprowadziła do zmniejszenia stężenia insuliny w krwi [Salehi-Sahlabadi i wsp., 2020].

Sterole roślinne stanowią materiał wyjściowy do syntezy innych związków chemicznych, np. DHEA (Dehydroepiandrosteron). Jest to naturalny hormon steroidowy produkowany w nadnerczach z cholesterolu, będący metabolicznym prekursorem androgenów i estrogenów. Hormonowi DHEA przypisuje się wiele korzystnych efektów jak opóźnienie

procesów starzenia i zapobieganie rozwojowi związanych z tym chorób, głównie Parkinsona, Alzheimer [Andryushina i wsp., 2020; Savinova i wsp., 2020].

2.7.2. Karotenoidy

Karotenoidy należą do najbardziej znanych antyoksydantów, wśród których zidentyfikowano ponad 700 związków. Z chemicznego punktu widzenia w strukturze karotenoidów obecne jest minimum 7 wiązań podwójnych i to one odpowiadają za nadanie barwy od żółtej do czerwonej roślinom i zwierzętom [Gryszczyńska i wsp., 2011]. Cząsteczki zbudowane z 11 podwójnych wiązań, zaliczane są do poliizoprenoidów i są substancjami mało polarnymi, rozpuszczalnymi w tłuszczach. Do najbardziej znanych karotenoidów należą α i β -karoten. Związki zawierające w swojej strukturze dodatkowo grupę hydroksylową, epoksydową, lub karbonylową noszą nazwę ksantofili, wśród których znajdują się: zeaksantyna, luteina, astaksantyna i cechuje je większa polarność [Igielska-Kalwat i wsp., 2015; Kucharska, 2019]. Poniższy rysunek przedstawia strukturę chemiczną wybranych karotenoidów (**Rysunek 10**).



Rysunek 10. Struktura chemiczna wybranych związków karotenoidowych.

Karotenoidy obecne są w warzywach, owocach i w olejach roślinnych. Pośród warzyw marchew (*Daucus carota*) zawiera 45,0 $\mu\text{g/g}$ α -karotenu i 53,6 $\mu\text{g/g}$ β -karotenu [Maurer i wsp., 2014], z kolei dynia (*Cucurbita maxima*) odpowiednio 39,9 $\mu\text{g/g}$ i 172,2 $\mu\text{g/g}$ α i β -karotenu [Carvalho i wsp., 2014]. Liście kolendry charakteryzują się całkowitą

zawartością związków karotenoidowych na poziomie 1691,5 µg/g s.m. [Divya i wsp., 2012]. Owoce takie jak morela czy arbuz cechują się ogólną zawartością karotenoidów na poziomie odpowiednio 173,0 µg/g, 185,0 µg/g s.m. [Campbell & Padilla-Zakour, 2013; Martínez-Valdivieso i wsp., 2014]. W nasionach oleistych takich jak rzepak (*Brassica napus*) zawartość karotenoidów wynosi 30,7 mg/kg, natomiast surowy olej rzepakowy wykazuje obecność tych związków na poziomie 48,5 mg/kg (Flakelar i in. 2022). Nasiona kukurydzy (*Zea mays L.*) w zależności od odmiany charakteryzują się zawartością związków karotenoidowych na poziomie 30,44 mg/kg [Klajak & Grbeša 2015].

Do grupy karotenoidów o najsilniejszych właściwościach antyoksydacyjnych należą: astaksantyna, likopen, luteina oraz β-karoten. Związki te wykazują dużą aktywność, wobec reaktywnych form tlenu i wolnych rodników. Karotenoidy dzięki dobrym właściwościom przeciwutleniającym znalazły zastosowanie w medycynie, przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym [Igielska-Kalwat i wsp., 2015]. Niektóre z karotenoidów, ze względu na swoją budowę molekularną stanowią prekursor witaminy A (retinolu). Jedynie związki zawierające w swojej strukturze chemicznej nieodstawiony pierścień β – jak w przypadku β-karotenu, mogą przekształcić się w retinol. Witamina A odpowiedzialna jest za widzenie, a zwłaszcza za procesy zachodzące w siatkówce oka [Johra i wsp., 2020]. Badania dowodzą, że lepsze efekty w zapobieganiu schorzeń okulistycznych były dostrzegane przy suplementacji luteiny i zeaksantyny niż β-karotenu [Chew i wsp., 2014].

W trakcie rafinacji olejów roślinnych dochodzi do zmniejszenia zawartości karotenoidów i innych substancji biologicznie aktywnych. Największą redukcję obserwuje się w trakcie procesu odbarwiania [Kreps i wsp., 2014]. Poziom redukcji tych substancji zależy od warunków, w jakich prowadzona jest rafinacja oraz od rodzaju oleju.

3. CEL I HIPOTEZY BADAWCZE

Dotychczasowe dostępne dane literaturowe wskazują na brak badań dotyczących procesu rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego w aspekcie jego wykorzystania jako oleju spożywczego. Z drugiej strony widoczny problem braku żywności na świecie oraz jej marnowanie nakazuje podjęcie wysiłku, jakim jest sprawdzenie czy istnieje możliwość otrzymania oleju spożywczego z produktu tłuszczowego pochodzącego z procesu fermentacji. Obecnie przemysł tłuszczowy wykorzystuje proces rafinacji fizykochemicznej w celu poprawy jakości głównie olejów tłoczonych i ekstrahowanych rozpuszczalnikiem. W świetle dotychczasowych badań wciąż aktualne pozostaje pytanie – czy można opracować metody rafinacji pofermentacyjnego oleju kukurydzianego w oparciu o stosowane obecnie rozwiązania technologiczne. **W związku z powyższym wyznaczono cel pracy, którym było otrzymanie spełniającego wymagania jakościowe oleju spożywczego z pofermentacyjnego oleju kukurydzianego, według opracowanej technologii zachowawczej opartej na stosowanych metodach rafinacji fizykochemicznej.** Podstawą badań było przeprowadzenie procesów jednostkowych, takich jak neutralizacja, bielzenie, winteryzacja, dezodoryzacja i równoczesne monitorowanie ilości składników biologicznie aktywnych, jakimi są fitosterole. Zastosowanie powyższych procesów umożliwiło otrzymanie oleju kukurydzianego, który zachował właściwości prozdrowotne ze względu na wysoki poziom substancji biologicznie aktywnych.

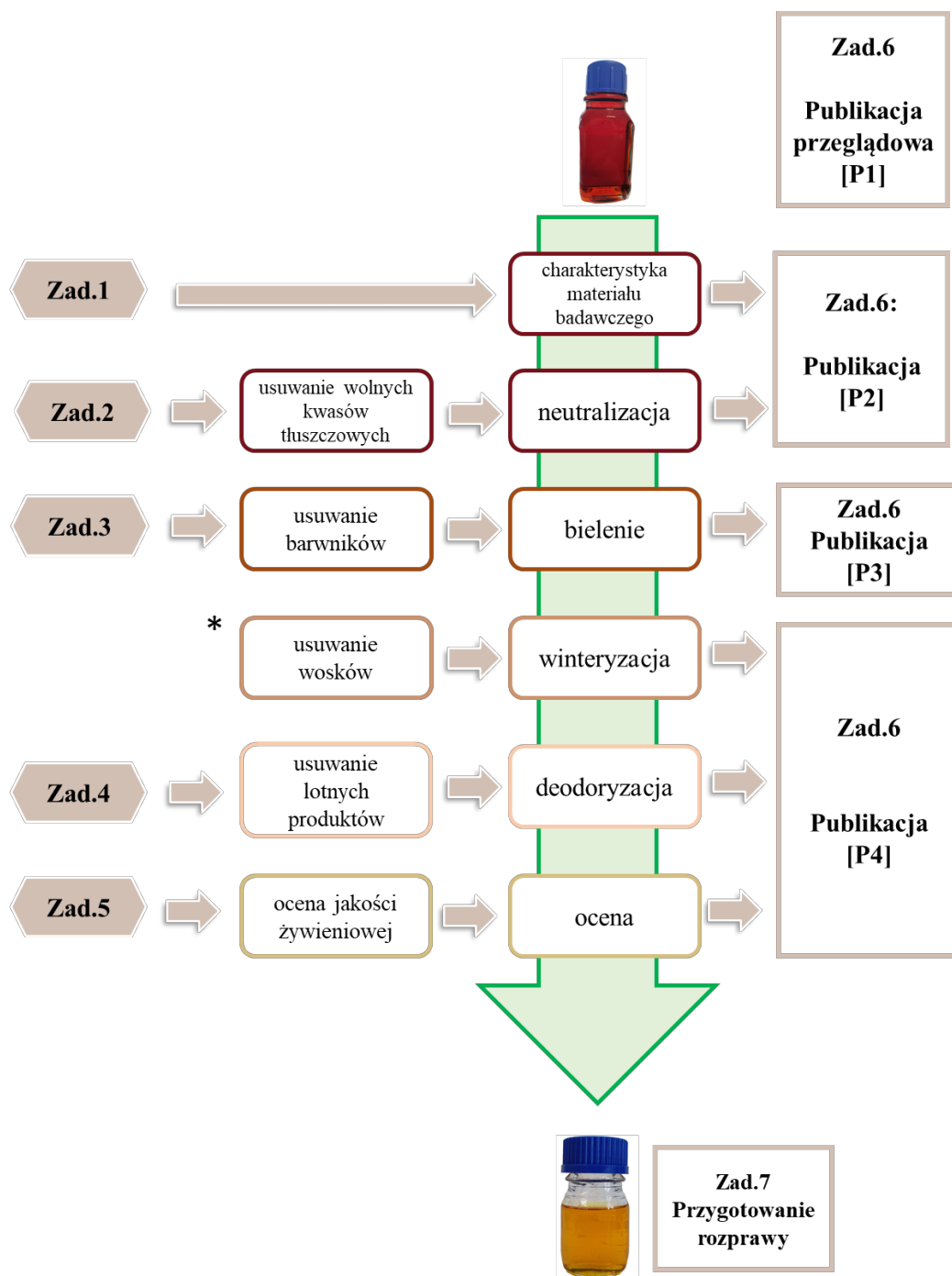
Do osiągnięcia celu sformułowano dwie hipotezy badawcze:

HIPOTEZA 1: Za pomocą dostosowanych istniejących metod rafinacji możliwe jest uzyskanie oleju kukurydzianego rafinowanego jakości spożywczej, pochodzącego z frakcji tłuszczowej wydzielonej z wywarów pogorzelnicznych.

HIPOTEZA 2: Otrzymany opracowaną metodą technologii zachowawczej rafinowany olej kukurydziany odznacza się co najmniej porównywalną lub nawet podwyższoną zawartością steroli w stosunku do komercyjnie dostępnych rafinowanych olejów kukurydzianych otrzymywanych z surowca tradycyjnego.

4. ZAKRES PRACY

Całość pracy została podzielona na 5 zadań, którym przypisano poszczególne etapy rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. Zaplanowane etapy były niezbędne do rozwiązania problemu badawczego i weryfikacji postawionych hipotez. Szczegółowy zakres badawczy przedstawiono na **Rysunku 11**.



Rysunek 11. Zakres badań.

* proces nie był uwzględniony w planie badawczym, ale konieczny do realizacji celu badawczego.

Zakres pracy obejmował:

- krytyczną analizę doniesień literaturowych dotyczących materiału badawczego, metod otrzymywania oleju kukurydzianego, w tym pofermentacyjnego i procesu rafinacji fizycznochemicznej olejów roślinnych;
- opracowanie schematu rafinacji przy wykorzystaniu z zasobów laboratoryjnych;
- przeprowadzenie analizy jakościowej oleju kukurydzianego pofermentacyjnego na każdym etapie rafinacji;
- przeprowadzenie odkwaszania oleju (neutralizacji) dwiema metodami: neutralizacji za pomocą roztworu wodorotlenku sodu oraz żywicy jonowymiennej;
- przeprowadzenie odbarwiania oleju (bielenia) z wykorzystaniem ziem bielących komercyjnie dostępnych;
- przeprowadzenie dodatkowego procesu – odwoskowania oleju (winteryzacji) z wykorzystaniem dodatku celulozowego, wspomagającego krystalizację i filtrację;
- przeprowadzenie odwaniania (dezodoryzacji) z wykorzystaniem szklanej aparatury chemicznej i przemysłowej wytwornicy pary;
- przeprowadzenie analizy otrzymanego oleju celem potwierdzenia jego jakości i zgodności z międzynarodowymi wytycznymi Standardu Codex Alimentarius;
- wykonanie badań porównawczych z dostępnymi na rynku wybranymi olejami z zarodków kukurydzianych;
- przygotowanie panelu sensorycznego i przeprowadzenie analizy sensorycznej otrzymanego rafinowanego oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, opracowanie wyników;
- wykonanie analizy statystycznej otrzymywanych wyników.

5. MATERIAŁ DOŚWIADCZALNY I METODY BADAŃ

5.1. MATERIAŁ BADAWCZY

Do niniejszych badań wykorzystano surowy olej kukurydziany pofermentacyjny pozyskany od producenta bioetanolu, zlokalizowanego na południu Polski. Próbki oleju pochodziły z bieżącej produkcji w latach 2021-2023 i charakteryzowały się średnimi parametrami zamieszczonymi w **Tabeli 2**. Olej był otrzymywany w wyniku separacji frakcji tłuszczowej z cienkiego wywaru pogorzelniczego. Szczegółowe dane dotyczące sposobu otrzymywania oleju są tajemnicą wytwórcy. Producent monitoruje jakość oleju także pod kątem innych zanieczyszczeń, takich jak: zawartość metali (Arsen, Kadm, Ołów, Rtęć), pestycydów, dioksyn i mykotoksyn, deklarując ich niski poziom (poniżej granic wykrywalności metod analitycznych). Pozwala to wstępnie ocenić zagrożenia związane z bezpieczeństwem żywności i oczekiwania względem rafinacji oleju pofermentacyjnego.

Tabela 2. Podstawowe średnie parametry surowego oleju kukurydzianego otrzymywanego w latach 2021-2023r.

Parametr	Wartość
Zawartość wolnych kwasów tłuszczowych	10 – 15%
Zawartość wody i substancji lotnych	> 0,2 %
Zawartość zanieczyszczeń	> 0,2 %
Zawartość fosforu	> 50 mg/kg
Liczba jodowa	110-118 g I ₂ /100g

Do badań porównawczych wykorzystano oleje kukurydziane dostępne w sprzedaży. W **Tabeli 3** zamieszczono podstawowe informacje o olejach z zarodków kukurydzianych.

Tabela 3. Spis olejów kukurydzianych wykorzystanych w badaniach porównawczych.

Nazwa handlowa	Nazwa skrócona stosowana w Publikacji 4	Kraj pochodzenia	Przydatność
Pedrisol	ROP	Hiszpania	Do 2024
Olvita	POO1	Węgry	Do 2024
Olvita	POO2	Węgry	Do 2023
Luglio	ROL	Włochy	Do 2024

5.2. METODY BADAŃ

5.2.1. Część technologiczna

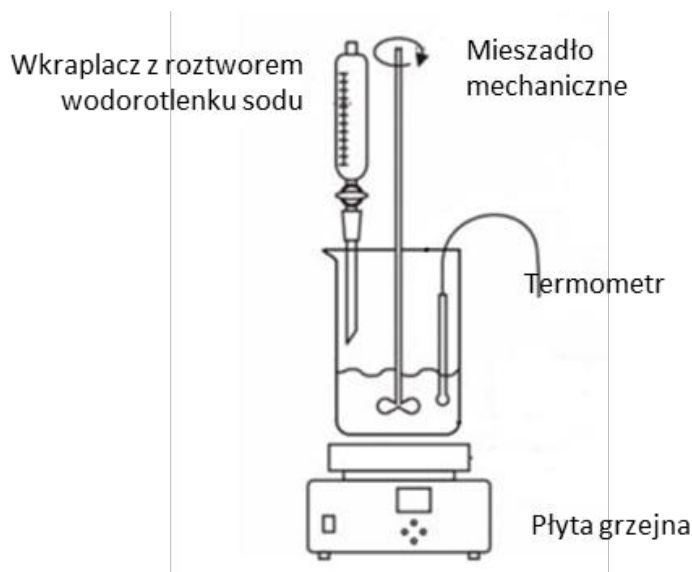
Neutralizacja

Neutralizacje (odkwaszanie) zostały wykonane dwoma sposobami: chemicznym (sposób nr 1) i adsorpcyjnym (sposób nr 2). Zadaniem obu metod była redukcja zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w oleju i sprawdzenie wysokości straty rafinacyjnej.

Sposób nr 1 – neutralizacja za pomocą roztworu wodorotlenku sodu

Odkwaszenie wykonano z wykorzystaniem szkła laboratoryjnego, tj. zlewki 1000 ml, wkraplacza 200 ml, rozdzielacza o pojemności 1000 ml oraz mieszałki mechanicznego firmy IKA model RW 20 Digital D S000 (Chiny), płyty grzewczej firmy OHAUS model Guardian™ 5000 (Nänikon, Szwajcaria). Do kontroli temperatury wykorzystano elektroniczny termometr Termoprodukt DT-1 (Bielawa, Polska). Do rozdziału oleju i mydeł zastosowano wirówkę MPW-352 (Warszawa, Polska), natomiast do wysuszenia wyparkę rotacyjną marki IKA model RV10, z łaźnią olejową IKA model RV10B S40 (Chiny). Do przeprowadzenia neutralizacji użyto 20% roztworu wodorotlenku sodu (ChemLand, Polska).

Zestaw do neutralizacji zaprezentowano na **Rysunku 12**. Olej podgrzano do 80°C, mieszając z prędkością 250 obr/min, wkraplano roztwór 20% wodorotlenku sodu w ilości stechiometrycznej + 1% nadmiaru w stosunku do ilości WKT w oleju. Wytworzone mydła zostały usunięte z oleju poprzez odwirowanie (3000 RPM, 5 min). Odwirowany olej poddano myciu gorącą wodą w rozdzielaczu, usuwając pozostałe mydła. Ostatnim etapem było wysuszenie oleju na wyparce rotacyjnej w temperaturze 85°C i 40 mbar.



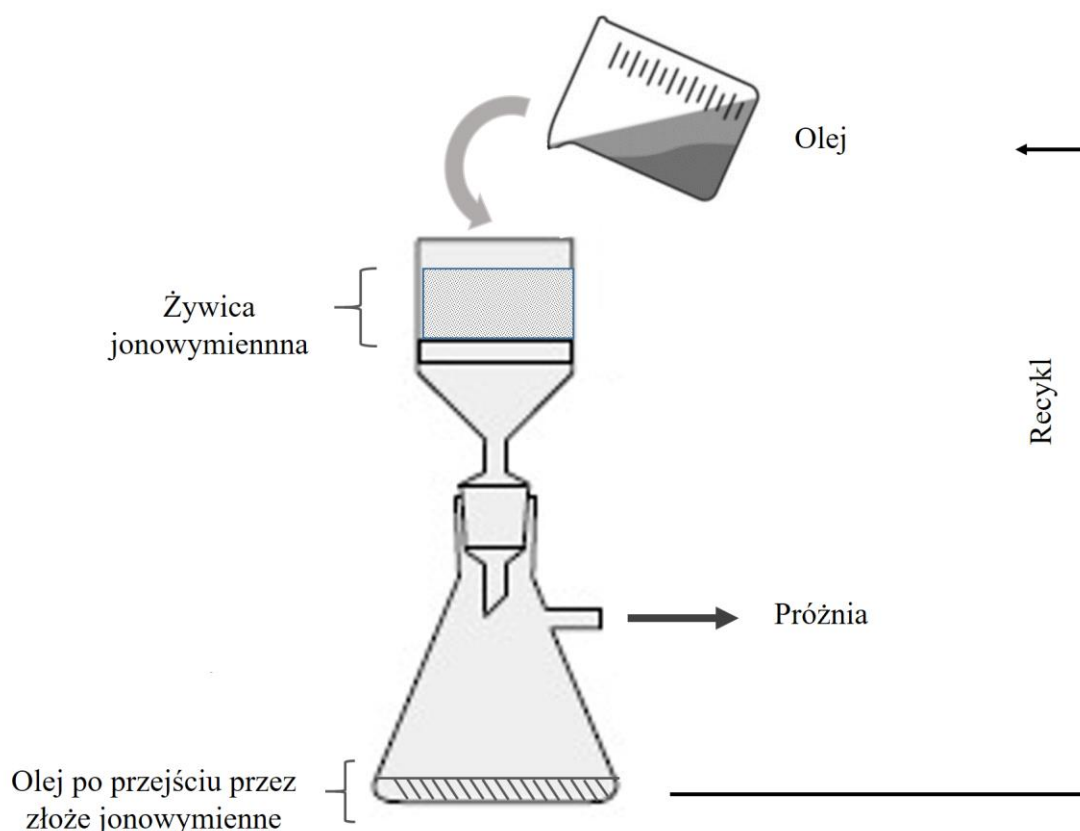
Rysunek 12. Zestaw do neutralizacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego.

Sposób nr 2 – neutralizacja za pomocą żywicy jonowymiennej

Do neutralizacji wykorzystano zestaw do filtrowania próżniowego składający się z: szklanej kolby ssawnej o poj. 1000 ml, lejka Buchnera o średnicy 90 mm, pompy próżniowej firmy Welch MPC 105T (Ilmenau, Niemcy), papierowych sączków producenta Macherey-Nagel MN 640m (Dürenn, Niemcy), zlewki o pojemności 1000 ml, płyty grzewczej firmy OHAUS model Guardian™ 5000 (Nänikon, Szwajcaria). Do kontroli temperatury wykorzystano elektroniczny termometr Termoprodukt DT-1 (Bielawa, Polska). Do wysuszenia żywicy jonowymiennej wykorzystano suszarkę laboratoryjną producenta BMT Medical Technology s.r.o model Venticell 55 (Brno-Zábrdovice, Czechy). Neutralizację oleju przeprowadzono stosując: żywicę jonowymienną IRA410 (Cl) Amberlite (Francja), 5% roztwór wodorotlenku sodu (ChemLand, Polska), aceton (ChemLand, Polska).

Poglądowo zestaw do neutralizacji sposobem nr 2 przedstawiono na **Rysunku 13**. W pierwszej kolejności przeprowadzono aktywację żywicy jonowymiennej. Za pomocą 5% roztworu wodorotlenku sodu kilkakrotnie przepłukano żywicę, następnie wodą destylowaną do uzyskania neutralnego odczynu, na końcu acetonem, pozbywając się nadmiaru wody. Żywicę suszono w suszarce w temp. 35°C przez 2h. Tak przygotowaną żywicę umieszczono w zestawie do neutralizacji. Olej kukurydziany pofermentacyjny wstępnie podgrzano do temperatury 35°C na płycie grzewczej. Następnie olej skierowano na warstwę żywicy jonowymiennej znajdującej się na lejku Buchnera, podłączonego do

zestawu do filtracji pod próżnią. Podczas doświadczenia ciśnienie regulowano w zakresie 300-50 mbar tak, aby prędkość przepływu oleju mieściła się w zakresie 5-20 ml/min w jednym cyklu, co pewien czas podgrzewając olej na płycie grzewczej w celu utrzymania temperatury. Ilość cykli powtarzano do czasu, uzyskania oleju o zredukowanej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych. Następnie olej przepłukano kilkakrotnie gorącą wodą w rozdzielaczu i wysuszono na wyparce rotacyjnej w temperaturze 85°C i 40 mbar.



Rysunek 13. Zestaw do neutralizacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego za pomocą żywicy jonowymiennej.

Wyznaczanie straty rafinacyjnej w procesie neutralizacji

Ze względu na zastosowanie oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, w którym zawartość wolnych kwasów tłuszczowych jest stosunkowo wysoka, skontrolowano wpływ metody neutralizacji na wysokość straty rafinacyjnej. Rzeczywistą stratę rafinacyjną wyznaczono jako różnicę mas oleju przed i po doświadczeniu wyrażoną jako procent masowy. Miarą dobrze przeprowadzonej rafinacji jest uzyskanie oleju z możliwie niską stratą rafinacyjną, zbliżoną do straty teoretycznej. Stratę teoretyczną wyznaczono na podstawie **Wzorów 2,3,4** [Dijkstra, 2012].

Wzór 2 $TL = WKT + \text{Fosfolipidy} + \text{wilgotność} + \text{zanieczyszczenia} + 0,3 [\%]$

Wzór 3 $\text{Loss} = 0,3 + 1,25 * TL$ dla $TL \leq 3\%$

Wzór 4 $\text{Loss} = 1,35 TL$ dla $TL > 3\%$

Gdzie: TL – straty teoretyczne

Loss – strata w procesie neutralizacji

Powyższe wzory uwzględniają straty spowodowane jakością oleju oraz zastosowanymi rozwiązaniami technicznymi jak wirówki odśrodkowe, które są powszechnie stosowane w przemyśle olejarskim [Dorsa & Eickhoff, 2001].

Bielenie

Do przeprowadzenia bielenia oleju kukurydzianego pofermentacyjnego wykorzystano wyparkę rotacyjną marki IKA model RV10, wyposażoną w łaźnię olejową firmy IKA model RV10B S40 (Chiny), pozwalającą na kontrolę temperatury, wirówkę laboratoryjną MPW-352 (Warszawa, Polska), zestaw do filtracji pod próżnią składający się z: kolby ssawnej o pojemności 1000 ml, lejka Buchnera o średnicy 90 mm, pompy próżniowej Welch MPC 105T (Ilmenau, Niemcy), papierowych sączków producenta Macherey-Nagel MN 640m (Dürenn, Niemcy). Do odbarwiania oleju wykorzystano ziemię bielącą otrzymane od producentów, wśród których były: Tonsil 4120AFF (Clariant, Hiszpania), Supreme 112FF (Clariant, Hiszpania), Omega 1 (Taiko, Malezja) i Bent Actigel (Amcol Mineral, Turcja). Parametry ziemi bielącej, takie jak pH i zawartość wody, zostały przedstawione w **Publikacji 3, Tabela 1**.

Testy bielenia oleju przeprowadzono zgodnie z procedurą, która jest powszechnie stosowana w przemyśle. Próbkę oleju ogrzano do 100°C i dodano ziemię bielącą w ilości 2 g/100 g oleju. W trakcie odbarwiania stosowano wirówkę rotacyjną z nastawą 250 obr./min i podtrzymaniem zmniejszonego ciśnienia na poziomie 45 mbar, przez 45 minut. W kolejnym etapie olej wstępnie został odwirowany (4081 x g) z nadmiaru ziemi bielącej i oczyszczony przez filtrację pod próżnią. Filtrację powtarzano do momentu, aż nie zaobserwowano pozostałości ziemi bielącej na sączku papierowym.

Winteryzacja

W wizualnym teście na obecność wosków stwierdzono, że bielony olej kukurydziany pofermentacyjny stawał się mętny po 48 godzinach w temperaturze 0°C. W takim przypadku zdecydowano o przeprowadzeniu dodatkowo winteryzacji. W procesie wykorzystano chłodzarkę laboratoryjną producenta POL-EKO APARATURA model CHL2 C Smart (Wodzisław Śląski, Polska), wirówkę MPW-352 (Warszawa, Polska), szklaną butelkę z nakrętką oraz zestaw do filtracji pod próżnią, składający się z: kolby ssawnej o pojemności 1000 ml, lejka Buchnera o średnicy 90 mm, pompy próżniowej marki Welch MPC 105T (Ilmenau, Niemcy), papierowych sączków producenta Macherey-Nagel MN 640m (Düren, Niemcy). Odwoskowanie przeprowadzono przy użyciu dodatku celulozowego Filtracel EFC1350 (JRS, Niemcy), który jest stosowany w przemyśle tłuszczowym przy winteryzacji olejów roślinnych, takich jak olej słonecznikowy.

Doświadczenie rozpoczęto od schładzania oleju w szklanej butelce do 9°C w chłodzarkę. Następnie dodano dodatek celulozowy w ilości 2,5 g/100 g oleju, delikatnie mieszając zawartość w butelce. Mieszaninę ochłodzono do temperatury 0°C i bardzo delikatnie mieszano od czasu do czasu, aby zapobiec rozproszeniu utworzonych kryształów. Mieszaninę utrzymywano w temperaturze 0°C przez 48 godzin, następnie odwirowano (4081 x g) i przesączono pod zmniejszonym ciśnieniem przez sączek papierowy (Mn 640 m).

Deodoryzacja

Do przeprowadzenia deodoryzacji wykorzystano wytwornice pary firmy Alux model WA-45 INOX (Wilkowice, Polska), szklany zestaw do destylacji z parą wykonany na zamówienie, składający się z kolby okrągłodennej trójszyjnej o pojemności 250 ml, chłodnicy Liebiga, 2 chłodnic zwrotnych, okrągłodenna kolbę pełniącą funkcję odbieralnika, łączników szklanych, termometru rtęciowego o zakresie pomiarowym 0-360°C, szklaną dyszę do pary wykonaną na zamówienie z ręcznym zaworem pozwalającym na regulację dozowania pary do oleju. Szklana instalacja do deodoryzacji była podłączona do pompy próżniowej firmy Welch model MPC 105T (Ilmenau, Niemcy), zabezpieczonej przed zalaniem szklanym wymrażaczem. Do uzyskania temperatury deodoryzacji wykorzystano łąźnię piaskową producenta WSL ŁPO model 400M (POLSKA), w której umieszczono kolbę z olejem.

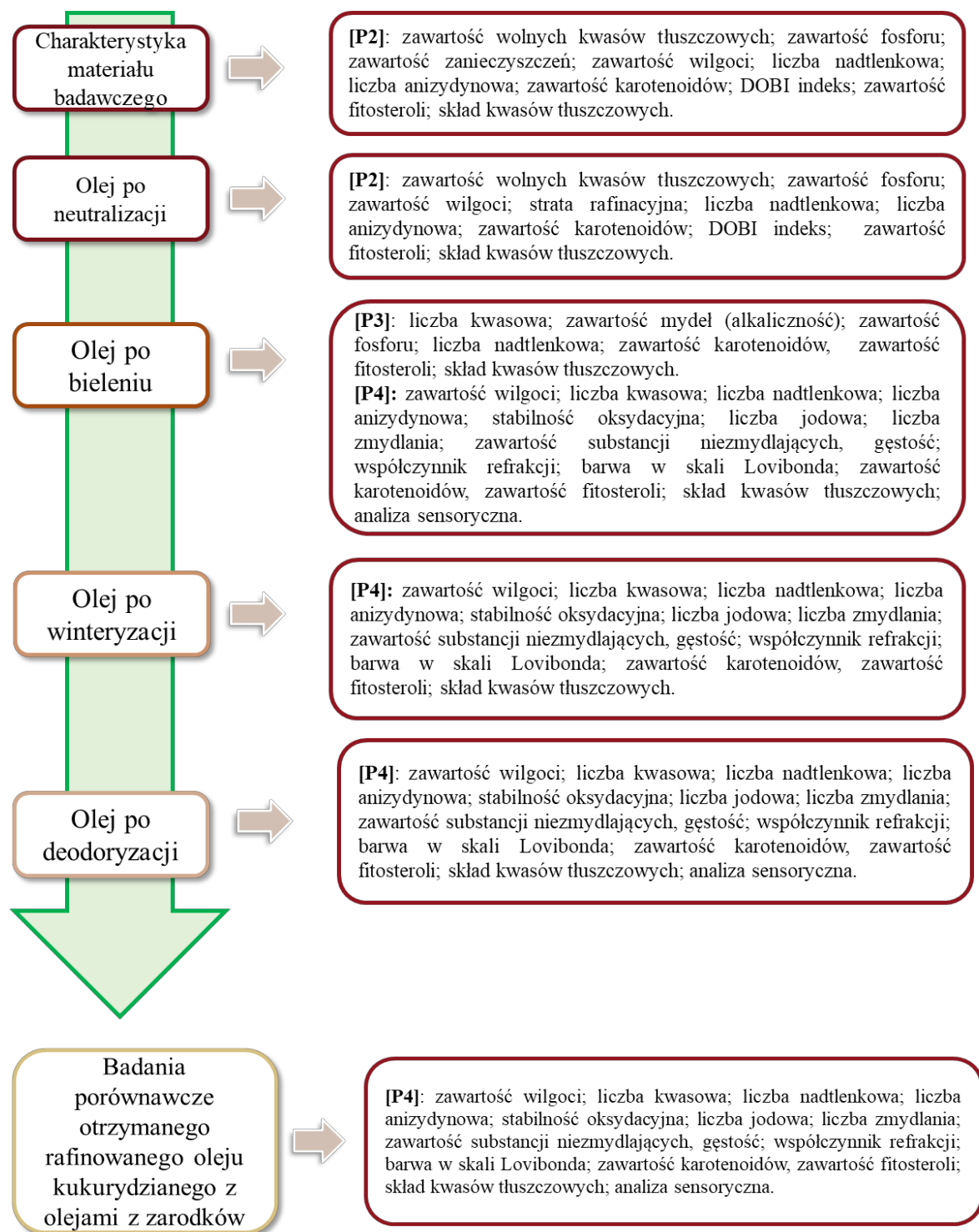
Olej kukurydziany pofermentacyjny, będący w kolbie okrągłodennej, umieszczono w łaźni piaskowej i połączono z laboratoryjnym zestawem do destylacji zamieszczonym na **Rysunku 14**. Po uzyskaniu temperatury 100°C w oleju włączono pompę próżniową z regulatorem. Po uzyskaniu 3-5 mbar oraz temperatury 180°C rozpoczęto dozowanie pary wodnej. Para wodna wytwarzana przez wytwornice pary była redukowana do 0,8 bar i wprowadzana nad lustro oleju, aby zapobiec kondensacji i hydrolizie oleju. Proces odwaniania prowadzono 45 minut, następnie wyłączano dostarczanie pary, chłodzono olej przez odbiór piasku w łaźni i przy temperaturze 100°C, powoli zwiększano ciśnienie do atmosferycznego w układzie, regulując nastawy pompy próżniowej.



Rysunek 14. Zestaw do destylacji z parą wodną według mojej koncepcji.

5.2.2. Analiza fizykochemiczna

Olej kukurydziany pofermentacyjny analizowany był na poszczególnych etapach rafinacji. Dokładny schemat badawczy został przedstawiony na **Rysunku 15**. W badaniach posłużono się częściowo metodami wystandardyzowanymi zgodnie z przyjętymi normami Polskiego Komitetu Normalizacyjnego (PKN) oraz International Organization for Standardization (ISO) (**Tabela 3**).



Rysunek 15. Schemat zaplanowanych badań.

Tabela 3 Wykaz stosowanych norm badawczych.

Parametr	Symbol normy	Opis
LK WKT (Z obliczeń)	PN-EN ISO 660:2021-03 [2,3,4]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
Woda	PN-EN ISO 12937:2005 +Ap1:2021-11 [4]	Oznaczanie wody — Miareczkowanie kulometryczne metodą Karla Fischera
LZ	PN-EN ISO 3657:2020:10 [4]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce — Oznaczanie liczby zmydlenia
LN	PN-EN ISO 3960:2017-03 [3,4]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Oznaczanie liczby nadtlencowej - Jodometryczne (wizualne) oznaczenie punktu końcowego
LA	PN-EN 6885:2016 [4]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczanie liczby anizydynowej
SNZ	ISO 3596:2000 [4]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce - Oznaczanie substancji niezmydlających się - Metoda ekstrakcji eterem etylowym
LJ	PN-EN ISO 3961:2018 [4]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie liczby jodowej
Barwa Lovibonda	PN-ISO 15305:2001 [3,4]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie barwy w skali Lovibonda
Fosfor	PN-ISO 10540-1 [2,3]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie zawartości fosforu
Alkaliczność (mydła z wyliczeń)	PN-EN ISO 10539:2002 [3]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie alkaliczności
Stabilność oksydacyjna	PN_EN ISO 6886:2016 [4]	Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie stabilności oksydacyjnej (test przyspieszonego utleniania)

Oznaczenie składu kwasów tłuszczowych

Ilościowy skład kwasów tłuszczowych oznaczano, stosując chromatografię gazową (GC). Próbkę oleju w ilości 50 mg umieszczono w kolbie w celu przeprowadzenia transestryfikacji kwasów tłuszczowych do estrów metylowych za pomocą metanolanu sodu (8 g NaOH w 1000 ml metanolu). Próbkę ogrzewano przez 5 minut pod chodnicą zwrotną. Do ochłodzonego roztworu dodano fenoloftaleinę (roztwór 0,2% w metanolu) i kwas siarkowy VI (3 ml 96% kwasu siarkowego w 100 ml metanolu) do odbarwienia. Próbkę ponownie doprowadzono do wrzenia (5minut). Następnie do ochłodzonego roztworu dodano chlorek sodu i izooktan, celem przeniesienia otrzymanych estrów do fazy organicznej. Po wstrząśnięciu i rozdzieleniu faz pobrano fazę organiczną do analizy na chromatografie. Zastosowano chromatograf producenta Agilent Technologies z detektorem FID (Chromatograf 7890B GC model G3440B, Kalifornia, USA), z kolumną J&W DB-23

(Agilent Technologies, Kalifornia, USA) o wymiarach $30\text{ m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\mu\text{m}$. Warunki procesu: hel jako gaz nośny przy stałym ciśnieniu 14 psi, FID w temperaturze 280°C przy natężeniu przepływu wodoru 40 ml/min i natężeniu przepływu helu 25 ml/min. Nastrzykiwano 1 μl z podziałem wynoszącym 50:1 przy temperaturze dozownika 250°C . Analiza chromatograficzna prowadzona była zgodnie z programem temperaturowym zalecanym przez producenta kolumny. Początkowo przez 1 minutę utrzymywano temperaturę wynoszącą 50°C , następnie temperatura pieca rosła do 250°C z prędkością: $25^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 175°C i $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ do 230°C przez 5 minut. Kolumnę skalibrowano na wzorcu FAME (Sigma Aldrich, Laramie, USA), zawierającym estry kwasów tłuszczowych od C4:0 do C24:0, o łącznej liczbie związków 37, którym przypisano odpowiednie czasy retencji. Izooktan (Chempur, Piekary Śląskie, Polska) zastosowano jako rozpuszczalnik. Wyniki wyrażono w gramach na 100 g oleju w stosunku do całkowitej ilości kwasów tłuszczowych.

Oznaczenie zawartości fitosteroli

Zawartość fitosteroli oznaczano, stosując chromatografię gazową (GC) z detekcją FID przy użyciu aparatu Agilent Technologies model 6890 (Agilent Technologies, Kalifornia, USA), wyposażonego w kolumnę kapilarną marki SGE, model BPx5 (Australia) $25\text{ m} \times 0,20\text{ nm}$, $0,11\text{ um}$. Warunki procesu: hel jako gaz nośny, FID w temperaturze 310°C , wtrysk (25:1) w temperaturze 280°C . Analizę przeprowadzono w obecności wewnętrznego wzorca 5- α -cholestan (Sigma-Aldrich, USA). Próbkę poddano zmydłaniu w łaźni wodnej, a następnie zestryfikowano kwasy tłuszczowe w obecności katalizatora kwasowego. Po ochłodzeniu dodano heksan do ekstrakcji, a następnie nasycony chlorek sodowy do separacji. Warstwę heksanu przeniesiono do fiolek, które pozostawiono do odparowania. Ostatnim etapem analizy jest dezodoryzacja BSTFA + 1 g/100 g roztworu TMCS (Tokyo Chemical Industry). Poszczególne piki fitosteroli zidentyfikowano, porównując czasy retencji, odpowiadające wzorcowi wewnętrznemu. Każdy pomiar wykonywano dwukrotnie, z których obliczano średnią. Wyniki wyrażono w miligramach na 100 gramów.

Analiza zawartości karotenoidów

Zawartość karotenów oznaczano metodą spektrofotometryczną zgodnie z standardem PORIM [PORIM, 1995; Nokkaew i wsp., 2019]. Próbkę o wadze 0,1 z dokładnością 0,0001g rozpuszczono w 25ml heksanu. Roztwór umieszczono w kuwecie pomiarowej o

szerokości 1 cm i zmierzono absorbancję przy długości fal A446 za pomocą spektrofotometru AquaMate Plus UV-Vis (Thermo Fisher Scientific Inc. Wielka Brytania). Zawartość karotenoidów, wyrażona jako β -karoten, w miligramach na kilogram oleju.

$$\text{zawartość karotenoidów} = \frac{383 \cdot A_{446} \cdot V}{m} \quad [\text{mg/kg}]$$

Gdzie:

A_{446} – absorbancja przy długości fali 446

V – objętość roztworu [25ml]

m – masa próbki [g]

Oznaczenie gęstości

Gęstość oznaczono za pomocą automatycznego gęstościomierza DMA 4500 firmy Anton Paar (Graz, Austria) wyposażonego w termostat z regulacją temperatury. Pomiar wykonano w temperaturze 20°C. Wyniki wyrażono w gramach na centymetr kwadratowy.

Oznaczenie współczynnika refrakcji

Współczynnik załamania światła (współczynnik refrakcji) określono za pomocą refraktometru Reichert ABBE Mark III (Depew, NY, USA). Pomiar wykonano w temperaturze 20°C. Wyniki wyrażono w postaci wartości bezwymiarowej.

Ocena sensoryczna

Ocenę sensoryczną olejów kukurydzianych przeprowadzono, stosując wytyczne zamieszczone w normie (ISO 6658:2017). W badaniu zastosowano metodę skali, typu 5-punktowego i podaną specyfikacją (**Tabela 4**). Ocena sensoryczna została przeprowadzona przez przeszkolony 6-osobowy zespół o ustalonej i zweryfikowanej wrażliwości sensorycznej. Próbki olejów kodowano od 1 do 6 według protokołu zamieszczonego w **Tabeli 5**. Badanie przeprowadzono w pomieszczeniu specjalnie przystosowanym do analizy sensorycznej z dostępem do światła dziennego. Podczas analizy sensorycznej

oceniający mieli do dyspozycji wodę, mieloną kawę i bezcukrowe herbatniki w celu oczyszczenia kubków smakowych i zapachów pomiędzy analizowanymi próbkami. Każdy oceniający był oddzielony od pozostałych tak, aby na ocenę nie miały wpływu sugestie pozostałych oceniających. Próbki przed badaniem ogrzewano do 43°C i umieszczano w naczyniach umożliwiającą ocenę barwy i klarowności oraz niewpływających na zapach i smakowość oleju. Próbki oceniono zgodnie z następującymi cechami jakościowymi: barwą, klarownością, zapachem i smakiem. Wartość równą lub większą niż 3 uznano za akceptowalny wskaźnik jakości sensorycznej.

Tabela 4. Protokół kodowania próbek oleju do analizy sensorycznej.

Kod próbki	Nazwa handlowa	Nazwa skrócona stosowana w Publikacji 4
1	Pedrisol	ROP
2	Olvita	POO1
3	Luglio	ROL
4	Dezodoryzowany olej kukurydziany pofermentacyjny	DPFO
5	Olvita	POO2
6	Bielony olej kukurydziany pofermentacyjny	BPFO

Tabela 5. Opis karty oceny do analizy sensorycznej olejów roślinnych [Czechowska-Liszka, 2003].

Wyróżnik jakości	5 pkt	4 pkt	3 pkt	2 pkt	1 pkt
Barwa	złocistożółta z odcieniem mniej lub bardziej jasnym	złocistożółta z odcieniem nieznacznie ciemniejszym	złocistożółta z odcieniem ciemniejszym	złocistożółta z wyraźnym ciemnym odcieniem lub jasnożółta blada	złocistożółta z odcieniem brązowym lub wyraźnie odbarwiona
Klarowność	wysoce klarowny	klarowny	lekko opalizujący	mętny	silnie mętny z osadami
Zapach	świeży, wysoce czysty, ledwo wyczuwalny	świeży, czysty, lekko wyczuwalny	niewiele mniej czysty, silnie wyczuwalny	nieczysty z wyraźnym wyczuwalnym zapachem jełkim, rybim, stęchłym, lub innym obcym	silnie zmieniony, wysoce jełki, silnie stęchły, spleśniały lub inny obcy
Smakowość	świeża, wysoce czysta, prawie niewyczuwalna	świeża, czysta, lekko wyczuwalna, typowa dla danego rodzaju oleju	niewiele mniej czysta, z wyczuwalnym posmakiem oleistym	nieczysta, z wyczuwalnym wyraźnym posmakiem oleistym, kwaśnym, jełkim, gorzkim, lub innym obcym	silnie zmieniona, z posmakiem wysoce jełkim, gorzkim, kwaśnym lub innym obcym

5.2.3. Analiza statystyczna

Wszystkie doświadczenia wykonano przynajmniej w trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną wykonano przy użyciu oprogramowania Statistica (TIBCO Statware Inc. 2017, version 13). Do oceny istotności różnic pomiędzy wynikami wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA i test Tukey`a HSD, na poziom istotności statystycznej $\alpha = 0,05$.

6. CYKL PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH ROZPRAWĘ DOKTORSKĄ

PUBLIKACJA 1

Susik J. (2021) Metody otrzymywania oleju kukurydzianego determinujące jego właściwości chemiczne. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 28, 4 (129), 47 –56.

PUBLIKACJA 1

Susik J. (2021) Metody otrzymywania oleju kukurydzianego determinujące jego właściwości chemiczne. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 28, 4 (129), 47–56.

Publikacja 1 to artykuł przeglądowy, w którym zawarto informacje dotyczące ziarna kukurydzy i metod wytwarzania oleju kukurydzianego. W artykule opisano metody przemysłowego i laboratoryjnego otrzymywania oleju kukurydzianego, uwzględniając przy tym jego właściwości fizyko-chemiczne. Wśród opisanych metod wytwarzania znalazły się metody tradycyjne jak tłoczenie i ekstrakcja w połączeniu z rafinacją, dzięki którym możliwe jest uzyskanie produktu jakości spożywczej. Drugą przemysłową metodą wytwarzania oleju jest separacja frakcji tłuszczowych z wywarów pogorzelnicznych, gdzie do procesu produkcji bioetanolu stosuje się całe ziarno kukurydzy. Oleje takie po wstępnym oczyszczeniu nie spełniają jednak jakości wymaganej dla produktów spożywczych, dlatego ich głównym przeznaczeniem jest produkcja biopaliw i jako komponent pasz dla zwierząt. Z kolei wśród metod nieprzemysłowych wyróżniono metody enzymatyczne oraz ekstrakcję w stanie nadkrytycznym z wykorzystaniem dwutlenku węgla.

W publikacji opisano laboratoryjne metody otrzymywania oleju kukurydzianego z otrąb kukurydzianych, z całych ziaren lub z produktów ekstrakcji oleju z DDGS`u. Oleje te zostały scharakteryzowane pod kątem różnic w profilu kwasów tłuszczowych, zawartości substancji biologicznie aktywnych jak fitosteroli, tokoferoli czy karotenoidów.

Przeprowadzony w artykule przegląd piśmiennictwa dotyczący oleju kukurydzianego pozwolił na wyznaczenie kierunku badań. Jak do tej pory badacze nie podjęli wyzwania otrzymania oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, którego jakość odpowiadałaby wymaganiom stawianym olejom spożywczym. Pozwoliło to na sformułowanie celu badawczego i wyznaczenie hipotez, które w toku dalszej pracy badawczej były weryfikowane.

**Oświadczenie o wkładzie merytorycznym Autorów
w opracowaniu publikacji ^{1/}**

Justyna Susik

Imię i nazwisko

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy
Jednostka Organizacyjna / Instytut / miejsce realizacji pracy doktorskiej

Oświadczenie dotyczy publikacji pt.

“Metody otrzymywania oleju kukurydzianego determinujące jego właściwości
chemiczne”
Tytuł artykułu

ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2021, 28, 4 (129), 47 – 56, DOI:
10.15193/zntj/2021/129/399
Nazwa czasopisma, rok, numer, strony, DOI

Justyna Susik* **

Autorzy: Imię i nazwisko; Imię i nazwisko, Imię i nazwisko; Imię i nazwisko (²)

Lp.	Nazwisko i imię Autora	Opis wkładu merytorycznego	Ew. szacunkowy udział %	Afiliacja	Podpis Autora
1	Justyna Susik	koncepcja, metodologia, analiza formalna, walidacja, analiza danych, napisanie manuskryptu, odpowiadanie na recenzje.	100%	IBPRS-PIB	<i>Justyna Susik</i>

¹ Wypełnia pierwszy Autor, a jeśli pierwszy Autor jest spoza Jednostki organizacyjnej współprowadzącej SD, do której przypisany jest doktorat, najwyżej wymieniany wśród Autorów pracownik danej jednostki współprowadzącej SD

² Zaznaczyć przy odpowiednim nazwisku: */ autor korespondencyjny, **/doktorant. Pozostali autorzy - nazwiska bez zaznaczenia gwiazdką/gwiazdkami.

Oświadczenie o wkładzie merytorycznym Autorów

w opracowaniu publikacji ^{1/}

¹ Wypełnia pierwszy Autor, a jeśli pierwszy Autor jest spoza Jednostki organizacyjnej współprowadzącej SD, do której przypisany jest doktorat, najwyżej wymieniany wśród Autorów pracownik danej jednostki współprowadzącej SD

PUBLIKACJA 2

Susik J., Ptasznik S. (2023) The first stage of refining of post-fermentation corn oil with a high content of free fatty acids and phytosterols – Comparison of neutralisation by an ion-exchange resin without solvent and base neutralisation.

Food Research International, 164, 112302.

PUBLIKACJA 2

Susik J., Ptasznik S. (2023) The first stage of refining of post-fermentation corn oil with a high content of free fatty acids and phytosterols – Comparison of neutralisation by an ion-exchange resin without solvent and base neutralisation.

Food Research International, 164, 112302.

W **Publikacji 2** scharakteryzowano materiał badawczy zgodnie z wyznaczonym zadaniem badawczym nr 1. Celem kolejnego zadania (zadanie badawcze nr 2) było otrzymanie oleju kukurydzianego pofermentacyjnego o obniżonej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych oraz weryfikacja zawartości fitosteroli. Realizując postawiony w pracy cel badawczy, jakim było otrzymanie oleju jakości spożywczej, przeprowadzono neutralizację, będącą pierwszym etapem w całym procesie rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. Ze względu na nietypowy charakter oleju odkwaszania dokonano dwiema metodami: za pomocą roztworu wodorotlenku sodu i z wykorzystaniem aktywowanej żywicy jonowymiennej. Obie metody pozwoliły na otrzymanie oleju o obniżonej liczbie kwasowej oraz niskiej zawartości fosforu z zbliżoną stratą rafinacyjną. Ponadto profil kwasów tłuszczowych nie uległ istotnym zmianom. Wyniki badań wykazały, że olej po neutralizacji cechował się znaczną zawartością steroli roślinnych. Obserwowany wpływ procesu rafinacji na ich ilość był niewielki, a obie metody pomimo różnic pozwoliły na zachowanie w oleju pofermentacyjnym znacznych ilości steroli roślinnych. Dodatkowo wyniki analiz pozwalają stwierdzić, że obie metody odkwaszania skutkują redukcją ilości karotenoidów w granicach 35-37% w stosunku do surowego oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. Mimo wszystko wartości na poziomie 400 mg/kg determinują olej pofermentacyjny jako produkt ze znaczną zawartością związków barwiących. Wyznaczony indeks DOBI dla oleju odkwaszonego roztworem wodorotlenku sodu był wyższy od wartości indeksu uzyskanego dla oleju neutralizowanego za pomocą żywicy jonowymiennej, przez co pozwoliło to na określenie oleju kukurydzianego pofermentacyjnego neutralizowanego roztworem wodorotlenku sodu jako oleju dobrej jakości.

Mając na uwagę realizację celu badawczego i potwierdzenie postawionych hipotez wyniki zamieszczone w **Publikacji 2** oraz otrzymany olej kukurydziany pofermentacyjny pozwoliły na kontynuowanie badań. **Publikacja 2** poświęcona została charakterystyce oraz neutralizacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego i stanowi wstęp do dalszych badań nad rafinacją, których kolejne wyniki zostały zamieszczone w **Publikacjach 3 i 4**.

**Oświadczenie o wkładzie merytorycznym Autorów
w opracowaniu publikacji ¹**

Justyna Susik

Imię i nazwisko

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy
Jednostka Organizacyjna / Instytut / miejsce realizacji pracy doktorskiej

Oświadczenie dotyczy publikacji pt.

“The first of refining of post-fermented corn oil with high content of free fatty acids and
phytosterol – comparison of neutralization by ion exchange resin without solvent and base
neutralization”

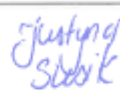

Tytuł artykułu

Food Research International, 2023, 164, 112302, DOI: 10.1016/j.foodres.2022.112302

Nazwa czasopisma, rok, numer, strony, DOI

Justyna Susik* **, Stanisław Ptasznik

Autorzy: Imię i nazwisko; Imię i nazwisko, Imię i nazwisko; Imię i nazwisko (?)

Lp.	Nazwisko i imię Autora	Opis wkładu merytorycznego	Ew. szacunkowy udział %	Afiliacja	Podpis Autora
1	Justyna Susik	koncepcja, metodologia, walidacja, badania, zasoby, analiza formalna, analiza danych, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu, odpowiadanie na recenzje.	70%	IBPRS-PIB	
2	Stanisław Ptasznik	koncepcja, metodologia, zasoby; analiza danych, nadzór, napisanie – opieka merytoryczna (edycja tekstu).	30%	IBPRS-PIB	

¹ Wypełnia pierwszy Autor, a jeśli pierwszy Autor jest spoza Jednostki organizacyjnej współprowadzącej SD, do której przypisany jest doktorat, najwyżej wymieniany wśród Autorów pracownik danej jednostki współprowadzącej SD

² Zaznaczyć przy odpowiednim nazwisku: */ autor korespondencyjny, **/doktorant. Pozostali autorzy - nazwiska bez zaznaczenia gwiazdką/gwiazdkami.

PUBLIKACJA 3

Susik J., Ptasznik S. (2023) Effect of bleaching with different clay on the final composition of post-fermentation corn oil with high content of β -sitosterol.

LWT Food Science and Technology, 184, 114958.

PUBLIKACJA 3

Susik J., Ptasznik S. (2023) Effect of bleaching with different clay on the final composition of post-fermentation corn oil with high content of β -sitosterol. *LWT Food Science and Technology*, 184, 114958.

Publikacja 3 została poświęcona bieleniu oleju kukurydzianego pofermentacyjnego otrzymanego w wyniku neutralizacji za pomocą roztworu wodorotlenku sodu. Wyniki badań są efektem realizacji trzeciego zadania badawczego wyznaczonego w indywidualnym planie badawczym. Proces bielenia przeprowadzono z wykorzystaniem czterech komercyjnie dostępnych ziem bielących. Otrzymane oleje kukurydziane bielone zostały zanalizowane by, określić ziemię bielącą, dzięki której zostanie uzyskany produkt o możliwie najlepszej jakości. Wszystkie zastosowane ziemie bielące cechowała kwasowość, która przyczyniała się do wzrostu liczby kwasowej w olejach. Ponadto we wszystkich doświadczeniach zaobserwowano, że w trakcie odbarwiania liczba nadtlenkowa ulega obniżeniu. Największą redukcję liczby nadtlenkowej odnotowano, stosując ziemię Supreme 112FF i Tonsil 4120AFF. Głównym zadaniem ziemi bielącej jest redukcja związków barwnikowych, pigmentów, wśród których znajdują się karotenoidy. Uzyskane wyniki badań potwierdzają, iż wszystkie wykorzystane ziemie bielące efektywnie, ale w różnym stopniu obniżają zawartość karotenoidów. Największą redukcję stwierdzono, stosując ziemię Supreme 112FF i Tonsil 4120AFF. Natomiast analizując wyniki barwy w skali Lovibonda zaobserwowano, że proces bielenia wpływa istotnie na wskaźnik barwy czerwonej. Najlepsze właściwości bielące w kontekście barwy czerwonej (R) posiadała ziemia Tonsil 4120AFF. W trakcie rafinacji olejów poza usunięciem związków mających niekorzystny wpływ na jakość oleju dochodzi również do utraty związków mających pozytywny wpływ na zdrowie człowieka, czyli steroli roślinnych. Ogólna ilość tych substancji w olejach bielonych uległa redukcji średnio o 12 – 21 %, jednakże w dalszym ciągu była na wysokim poziomie. W przypadku profilu kwasów tłuszczowych nie stwierdzono zmian, które zostały wywołane działaniem ziemi bielącej. Wykonane badania i ich wyniki zamieszczone w **Publikacji 3** są częścią całego

procesu rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. Olej otrzymany w wyniku bielenia za pomocą ziemi Tonsil 2120AFF został oceniony jako najbardziej optymalny i skierowany do dalszej rafinacji (winteryzacji i dezodoryzacji), której wyniki zamieszczono w **Publikacji 4**. Podobnie jak w przypadku wyników zamieszczonych w **Publikacji 2** realizacja celu pracy i potwierdzenie hipotez badawczych możliwe było po przeprowadzeniu całego cyklu rafinacji.

**Oświadczenie o wkładzie merytorycznym Autorów
w opracowaniu publikacji ^{1/}**

Justyna Susik

Imię i nazwisko

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy
Jednostka Organizacyjna / Instytut / miejsce realizacji pracy doktorskiej

Oświadczenie dotyczy publikacji pt.

“Effect of bleaching with different clay on the final composition of post-fermentation corn oil
with high content of β -sitosterol”

Tytuł artykułu



LWT-Food Science and Technology, 2023, 184,114958,

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114958>

Nazwa czasopisma, rok, numer, strony, DOI

Justyna Susik* **, Stanisław Ptasznik

Autorzy: Imię i nazwisko; Imię i nazwisko, Imię i nazwisko; Imię i nazwisko (2)

Lp.	Nazwisko i imię Autora	Opis wkładu merytorycznego	Ew. szacunkowy udział %	Afiliacja	Podpis Autora
1	Justyna Susik	koncepcja, metodologia, walidacja, badania, zasoby, analiza formalna, analiza danych, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu, odpowiadanie na recenzje.	70%	IBPRS-PIB	
2	Stanisław Ptasznik	koncepcja, metodologia, zasoby; analiza danych, nadzór, napisanie – opieka merytoryczna (edycja tekstu)	30%	IBPRS-PIB	

¹ Wypełnia pierwszy Autor, a jeśli pierwszy Autor jest spoza Jednostki organizacyjnej współprowadzącej SD, do której przypisany jest doktorat, najwyżej wymieniany wśród Autorów pracownik danej jednostki współprowadzącej SD

² Zaznaczyć przy odpowiednim nazwisku: */ autor korespondencyjny, **/doktorant. Pozostali autorzy - nazwiska bez zaznaczenia gwiazdką/gwiazdkami.

PUBLIKACJA 4

Susik J., Ptasznik S. (2024) Comparison of deodorized post-fermentation corn oil to commercial corn germ oil. *LWT Food Science and Technology*, 116161.

PUBLIKACJA 4

Susik J., Ptasznik S. (2024) Comparison of deodorized post-fermentation corn oil to commercial corn germ oil. *LWT Food Science and Technology*, 116161.

Publikacja 4 poświęcona była zadaniom badawczym 4 i 5. Wyniki badań związane były z przeprowadzeniem procesu witeryzacji i dezodoryzacji. Natomiast jakość otrzymanego rafinowanego oleju kukurydzianego pofermentacyjnego została porównana z komercyjnie dostępnymi olejami kukurydzianymi oraz zweryfikowana z wymaganiami stawianymi olejem spożywczym zawartym w standardzie Codex Alimentarius. Otrzymany dezodoryzowany olej kukurydziany pofermentacyjny (DPFO) cechował się niską wilgotnością oraz obniżoną liczbą kwasową. Zaobserwowano, że w trakcie dezodoryzacji dochodziło do skutecznego usuwania nadtlenków. Z kolei odwrotną tendencję zaobserwowano, badając liczbę anizydynową, która była wyższa od liczby anizydynowej oleju winteryzowanego. Olej kukurydziany pofermentacyjny po dezodoryzacji cechował się wysoką stabilnością oksydacyjną, choć sama deodoryzacja nie wykazała zmiany tego parametru. Ponadto przeprowadzona deodoryzacja nie spowodowała zmiany takich parametrów w oleju, jak liczba jodowa, liczba zmydlania, gęstość, współczynnik refrakcji czy zmiany w składzie kwasów tłuszczowych. W trakcie deodoryzacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego dochodziło do znacznej zmiany barwy, zwłaszcza wskaźnika barwy czerwonej oraz ogólnej ilości karotenoidów. Odwanianie w niskiej temperaturze podyktowane było zachowaniem w oleju możliwie wysokiej ilości substancji bioaktywnych, ze szczególnym uwzględnieniem steroli roślinnych. Wyniki analizy potwierdzają, iż zastosowane parametry procesowe i sposób przeprowadzonych doświadczeń pozwalają na zachowanie możliwie wysokiego stężenia tych substancji, a ich ogólna ilość pozostała na poziomie 930 mg/100g. Otrzymany olej cechował się bardzo dobrą klarownością i dobrym zapachem. W dalszym ciągu otrzymany produkt posiadał intensywną barwę, ale jaśniejszą niż olej przed dezodoryzacją. W przypadku smakowitości, zespół dokonujący analizy sensorycznej

niezależnie potwierdził, iż smak oleju był akceptowalny i zdecydowanie uległ poprawie w wyniku deodoryzacji.

Przeprowadzenie całego procesu rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, którego wyniki zamieszczono w **Publikacjach 2, 3 i 4** pozwoliło otrzymać produkt o specyficznych właściwościach fizykochemicznych. Jakość otrzymanego rafinowanego oleju kukurydzianego pofermentacyjnego został porównana z jakością 4 olejów kukurydzianych otrzymanych metodami tradycyjnymi. Zaobserwowano we wszystkich olejach różnice w liczbie kwasowej, nadtlenkowej, anizydynowej oraz stabilności oksydacyjnej. Analiza porównawcza wykazała, że otrzymany olej pofermentacyjny posiadał najniższą liczbę nadtlenkową, oraz wyższą zawartość substancji niezmydlających i zawartość karotenoidów. Wśród badanych olejów kukurydzianych, rafinowany olej pofermentacyjny cechował się wysoką zawartością steroli roślinnych. Natomiast porównanie wyników analizy sensorycznej potwierdziło, że jakość oleju pofermentacyjnego jest zbliżona do olejów dostępnych na rynku. Dodatkowo wyniki analiz rafinowanego oleju kukurydzianego pofermentacyjnego zostały skorelowane z wymaganiami zawartymi w międzynarodowym standardzie jakim jest Codex Alimentarius. Wszystkie podstawowe parametry jakie zostały wyznaczone mieszczą się w zakresach opisanych w standardzie.

Publikacja 4, która była ostatnią z cyklu powiązanych ze sobą artykułów, pozwoliła na dokonanie stwierdzenie, że cel badawczy został osiągnięty, a **Hipoteza 1 i 2** potwierdzone.

**Oświadczenie o wkładzie merytorycznym Autorów
w opracowaniu publikacji ^{1/}**

Justyna Susik

Imię i nazwisko

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego
im. prof. Wacława Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy
Jednostka Organizacyjna / Instytut / miejsce realizacji pracy doktorskiej

Oświadczenie dotyczy publikacji pt.

“Comparison of deodorized post-fermentation corn oil to commercial corn germ oil”



Tytuł artykułu

LWT-Food Science and Technology, 2024, 200,116161,
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116161>

Nazwa czasopisma, rok, numer, strony, DOI

Justyna Susik* **, Stanisław Ptasznik

Autorzy: Imię i nazwisko; Imię i nazwisko, Imię i nazwisko; Imię i nazwisko (°)

Lp.	Nazwisko i imię Autora	Opis wkładu merytorycznego	Ew. szacunkowy udział %	Afiliacja	Podpis Autora
1	Justyna Susik	koncepcja, metodologia, badania, analiza formalna, walidacja, zasoby, analiza danych, przygotowaniu wstępnej i ostatecznej wersji manuskryptu, odpowiadanie na recenzje.	80%	IBPRS-PIB	
2	Stanisław Ptasznik	koncepcja, metodologia, zasoby; analiza danych, nadzór, napisanie – opieka merytoryczna (edycja tekstu).	20%	IBPRS-PIB	

¹ Wypełnia pierwszy Autor, a jeśli pierwszy Autor jest spoza Jednostki organizacyjnej współprowadzącej SD, do której przypisany jest doktorat, najwyżej wymieniany wśród Autorów pracownik danej jednostki współprowadzącej SD

² Zaznaczyć przy odpowiednim nazwisku: */ autor korespondencyjny, **/doktorant. Pozostali autorzy - nazwiska bez zaznaczenia gwiazdka/gwiazdkami.

7. WYNIKI I DYSKUJA

7.1. CHARAKTERYSTYKA OLEJU KUKURYDZIANEGO PO FERMENTACYJNEGO

Olej kukurydziany pofermentacyjny jako materiał badawczy pozyskiwano od lokalnego producenta bioetanolu. Na przestrzeni lat 2021-2023, w których były prowadzone badania, nie wykazywał znacznych różnic w swojej jakości, a podstawowe parametry jakościowe zostały przedstawione w rozdziale materiał badawczy. Jednakże, przystępując do badań nad jego rafinacją, dodatkowo skontrolowano następujące parametry, takie jak: zawartość WKT, zawartość fosforu, wilgotność, zawartość zanieczyszczeń, liczba nadtlenkowa i anizydynowa, zawartość poszczególnych fitosteroli i karotenoidów oraz skład kwasów tłuszczowych [**Tabela 1-5; Publikacja 2**]. Oznaczenie powyższych parametrów pozwoliło ocenić różnice jakości oleju w trakcie rafinacji, zwłaszcza po jego neutralizacji. Olej kukurydziany pofermentacyjny charakteryzuje się wysoką zawartością wolnych kwasów tłuszczowych, która wynika z procesów zachodzących w czasie fermentacji. Wzrost zawartości WKT przypisuje się aktywności enzymów i drożdży obecnych w czasie fermentacji, które katalizują reakcje hydrolizy [Afoakwa i wsp., 2013; Tumanov i wsp., 2018]. Natomiast niska wilgotność oraz niski poziom zanieczyszczeń w oleju świadczy o zastosowaniu dodatkowych etapów oczyszczania jeszcze w wytwórni bioetanolu, takich jak zateżanie i suszenie. Zawartość fosfolipidów wrażona jako fosfor, w oleju pochodzącym z procesów fermentacji kukurydzy, jest niska (18 mg/kg) [**Publikacja 2**], co potwierdzają badania naukowe [Di Lena i wsp., 2020]. Otrzymane próbki oleju charakteryzowały się śladową obecnością nadtlenków oraz niską liczbą anizydynową [**Tabela 2; Publikacja 2**]. Za niską zawartość nadtlenków odpowiadają substancje przeciwutleniające, obecne w kukurydzy. Wysoka zawartość tych substancji w oleju spowodowana była procesem ekstrakcji z ziarna kukurydzy do brzezki kukurydzianej za sprawą produkowanego przez drożdże etanolu. Do substancji posiadających właściwości antyutleniające należą na przykład związki fenolowe, których rozpuszczalność w etanolu jest bardzo dobra. W przypadku heksanu rozpuszczalność związków fenolowych jest zdecydowanie mniejsza [Mohsen & Ammar, 2009]. W odróżnieniu od oleju z zarodków,

olej kukurydziany pofermentacyjny charakteryzuje się wysoką zawartością fitosteroli, których ogólna zawartość wynosiła 1240 mg/100g [**Tabela 3, Publikacja 2**; Winkler – Moser i wsp., 2023]. Oleje zarodkowe cechują się zawartością fitosteroli na niższym poziomie i wynoszą 850mg/100 g w oleju surowym i 750 mg/100 w oleju rafinowanym [Barrera-Arellano i wsp., 2019]. Kolejną cechą wyróżniającą olej kukurydziany pofermentacyjny była jego ciemna, rubinowa barwa, przekładająca się na wysoką zawartość związków karotenoidowych. W wyniku analizy spektrofotometrycznej, określającej ogólną ilość barwników, wyrażonych jako zawartość karotenoidów, można było zaobserwować wartości istotnie wysokie [**Tabela 4, Publikacja 2**]. Sprawdzono skład kwasów tłuszczowych w oleju kukurydzianym pofermentacyjnym [**Tabela 5, Publikacja 2**]. Podobnie jak w przypadku olejów zarodkowych olej pofermentacyjny charakteryzuje się wysoką zawartością kwasu linolowego (C18:2) należącego do kwasów z grupy omega 6 oraz oleinowego (C18:1), co w efekcie składa się na wysoką sumę zawartości kwasów nienasyconych. Fermentacja i destylacja etanolu, w trakcie której obecna była frakcja tłuszczu kukurydzianego, nie powodowała powstawania kwasów *trans*. Wykonana analiza olejów zarodkowych tłoczonych i rafinowanych potwierdza w nich zbliżony udział kwasów nienasyconych [**Tabela 4, Publikacja 4**].

Oceniając powyższe wyniki stwierdzono, iż olej kukurydziany pofermentacyjny różni się od oleju kukurydzianego zarodkowego nie tylko barwą [**Rysunek 16**], ale również ilością substancji, takich jak fitosterole czy związki karotenoidowe. Wśród cech wyróżnionych zaobserwowano wysoką zawartość wolnych kwasów tłuszczowych i niską zawartością fosforu. Natomiast analizy składu kwasów tłuszczowych oraz liczby jodowej [**Tabela 4**] w oleju pofermentacyjnym i zarodkowym nie wykazała istotnych różnic.



Rysunek 16. Prezentacja oleju kukurydzianego pofermentacyjnego przed przystąpieniem do rafinacji.

7.2. WPLYW PROCESU NEUTRALIZACJI NA JAKOŚĆ OLEJU KUKURYDZIANEGO POFERMENTACYJNEGO

W badaniach celowo pomięto jeden z etapów rafinacji – odśluzowywanie (degumming) i od razu przystąpiono do odkwaszania. Powodem decyzji o rezygnacji z odśluzowywania była niska zawartość fosfolipidów, nieprzekraczająca 50 mg/kg. Badania nad neutralizacją zostały przeprowadzone dwoma sposobami: za pomocą roztworu wodorotlenku sodu i aktywowanej żywicy jonowymiennej. Wyniki doświadczeń zostały przedstawione w **Publikacji 2**. Redukcja WKT za pomocą żywicy jonowymiennej była wyższa niż za pomocą roztworu wodorotlenku sodu. Obie metody pozwoliły otrzymać olej o niskiej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych, osiągając tym samym redukcję na satysfakcjonującym poziomie 93-94% [**Tabela 1, Publikacja 2**]. Neutralizacja sprzyjała również obniżeniu zawartości fosfolipidów w oleju [**Tabela 1, Publikacja 2**]. Ze względu na wysoką zawartość WKT wyliczono rzeczywiste straty oleju i porównano je do straty teoretycznej, wynoszącej 15,64 %. Obie metody pozwoliły otrzymać olej o niskiej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych, jednak ze stratą wyższą niż teoretyczna. Świadczy to o tym, że w trakcie procesu poza wolnymi kwasami tłuszczowymi została utracona część triacylogliceroli w ilości od 2,36 do 3,36 %. W przypadku neutralizacji za pomocą roztworu wodorotlenku sodu dochodzi do wytworzenia mydeł wyższych kwasów tłuszczowych, które posiadają właściwości emulgujące. W strukturze cząsteczki mydła

wyróżnić można część hydrofobową i hydrofilową, przez co dochodzi do zatrzymania cząsteczek oleju w micelach wytworzonych właśnie przez mydła. Wówczas w trakcie odwirowywania dochodzi do utraty oleju neutralnego [Chumsantea i wsp., 2012]. Odkwaszanie olejów o wysokim stopniu zhydrolizowania zazwyczaj prowadzi do wysokich strat rafinacyjnych. Potwierdzeniem są badania nad neutralizacją oleju z rokitnika o liczbie kwasowej 10,5 mg/g, gdzie strata rafinacyjna w procesie odkwaszania zasadą wynosiła ponad 26% [Shi i wsp., 2018]. Natomiast doniesienia naukowe dotyczące neutralizacji z wykorzystaniem żywic jonowymiennych wskazują, iż proces powinien charakteryzować się niską stratą rafinacyjną [Deboni i wsp., 2013]. Jednakże w **Publikacji 2** przedstawiony sposób odkwaszania był odmienny od powszechnie stosowanych. Celowo zrezygnowano z rozpuszczalnika, którym zazwyczaj jest heksan, ze względu na jego niekorzystne właściwości (palny, toksyczny i nieekologiczny). Rezygnacja z rozpuszczalnika doprowadziła do zwiększenia oporów przepływu oleju przez warstwę żywicy, wskutek zwiększonej lepkości. Z każdym cyklem i ilością zaabsorbowanych kwasów tłuszczowych szybkość przepływu oleju przez warstwę żywicy była niższa, tym samym powodując wzrost straty rafinacyjnej.

Proces neutralizacji wpływał na pozostałe parametry oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. W ramach badań sprawdzono liczbę nadtlenkową i anizydynową w olejach po odkwaszaniu, a wyniki analiz zostały zaprezentowane w **Tabela 2, Publikacja 2**. Wartości liczby nadtlenkowej i anizydynowej nie wykazują statystycznie istotnych różnic bez względu na zastosowaną metodę usuwania WKT z oleju. Jednakowoż po przeprowadzonej neutralizacji próbki oleju posiadały znaczny poziom nadtlenków, czego nie zaobserwowano w surowym oleju kukurydzianym pofermentacyjnym. Badania naukowe przeprowadzone na oleju sojowym i rzepakowym również nie wyjaśniają przyczyn wzrostu bądź obniżenia liczby nadtlenkowej w czasie neutralizacji [Farhoosh i wsp., 2009; Engelmann i wsp., 2017]. Analizując wartości liczby anizydynowej w oleju po neutralizacji, zaobserwowano spadek jej wartości w stosunku do oleju surowego, a z kolei wśród stosowanych sposobów neutralizacji nie stwierdzono istotnych różnic. Aktualne badania wskazują, iż w trakcie odkwaszania, np. oleju sojowego dochodzi do wzrostu liczby anizydynowej, co nie zostało potwierdzone w badaniach nad neutralizacją oleju kukurydzianego pofermentacyjnego [Saleh i wsp., 2013]. Z kolei dostępne wyniki

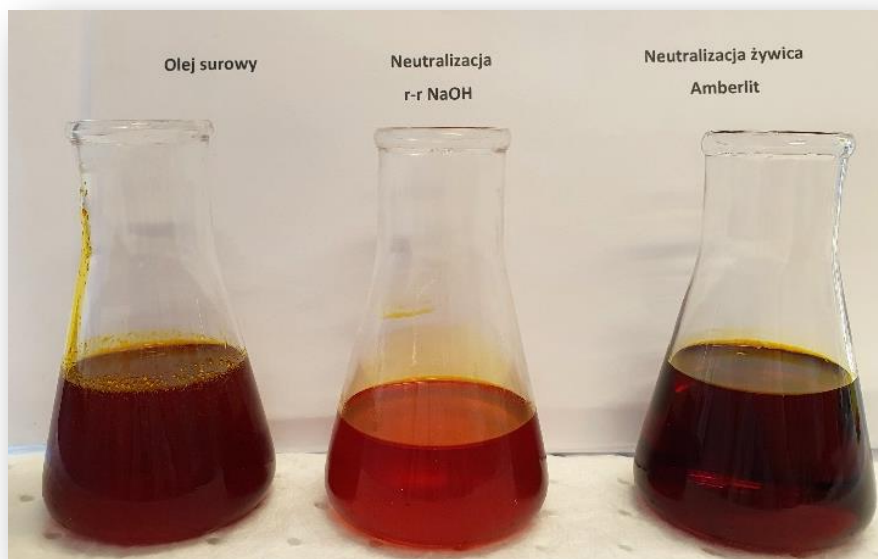
odkwaszania oleju rzepakowego potwierdzają, iż proces neutralizacji nie wpływa na wzrost liczby anizydynowej, a przy zastosowaniu innych zasadowych roztworów możemy otrzymać olej z obniżoną liczbą anizydynową [Ghazani i wsp, 2013].

Olej kukurydziany pofermentacyjny charakteryzuje się wysoką zawartością fitosteroli, dlatego istotne jest, aby rafinacja nie powodowała nadmiernej utraty tych substancji. W zadaniu tym sprawdzono, czy neutralizacja wpływa na ilość fitosteroli w oleju kukurydzianym pofermentacyjnym. [**Tabela 3, Publikacja 2**]. Badania przeprowadzone dwiema metodami wykazały, że olej po neutralizacji charakteryzował się znaczną zawartością steroli roślinnych. Obserwowany wpływ procesu rafinacji na ich ilość był niewielki, a obie metody pomimo różnic pozwoliły na zachowanie w oleju pofermentacyjnym znacznych ilości steroli roślinnych. Wykorzystanie żywicy jonowymiennej pozwoliło na niewielkie zwiększenie udziału fitosteroli w oleju kukurydzianym. Przyczyną wzrostu zawartości tych substancji biologicznie aktywnych był selektywny sposób działania żywicy, reagujący z większą precyzją na obecne w oleju wolne kwasy tłuszczowe. Rafinacja prowadzi do poprawy jakości olejów, czasem kosztem częściowej utraty związków biologicznie aktywnych [Ghazani i wsp., 2013; Bai i wsp., 2022]. Przeprowadzone odkwaszanie, bez względu na zastosowany sposób, pozwoliło na otrzymanie oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, w którego składzie zawartość steroli roślinnych była w dalszym ciągu wysoka.

W trakcie neutralizacji sprawdzono również zawartość karotenoidów oraz indeks DOBI [**Tabela 4, Publikacja 2**]. Wyniki analiz pozwalają stwierdzić, że obie metody odkwaszania skutkują redukcją ilości karotenoidów w granicach 35-37% w stosunku do surowego oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. Dostępne dane literaturowe potwierdzają, że neutralizacja olejów roślinnych sprzyja obniżeniu ilości karotenoidów [Durmaz & Gökmen, 2019]. Jednakowoż wartości na poziomie 400 mg/kg wciąż determinują olej pofermentacyjny po neutralizacji jako produkt ze znaczną zawartością związków barwiących. Ilość karotenoidów w olejach roślinnych przekłada się pośrednio na wartość indexu DOBI, który kategoryzuje oleje pod kątem jakości oraz efektywności bielenia. Olej kukurydziany pofermentacyjny, który został odkwaszony za pomocą roztworu wodorotlenku sodu, cechował się wysokim wskaźnikiem DOBI, co pozwalało

określić jego jakość jako dobrą. Olej neutralizowany za pomocą żywicy jonowymiennej posiadał gorszą jakość, gdyż jego wskaźnik wynosił 2,33. Bez względu na sposób przeprowadzenia odkwaszania zaobserwowano, że oleje różnią się barwą od olejów przed rafinacją, a neutralizacja chemiczna pozwoliła otrzymać oleje o jaśniejszym odcieniu [Rysunek 17].

Skład kwasów tłuszczowych w analizowanych próbkach olejów kukurydzianych po neutralizacji nie wykazał dużych zmian [Tabela 5, Publikacja 2]. Potwierdzają to badania wykonane na oleju z orzechów laskowych i oleju kokosowym [Duman & Özcan, 2020; Liu i wsp., 2019].



Rysunek 17. Próbkę oleju kukurydzianego pofermentacyjnego, od lewej: surowy olej kukurydziany pofermentacyjny, olej kukurydziany pofermentacyjny odkwaszany roztworem wodorotlenku sodu, olej kukurydziany pofermentacyjny odkwaszany za pomocą żywicy jonowymiennej.

Oceniając powyższe, olej neutralizowany roztworem zasady okazał się odpowiednim olejem do dalszej rafinacji, pod kątem redukcji WKT, zawartości fitosteroli i karotenoidów. Dodatkowo cechował się jaśniejszą barwą i lepszym indeksem DOBI. Sposób, w jaki została przeprowadzona neutralizacja, nie wykazał różnic w liczbie nadtlenkowej i

anizydynowej. Biorąc pod uwagę specyficzną jakość oleju kukurydzianego pofermentacyjnego i opracowanie metody neutralizacji laboratoryjnej zbliżonej do znanych technologii, pozwoli to w przyszłości na przeprowadzenie procesu odkwaszania w przemysłowej skali z założeniem otrzymania oleju neutralnego, jednocześnie zachowującego odpowiednio wysoki poziom substancji biologicznie aktywnych.

7.3. WPLYW PROCESU BIELENIA NA JAKOŚĆ OLEJU KUKURYDZIANEGO POFERMENTACYJNEGO PO NEUTRALIZACJI

Bieleniu poddano olej kukurydziany pofermentacyjny po neutralizacji za pomocą roztworu wodorotlenku sodu, ze względu na wyższy index DOBI. W doświadczeniach wykorzystano ziemie bielące komercyjnie dostępne, które zostały zaprezentowane w **Publikacji 3**. Celem weryfikacji postępu w rafinacji, jakość oleju bielonego była sprawdzana i porównywana między sobą oraz olejem po neutralizacji. W trakcie procesu odbarwiania w warunkach laboratoryjnych zastosowano parametry brzegowe procesu zbliżone dla rafinacji przemysłowej, to jest podwyższoną temperaturę oraz obniżone ciśnienie. Parametry były kontrolowane podczas doświadczeń, co pozwoliło określić różnice w zastosowanych ziemiach bielących. W pierwszej kolejności sprawdzono wpływ ziemi na poziom liczby kwasowej [**Wykres 1, Publikacja 3**]. Wszystkie ziemie bielące powodowały wzrost LK w bielonych olejach. Wzrost kwasowości w olejach powodowany był hydrolizą oleju w środowisku kwaśnym w obecności niewielkiej ilości wilgoci. Kwaśne środowisko zapewniała sama ziemia bieląca, która była aktywowana kwasami mineralnymi. Zjawisko to jest powszechne w trakcie bielenia [Usman i wsp., 2012]. We wszystkich przypadkach zaobserwowano, że w trakcie odbarwiania została obniżona liczba nadtlenkowa [**Wykres 2, Publikacja 3**]. Związane jest to z faktem, że ziemie bielące aktywowane kwasami wykazują zdolności katalityczne w kierunku rozkładu nadtlenków do aldehydów i ketonów [Silva i wsp., 2014]. Potwierdzeniem tego był wzrost liczby anizydynowej w oleju kukurydzianym pofermentacyjnym po bieleniu [**Tabela 1, Publikacja 4**]. Największą redukcję liczby nadtlenkowej odnotowano, stosując ziemie Supreme 112FF i Tonsil 4120AFF, co przekładało się pośrednio na ich równie wysoką kwasowość. Badania

prorowadzone na oleju sojowym, kukurydzianym z zarodków i słonecznikowym potwierdzają redukcję zawartości nadtlenków w trakcie bielenia [Almoselhy i wsp., 2020]. Zasadniczym celem odbarwiania jest redukcja związków barwnikowych, pigmentów, wśród których znajdują się karotenoidy. Uzyskane wyniki badań potwierdzają, iż wszystkie wykorzystane ziemie bielące efektywnie obniżają zawartość karotenoidów [**Wykres 3, Publikacja 3**]. Każdy z adsorbentów wykazał się różnym stopniem adsorpcji związków barwiących, jednakże największą redukcję stwierdzono, stosując ziemię Supreme 112FF i Tonsil 4120AFF. Dotychczas poznany mechanizm redukcji ilości karotenoidów uwzględnia, że w trakcie bielenia dochodzi do uzyskania równowagi adsorpcji, przy której niemożliwa jest dalsze obniżenie ilości. Każdy rodzaj ziemi cechował się różnym maksimum adsorpcji i otrzymane wyniki badań bielenia oleju kukurydzianego pofermentacyjnego za pomocą różnych ziem bielących są tego potwierdzeniem [Ribeiro i wsp., 2018]. Analizując wyniki barwy w skali Lovibonda zaobserwowano, że proces bielenia nie wpływa istotnie na wskaźnik barwy żółtej, natomiast wskaźnik barwy czerwonej uległ obniżeniu w każdym przypadku [**Wykres 4, Publikacja 3**]. Najlepsze właściwości bielące w kontekście barwy czerwonej (R) posiadała ziemia Tonsil 4120AFF. Olej kukurydziany pofermentacyjny, ze względu na swoją intensywność barwy, pozwala porównać go z czerwonym olejem palmowym, który również prezentuje podobne cechy. Badania bielenia oleju palmowego, potwierdzają, że w trakcie bielenia widoczna jest jedynie redukcja barwy R, która jest tym większa im wyższa temperatura bielenia [Widodo & Wahyusi, 2017].

Biorąc pod uwagę pozytywny wpływ rafinacji na jakość olejów, nie można zaprzeczyć, że powoduje ona utratę pewnych ilości substancji biologicznie aktywnych. Sprawdzone, jaki był wpływ bielenia na ilość steroli roślinnych w oleju kukurydzianym pofermentacyjnym, oraz która z zastosowanych ziem bielących pozwoliła na zachowanie najwyższej ilości fitosteroli [**Tabela 2, Publikacja 3**]. Ogólna ilość tych substancji w oleju bielonym uległa redukcji średnio o 12 – 21 %. Zależność tę potwierdzają badania nad rafinacją oleju z wycieków z oliwek, gdzie w wyniku bielenia dochodzi do utraty ogólnej ilości fitosteroli na poziomie 26% [Yorulmaz, 2018]. Wśród zastosowanych ziem bielących optymalne wyniki uzyskano, stosując Tonsil 4120AFF i Supreme 112FF. Szczegółowa analiza wykazała, iż każdy adsorbent powodował znaczne obniżenie ilości głównie 5α -

avenasterolu, co miało największy wpływ na ogólną zawartość fitosteroli. Jak do tej pory nie jest znany mechanizm, w jaki sposób dochodzi do częściowej utraty lub degradacji steroli roślinnych w trakcie bielenia oleju. Prowadzone badania nad rafinacją oleju kukurydzianego z zarodków wskazują również, jak ważne jest zachowanie optymalnych warunków przeprowadzenia procesu bielenia. W testach desorpcyjnych wykazano, że fitosterole nie tylko adsorbują się na powierzchni ziemi bielącej, ale również ulegają degradacji w jej aktywnych centrach. Dużym aspektem jest obecność tlenu, będącym promotorem utleniania fitosteroli w czasie odbarwiania [Bai i wsp., 2023]. W ramach badania nad rafinacją oleju kukurydzianego pofermentacyjnego zastosowano zoptymalizowane warunki, takie jak czas 45 minut, ciśnienie 45 mbar i temperaturę 100°C, pozwalające na ograniczenie niekorzystnych reakcji utleniania i degradacji fitosteroli.

Skład kwasów tłuszczowych w oleju kukurydzianym pofermentacyjnym bielonym również był przedmiotem badań [Tabela 3, Publikacja 3]. Wyniki analizy chromatograficznej potwierdziły brak zmian w składzie kwasów tłuszczowych w badanych próbkach. Wykorzystane ziemi bielące nie powodowały zmian w profilu tłuszczowym. Udowodniono, że w trakcie bielenia nie dochodzi do powstawania szkodliwych izomerów *trans*. Ponadto badania rafinacji oleju z wiesiołka potwierdzają, że odbarwianie nie powoduje istotnych zmian w składzie kwasów tłuszczowych [Pan i wsp., 2020].

7.4. WPLYW PROCESU WINTERYZACJI NA JAKOŚĆ OLEJU KUKURYDZIANEGO POFERMENTACYJNEGO PO BIELENIU

W toku prowadzonych badań nad rafinacją oleju kukurydzianego dodatkowo przeprowadzono proces winteryzacji. Próbkę oleju po bieleniu w trakcie przechowywania w warunkach chłodniczych wykazywały zmętnienie i obecność dennych osadów. Pojawiające się zmętnienie zostało powiązane z naturalnymi woskami, będącymi mieszaniną n-alkanów, estrów, kwasów tłuszczowych i alkoholi. Wyniki analiz charakterystycznych dla olejów parametrów wykazały, że w trakcie odwoskowania dochodziło do wzrostu liczby kwasowej, będący następstwem hydrolizą triacylogliceroli [Tabela 1, Publikacja 4]. Wzrost zawartości wody w oleju powodowany był znaczną wilgotnością zastosowanego dodatku celulozowego. Usunięciu osadów towarzyszyła

również zmiana wartości liczby nadtlenkowej i anizydynowej. Wzrost liczby nadtlenkowej spowodowany był wydłużonym okresem przechowywania oleju kukurydzianego pofermentacyjnego bielonego (BPFO) pomiędzy bieleniem a winteryzacją. Natomiast analiza liczby anizydynowej wykazała istotną i korzystną zmianę jakości oleju po odwoskowaniu. Redukcja liczby anizydynowej powodowana była usunięciem substancji utlenionych wchodzących w skład frakcji o wysokiej temperaturze topnienia. Potwierdzeniem są badania wpływu winteryzacji na jakość oleju z sardynek, w których wykazano, że stosując temperaturę procesu wynoszącą 4°C uzyskano najlepsze rezultaty w obniżeniu liczby anizydynowej [Suseno i wsp., 2017].

Winteryzacja oleju kukurydzianego pofermentacyjnego nie powodowała negatywnego wpływu na zawartość fitosteroli, pozwalając na utrzymania ich wysokiej zawartości w oleju po procesie [**Tabela 3, Publikacja 4**]. Badania na oleju słonecznikowym, potwierdzają, iż odwoskowanie nie powoduje redukcji steroli roślinnych [Rhazi i wsp., 2022]. Podobne wyniki przedstawili Duman i Özcan oraz współpracownicy, wykazując częściową utratę fitosteroli na wszystkich etapach rafinacji z uwzględnieniem winteryzacji i nie zaobserwowali jej pomiędzy bieleniem a odwoskowaniem [Duman & Özcan, 2020].

Podobnie jak w przypadku bielenia nie wykazano wpływu winteryzacji na zmiany w składzie kwasów tłuszczowych [**Tabela 4, Publikacja 4**]. W trakcie odwoskowania w wyniku stosowania niskich temperatur dochodzi do częściowej utraty wielkocząsteczkowych kwasów nasyconych takich jak C22:0 lub C24:0 [Pestana i wsp., 2008]. W oleju kukurydzianym pofermentacyjnym ilość wielkocząsteczkowych nasyconych kwasów tłuszczowych była stosunkowo niska i winteryzacja nie wpłynęła na zmianę ilości kwasów tłuszczowych nasyconych.

7.5. WPLYW PROCESU DEZODORYZACJI NA JAKOŚĆ OLEJU KUKURYDZIANEGO PO FERMENTACYJNEGO PO BIELENIU I WINTERYZACJI

Badanie wstępne nad odwanianiem oleju kukurydzianego pofermentacyjnego pozwoliły na opracowanie optymalnych warunków i sposobu prowadzenia procesu, tak aby uzyskać olej o akceptowalnej jakości i cechach sensorycznych. W toku prowadzonych prac wstępnych ustalono sposób podawania pary do kolby reakcyjnej, mający ograniczyć kondensację pary i hydrolizę oleju. W efekcie opracowano schemat procesu, stosując temperaturę 180°C i ciśnienie 2-5mbar. Wyniki przeprowadzonej dezodoryzacji zostały przedstawione w **Publikacji 4**. Otrzymany dezodoryzowany olej kukurydziany pofermentacyjny (DPFO) cechował się niską wilgotnością oraz obniżoną liczbą kwasową, co było potwierdzeniem dobrze przeprowadzonego procesu odwaniania [**Tabela 1, Publikacja 4**]. W trakcie dezodoryzacji dochodziło również do skutecznego usuwania nadtlenu. Odwrotną tendencję zaobserwowano, badając liczbę anizydynową, która była wyższa od liczby anizydynowej oleju winteryzowanego [**Tabela 1, Publikacja 4**]. Prowadzone badania nad jakością oleju sojowego na różnych etapach rafinacji sugerują, że w trakcie deodoryzacji dochodzi do obniżenia liczb liczby nadtlenu i anizydynowej, jednakże nie zaprezentowano warunków, w jakich prowadzony był proces rafinacji [Atta & Al-Okaby, 2022]. Podobną tendencję w redukcji liczby nadtlenu i anizydynowej obserwowano w oleju arachidowym dezodoryzowanym w skali przemysłowej [Zhu i wsp., 2016]. Istotny wpływ na wynik liczby anizydynowej w oleju kukurydzianym miała zbyt niska i zachowawcza temperatura deodoryzacji, która w wielu przemysłowych rozwiązaniach wynosi nawet 250°C, prowadząc tym samym do usunięcia wtórnych produktów utleniania [Zarei Jelyani i wsp., 2021]. Olej kukurydziany pofermentacyjny po dezodoryzacji charakteryzował się stosunkowo wysoką stabilnością oksydacyjną, choć sama deodoryzacja nie wykazała zmiany tego parametru. Stabilność oksydacyjna zależy od rodzaju oleju, a zwłaszcza od ilości substancji przeciwutleniających, których w badanym oleju kukurydzianym było stosunkowo dużo. Dodatkowo wzrost stabilności oksydacyjnej jest ściśle powiązany z warunkami, w jakich przeprowadzane jest odwanianie. Badania z wykorzystaniem owadów białkowych i pozyskany z nich olej są potwierdzeniem, że wraz ze wzrostem temperatury w końcowym procesie rafinacji wzrasta stabilność oksydacyjna oleju [Mariod i wsp., 2012]. Ponadto przeprowadzona deodoryzacja nie spowodowała

zmiany takich parametrów, jak liczba jodowa, liczba zmydlania, gęstość czy współczynnik refrakcji [**Tabela 1, Publikacja 4**]. Potwierdzają to również badania nad rafinacją oleju bawełnianego, gdzie nie zaobserwowano zmian statystycznie istotnych w przypadku liczby jodowej i niewielkie wahania wartości liczby zmydlania [Mahesar i wsp., 2017].

W trakcie deodoryzacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego dochodzi do znacznej zmiany barwy, zwłaszcza wskaźnika barwy czerwonej oraz ilości karotenoidów [**Tabela 2, Publikacja 4**]. Widoczna różnica świadczy o termicznym rozpadzie związków odpowiedzialnych za ciemny kolor. Odwanianie nie powodowało zmiany barwy żółtej. Porównywalne wyniki uzyskano, dezodoryzując czerwony olej palmowy. Wówczas w czasie rafinacji dochodziło do niewielkiej zmiany wskaźnika barwy żółtej, przy jednoczesnej znacznej redukcji wskaźnika barwy czerwonej. Wraz ze wzrostem temperatury deodoryzacji (powyżej 230°C) możliwe by było obniżenie wartości wskaźnika barwy żółtej, jednakże wiązałyby się to ze wzrostem/powstaniem 2-MPCD, 3-MPCD i estrów glicydów, czego należało uniknąć [Tivanello i wsp., 2020].

Prowadzenie odwaniania w niskiej temperaturze podyktowane było zachowaniem w oleju możliwie wysokiej ilości substancji bioaktywnych, ze szczególnym uwzględnieniem steroli roślinnych. Wyniki analizy potwierdzają, iż zastosowane parametry procesowe i sposób przeprowadzonych doświadczeń pozwalają na zachowanie możliwie wysokiego stężenia tych substancji [**Tabela 3, Publikacja 4**]. W trakcie odwaniania nie zaobserwowano zmiany w zawartości fitosteroli, a ich ogólna ilość pozostała na poziomie 930 mg/100g. Rafinacja to cykl występujących po sobie procesów jednostkowych, z których każdy miał wpływ na ilość substancji biologicznie aktywnych pozostałych w oleju. Jednakże dobrane optymalne warunki rafinacji pozwoliły ograniczyć negatywny wpływ procesu na ilość steroli w oleju kukurydzianym pofermentacyjnym. Aktualne badania potwierdzają, że wysokotemperaturowa deodoryzacja powoduje redukcję fitosteroli. Rozwiązaniem problemu mogłoby być wykorzystanie azotu jako czynnika wspomagającego odparowanie lotnych substancji z oleju lub szeroko zakrojone badania nad optymalizacją procesu [Yu i wsp., 2023].

Skład kwasów tłuszczowych był analizowany w badanym oleju kukurydzianym pofermentacyjny na każdym etapie rafinacji. Wyniki pozwoliły potwierdzić, że

deodoryzacja w warunkach, jakich została przeprowadzona w laboratorium, nie powoduje istotnych zmian w składzie oleju w stosunku do oleju przed dezodoryzacją [**Tabela 4, Publikacja 4**]. Zastosowana niska temperatura deodoryzacji nie powodowała powstawania szkodliwych izomerów trans.

Przeprowadzono ocenę sensoryczną otrzymanego w wyniku rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego [**Wykres 1, Publikacja 4**]. Olej cechował się bardzo dobrą klarownością i dobrym zapachem. W dalszym ciągu otrzymany produkt posiadał intensywną barwę, ale jaśniejszą niż olej przed dezodoryzacją. Ostatnim ocenianym parametrem była smakowitość. Zespół dokonujący analizy sensorycznej niezależnie potwierdził, iż smak oleju był akceptowalny i zdecydowanie uległ poprawie w wyniku deodoryzacji. Olej kukurydziany pofermentacyjny jest zbliżony pod kątem wyglądu i niektórych cech do czerwonego oleju palmowego. Badania prowadzone z wykorzystaniem rafinowanego czerwonego oleju palmowego wykazały, że wraz ze wzrostem temperatury deodoryzacji do 150 °C wzrasta smakowitość majonezu sporządzona na bazie tego oleju [Ayu i wsp., 2023].

7.6. OCENA JAKOŚCI ŻYWIENIOWEJ OLEJU KUKURYDZIANEGO POFERMENTACYJNEGO RAFINOWANEGO

Przeprowadzenie całego procesu rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego pozwoliło otrzymać produkt o specyficznych właściwościach fizykochemicznych opisanych w niniejszej pracy i **Publikacji 4**. Jednakże każdy olej bez względu na pochodzenie materiału wejściowego i w zależności od sposobu rafinacji może wykazywać odmienne cechy jakościowe. Proponowany w pracy doktorskiej sposób rafinacji był dostosowany i zoptymalizowany pod kątem zachowania wysokiej zawartości substancji prozdrowotnych. W celu zweryfikowania jakości otrzymanego produktu porównano podstawowe parametry z parametrami, jakimi cechują się oleje kukurydziane komercyjne dostępne w handlu.

7.6.1. Badania porównawcze

Do badań porównawczych wykorzystano oleje kukurydziane rafinowane i tłoczone pochodzące z zarodków. Wyniki badań zostały przedstawione w **Publikacji 4**. Wszystkie oleje komercyjne wykazywały wyższą wilgotność niż badany olej kukurydziany pofermentacyjny [**Tabela 1, Publikacja 4**]. Niska wilgotność świadczy o prawidłowym sposobie rafinacji. Dodatkowo ogranicza jełczenie oleju wywoływane procesem hydrolizy [Darko, 2014]. Zaobserwowano w olejach kukurydzianych znaczne różnice w liczbie kwasowej. Oleje tłoczone cechowały się wyższą LK niż oleje rafinowane i badany olej pofermentacyjny. Różnice w liczbie kwasowej powodowane są sposobem rafinacji, w tym dezodoryzacji, w której za sprawą wysokiej temperatury kwasy tłuszczowe są oddestylowywane. Podobnie jak wilgotność, niska LK przyczynia się do wydłużenia świeżości oleju. Kolejnymi parametrami określającymi jakość oleju była liczba nadtlenkowa i anizydynowa [**Tabela 1, Publikacja 4**]. W badaniach porównawczych wykazano, że olej kukurydziany pofermentacyjny posiadał najniższą liczbę nadtlenną w stosunku do olejów zarodkowych rafinowanych i tłoczonych. Nie mniej jednak na ten parametr z pewnością negatywnie wpływa wydłużony czas przechowywania, powodując niekorzystne zmiany w jakości olejów. Analizując poziom liczby anizydynowej, zaobserwowano dużą rozbieżność w wynikach wszystkich badanych olejów. W olejach tłoczonych i rafinowanych wykazano znaczny poziom liczby anizydynowej wraz z badanym olejem kukurydzianym pofermentacyjnym. Stabilność oksydacyjna również była mocno zróżnicowana. Oleje tłoczone cechowały się dużo niższą stabilnością niż oleje rafinowane, z uwzględnieniem oleju pofermentacyjnego. Wśród rafinowanych olejów tylko jeden (ROL) odznaczał się wyższą stabilnością oksydacyjną niż otrzymany w wyniku rafinacji olej kukurydziany pofermentacyjny.

Rafinowany olej kukurydziany pofermentacyjny cechował się niewiele wyższą liczbą jodową i zawartością substancji niezmydlających oraz niższą liczbą zmydlenia niż badane oleje zarodkowe [**Tabela 1, Publikacja 4**]. Prawdopodobne różnice wynikały ze sposobu pozyskiwania oleju. Olej kukurydziany pofermentacyjny odseparowywany był z wywarów pogorzelnicznych po procesie fermentacji skrobi kukurydzianej i destylacji etanolu. W trakcie tych procesów dochodzi do wielu zmian, mających wpływ na jakość materiału

badawczego. Dodatkowo obecność etanolu sprzyjała ekstrakcji związków polarnych. Tłumaczy to między innymi podwyższoną ilość substancji niezmydlających, która wynikała z właściwości tego rozpuszczalnika. [Sbihi i wsp., 2018]. Badania porównawcze wśród olejów nie wykazały różnic w gęstości i współczynniku refrakcji [**Tabela 1, Publikacja 4**].

Wszystkie oleje zostały zanalizowane pod kątem zawartości karotenoidów i barwy w skali Lovibonda [**Tabela 2, Publikacja 4**]. Otrzymany rafinowany olej kukurydziany pofermentacyjny cechował się wyższą zawartością karotenoidów w stosunku do olejów zarodkowych rafinowanych, ale porównywalną do olejów tłoczonych. Wyższa zawartość karotenoidów wpływała na ostateczną barwę oleju, skutkując podwyższonym wskaźnikiem barwy czerwonej i żółtej. Oleje zarodkowe rafinowane mimo wszystko cechowały się niższymi wartościami barwy czerwonej.

Zawartość fitosteroli również była istotnym elementem badań [**Tabela 3, Publikacja 4**]. Zaobserwowano znaczne różnice ilości tego składnika pomiędzy olejem kukurydzianym pofermentacyjnym a pozostałymi olejami zarodkowymi. Suma wszystkich analizowanych steroli w badanym oleju pofermentacyjnym była wyższa w stosunku do olejów zarodkowych rafinowanych. Tylko jeden z olejów tłoczonych (POO2) charakteryzował się zbliżoną wartością tego składnika do DPFO. Największą różnicę zaobserwowano przy 5σ -avensterolu, który znajdował się w oleju pofermentacyjnym w największym stężeniu i znacznie wyższym niż we wszystkich olejach komercyjnych. Otrzymane wyniki pozwalają zatem stwierdzić, że opracowaną metodą technologii zachowawczej uzyskany rafinowany olej kukurydziany odznaczał się podwyższoną zawartością steroli w stosunku do komercyjnie dostępnych rafinowanych olejów kukurydzianych otrzymanych z surowca tradycyjnego [**H 2**].

Skład kwasów tłuszczowych był zbliżony w każdym badanym oleju i nie zaobserwowano różnic [**Tabela 4, Publikacja 4**]. W żadnym z badanych olejów nie stwierdzono obecności szkodliwych izomerów trans. Olej kukurydziany pofermentacyjny (DPFO) posiadał istotnie wyższą zawartość kwasu linolowego (C18:3n3), w porównaniu do każdego oleju zarodkowego.

Badania porównawcze zakończono analizą sensoryczną [Wykres 1, Publikacja 4]. Wykonana ocena sensoryczna oleju wykazała brak różnic w klarowności. Oleje zarodkowe rafinowane pod kątem barwy zostały ocenione wyżej niż oleje tłoczone i olej kukurydziany pofermentacyjny. Natomiast zapachy olejów zarodkowych rafinowanych i oleju kukurydzianego pofermentacyjnego były do siebie zbliżone, a tylko jeden olej tłoczony (POO2) cechował się intensywniejszym zapachem. Smakowitość jako ostatnia cecha analizy sensorycznej pokazała, że wszystkie oleje kukurydziane, w tym badany pofermentacyjny, odznaczały się dobrą smakowitością.

7.6.2. Ocena jakości oleju kukurydzianego pofermentacyjnego zgodnie z wymaganiami Standardu Codex Alimentarius

Kończącym elementem rozprawy doktorskiej była ocena jakości otrzymanego rafinowanego oleju pofermentacyjnego w kontekście wymagań stawianych olejom spożywczym. Do weryfikacji jakości wykorzystano międzynarodowy Standard Codex Alimentarius, wydany przez International Food Standards. Olej kukurydziany pofermentacyjny, który został rafinowany w sposób pozwalający na zachowanie wysokiej ilości substancji biologicznie aktywnych, spełnia wymagania jakościowe uwzględnione w powyższym Standardzie. Podstawowe parametry pozwalające na ocenę jakości oleju zamieszczono w Tabeli 1, Tabeli 3 i Tabeli 4, [Publikacja 4]. Pozytywna ocena jakości oraz badania porównawcze są podstawą stwierdzenia, że za pomocą dostosowanych istniejących metod rafinacji możliwe było uzyskanie oleju kukurydzianego rafinowanego jakości spożywczej, pochodzącego z frakcji tłuszczowej wydzielonej z wywarów pogorzelnicznych [H1].

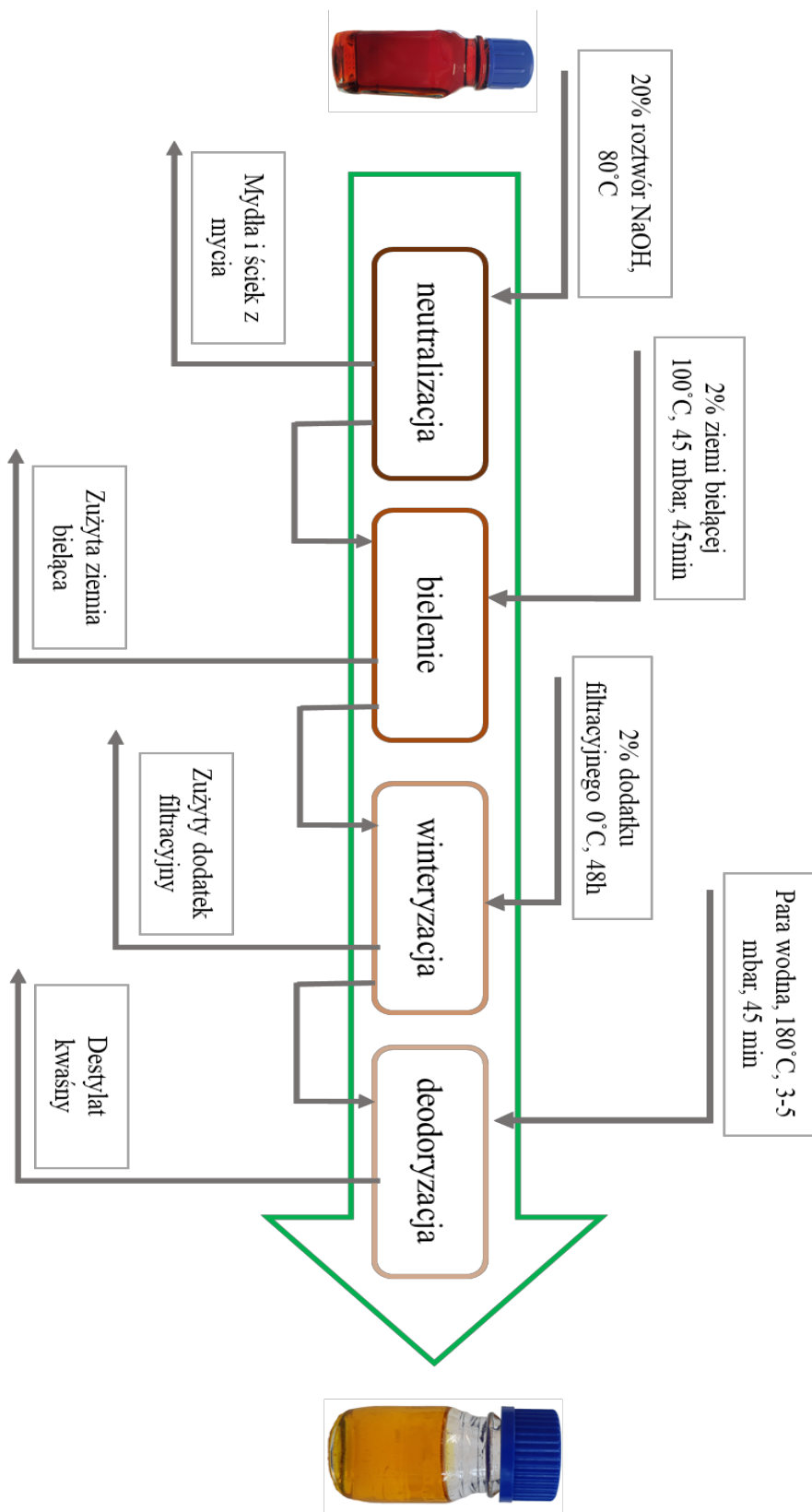
Należy jednak zwrócić uwagę, że standard w definicji uwzględnia olej kukurydziany jako produkt pochodzący z zarodków kukurydzianych, biorąc jedynie pod uwagę fakt, że ponad 80% tłuszczu zlokalizowana jest właśnie w zarodku. Standard natomiast nie definiuje sposobu otrzymywania oleju, który dla oleju pofermentacyjnego jest inny niż dla tradycyjnych olejów kukurydzianych.

8. STWIERDZENIA I WNIOSKI

Przeprowadzone badania pozwoliły na ustalenie optymalnego schematu rafinacji, pozwalającego na otrzymanie oleju rafinowanego z ubocznego produktu pofermentacyjnego [**Rysunek 18**]. Z każdym etapem rafinacji obserwowano znaczną poprawę jakości oleju pofermentacyjnego, która również była widoczna w postaci zmiany zabarwienia na coraz jaśniejszą [**Rysunek 19**].

Niniejsza praca miała na celu sprawdzenie możliwości otrzymania produktu spełniającego wymagania jakościowe stawiane olejom spożywczym z pofermentacyjnego oleju kukurydzianego według opracowanej technologii zachowawczej. Do osiągnięcia celu postawiono dwie hipotezy badawcze, które w wyniku zaplanowanych prac i zadań w obrębie sformułowanego zakresu zostały potwierdzone.

- Za pomocą dostosowanych metod rafinacji możliwe jest uzyskanie rafinowanego oleju kukurydzianego jakości spożywczej, pochodzącego z frakcji tłuszczowej wydzielonej z wywarów pogorzelnicznych [**Hipoteza 1**]. Potwierdzeniem tego były wykonane badania porównawcze oraz weryfikacja i potwierdzenie parametrów określonych w standardzie Codex Alimentarius.
- Opracowany i nowy sposób rafinacji pozwala otrzymać olej kukurydziany pofermentacyjny o wyższej zawartości fitosterolu w stosunku do komercyjnie dostępnych rafinowanych olejów kukurydzianych otrzymanych z surowca tradycyjnego [**Hipoteza 2**].



Rysunek 18. Uproszczony schemat rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego.



Rysunek 19. Wpływ rafinacji na zmianę barwy oleju kukurydzianego pofermentacyjnego. 1- olej przed rafinacją; 2- olej po neutralizacji; 3- olej po bieleniu; 4- olej po winteryzacji; 5- olej po dezodoryzacji.

Na podstawie przeprowadzonych i omówionych badań zawartych w cyklu czterech artykułów naukowych sformułowano dodatkowo następujące wnioski:

- Olej kukurydziany pofermentacyjny posiada specyficzną jakość różniącą go od olejów zarodkowych.
- Olej kukurydziany pofermentacyjny po neutralizacji cechuje się obniżoną zawartością wolnych kwasów tłuszczowych, fosfolipidów, karotenoidów i względnie wysoką zawartością fitosteroli.
- Neutralizacja za pomocą roztworu wodorotlenku sodu pozwala otrzymać olej z lepszym wskaźnikiem DOBI.
- Olej kukurydziany pofermentacyjny po bieleniu cechuje się obniżoną zawartością substancji barwiących, co obserwuje się po wskazaniach barwy czerwonej.
- Otrzymany olej cechuje się niższą ogólną zawartością fitosteroli, w stosunku do oleju surowego, ale wyższą niż oleje rafinowane pochodzące z zarodków.
- Zastosowanie procesu winteryzacji poprawia jakość oleju, usuwając osady tworzące się w niższych temperaturach oraz w dłuższym okresie przechowywania.
- Oleju kukurydziany pofermentacyjny po deodoryzacji cechuje się akceptowalną oceną sensoryczną, niższą liczbą kwasową i nadtlenkową.

- Deodoryzacja nie wpływa istotnie zmianę zawartości fitosteroli w oleju pofermentacyjnym. Zastosowanie niższej temperatury dezodoryzacji pozwala ograniczyć redukcję steroli roślinnych w olejach rafinowanych.
- Otrzymany produkt rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego spełnia wymagania międzynarodowego Standardu Codex Alimentarius.
- Otrzymany produkt rafinacji oleju kukurydzianego pofermentacyjnego posiada zbliżone parametry jakościowe do zarodkowych olejów kukurydzianych.
- Otrzymane wyniki i zakres prac jest wstępem do dalszych badań nad jakością oleju kukurydzianego rafinowanego.
- Laboratoryjny sposób prowadzonej rafinacji i jakość otrzymanego oleju dają potencjalną szansę na powodzenie w rafinacji wielkotonażowej.

9. SPIS LITERATURY

1. Afoakwa, E. O., Kongor, J. E., Takrama, J., & Budu, A. S. (2013). Changes in nib acidification and biochemical composition during fermentation of pulp pre-conditioned cocoa (*Theobroma cacao*) beans. *International Food Research Journal* 20(4): 1843-1853.
2. Aliyar-Zanjani, N., Piravi-Vanak, Z., & Ghavami, M. (2019). Study on the effect of activated carbon with bleaching earth on the reduction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bleached soybean oil. *Grasas y Aceites*, 70(2), e304-e304.
3. Bozoglan, E., & Hepbasli, A. (2010). Performance improvements for olive oil refining plants. *International journal of energy research*, 34(6), 476-493.
3. Almoselhy, R., M., Eid, M., Abd-Elmageed, S. M., & Youness, R. (2020). Using nanotechnology in bleaching vegetable oils. *Egyptian Journal of Chemistry*, 63(7), 2699-2706.
4. An, H., Ma, Y., Wang, X., & Zheng, Y. (2022). Effects of deodorization on the formation of processing contaminants and chemical quality of sunflower oil. *Journal of Oleo Science*, 71(7), 975-984.
5. Andryushina, V. A., Stytsenko, T. S., Karpova, N. V., Yaderets, V. V., & Dzhavakhiya, V. V. (2020). Preparation of Plant and Animal Sterol Ethers and Esters as Key Intermediates for the Synthesis of Dehydroepiandrosterone. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 53, 1086-1089.
6. Atta, N. M., & Al-Okaby, M. F. (2022). Study to solve the problem of color reversion in refined soybean oil. *Food and Nutrition Sciences*, 13(3), 224-237.
7. Avelar, M. H., Cassimiro, D. M., Santos, K. C., Domingues, R. C., de Castro, H. F., & Mendes, A. A. (2013). Hydrolysis of vegetable oils catalyzed by lipase extract powder from dormant castor bean seeds. *Industrial Crops and Products*, 44, 452-458.
8. Ayu, D. F., Pratama, J. P., Johan, V. S., Dewi, Y. K., & Hamzah, F. H. (2023). Effect of deodorization temperature on the making of red palm oil mayonnaise as tropical plantation products. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1241,1, 012077. IOP Publishing.
9. Bachmann, S. A. L., Valle, R. D. C. S. C., Vegini, A. A., & Tavares, L. B. B. (2020). Determination of optimum conditions for thermal regeneration and characterization of a spent bleaching earth. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(2), 103503.
10. Bai, G., Ma, C. G., Chen, X. W., Jing, L. L., & Yan, Y. P. (2022). Molecular insights into the loss of phytosterols during the neutralisation of corn oil. *LWT – Food Science and Technology*, 154, 112767.
11. Bai, G., Ma, C. G., Hu, Y. Y., Guo, S. J., & Wang, T. (2023). Chemical conversions of free phytosterols during the bleaching of corn oil. *Food Chemistry*, 412, 135512.

12. Bai, G., Ma, C., & Chen, X. (2021). Phytosterols in edible oil: Distribution, analysis and variation during processing. *Grain & Oil Science and Technology*, 4(1), 33-44.
13. Baptiste, B. M. J., Daniele, B. K., Charlène, E. M., Canuala, T. T. L., Antoine, E., & Richard, K. (2020). Adsorption mechanisms of pigments and free fatty acids in the discoloration of shea butter and palm oil by an acid-activated Cameroonian smectite. *Scientific African*, 9, e00498.
14. Barrera-Arellano, D., Badan-Ribeiro, A. P., & Serna-Saldivar, S. O. (2019). Corn oil: composition, processing, and utilization. In *Corn Chemistry and Technology (Third Edition)*, AACC International Press, 593-613.
15. Berski, W., & De Greyt, W. (2001). Wpływ rafinacji fizycznej na skład oleju kukurydzianego. *Żywność: Nauka. Technologia. Jakość*, (1 (26)), 47-57.
16. Bhosle, B. M., & Subramanian, R. (2005). New approaches in deacidification of edible oils—a review. *Journal of Food Engineering*, 69(4), 481-494.
17. Brooks, D. D., Berbesi, R., & Hodgson, A. S. (2019). Optimization of bleaching process. AOCs lipid library.
18. Campbell, O. E., & Padilla-Zakour, O. I. (2013). Phenolic and carotenoid composition of canned peaches (*Prunus persica*) and apricots (*Prunus armeniaca*) as affected by variety and peeling. *Food Research International*, 54(1), 448–455.
19. Carvalho, L. M. J. de, Smiderle, L. de A. S. M., Carvalho, J. L. V. de, Cardoso, F. de S. N., Koblitz, M. G. B. (2014). Assessment of carotenoids in pumpkins after different home cooking conditions. *Food Science and Technology (Campinas)*, 34(2), 365–370.
20. Chew, E. Y., Clemons, T. E., SanGiovanni, J. P., Danis, R. P., Ferris, F. L., Elman, M. J., ... & Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) Research Group. (2014). Secondary analyses of the effects of lutein/zeaxanthin on age-related macular degeneration progression: AREDS2 report No. 3. *JAMA Ophthalmology*, 132(2), 142-149.
21. Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4), 169-186.
22. Chumsantea, S., Aryusuk, K., Lilitchan, S., Jeyashoke, N., & Krisnangkura, K. (2012). Reducing oil losses in alkali refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89, 1913-1919.
23. Chung, T. W., Wu, Y. L., & Hsu, S. H. (2018, May). Removal of free fatty acid from plant oil by the adsorption process. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 362, No. 1, p. 012019). IOP Publishing.
24. Cleenewerck, B., & Dijkstra, A. J. (1992). The total degumming process—theory and industrial application in refining and hydrogenation. *Lipid/Fett*, 94(8), 317-322.
25. Codex Standard (2022). Codex Alimentarius International Food Standards. Standard for named vegetable oils. CODEX STAN 210-1999. Amendment 2022.

26. Czechowska-Liszka, M. (2003). Badanie i ocena jakości dostępnych na rynku olejów jadalnych. *Zeszyty Naukowe/Akademia Ekonomiczna w Krakowie*, (623), 55-62.
27. Darko, J. O. (2014). Quality assessment of moisture content, free fatty acids and acid value of coconut oil produced in the Jomoro District of the Western Region of Ghana. *Journal of Research in Agriculture*, 3,1, 205-210.
28. De, B. K., Patel, J. D., Patel, J. B., Patel, V. K., & Patel, V. R. (2009). Bleaching of mustard oil with some alternative bleaching agents and acid activated clay. *Journal of Oleo Science*, 58(2), 57-63.
29. Deboni, T. M., Batista, E. A., & Meirelles, A. J. (2015). Equilibrium, kinetics, and thermodynamics of soybean oil deacidification using a strong anion exchange resin. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 54(44), 11167-11179.
30. Deboni, T. M., Cuevas, M. S., Neto, P. M., Mota, R. V., Damasceno, F. S., da Silva, L. H. M., Rodrigues Ch. E.C & Meirelles, A. J. (2013). Deacidification of soybean oil by ion exchange. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 3335-3344.
31. Demonty, I., Ras, R. T., van der Knaap, H. C., Meijer, L., Zock, P. L., Geleijnse, J. M., & Trautwein, E. A. (2013). The effect of plant sterols on serum triglyceride concentrations is dependent on baseline concentrations: a pooled analysis of 12 randomised controlled trials. *European Journal of Nutrition*, 52, 153-160.
32. Di Lena, G., Ondrejčíková, P., Pulgar, J. S. D., Cyprichová, V., Ježovič, T., Lucarini, M., Lombardi Boccia G., Ferrari Nicoli S., Gabrielli P., Aguzzi A., Casini I., & Caproni, R. (2020). Towards a valorization of corn bioethanol side streams: Chemical characterization of post fermentation corn oil and thin stillage. *Molecules*, 25(15), 3549.
33. Dijkstra, A. J. (2012). Neutral Oil Loss During Alkali Refining. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(1), 175-177.
34. Dijkstra, A.J. (2013). Edible Oil Processing from a Patent Perspective. *Springer*, Boston, MA.
35. Divya, P., Puthusseri, B., & Neelwarne, B. (2012). Carotenoid content, its stability during drying and the antioxidant activity of commercial coriander (*Coriandrum sativum* L.) varieties. *Food Research International*, 45(1), 342–350.
36. Dorsa, R., & Eickhoff, K. P. (2001). Basics of alkali refining of vegetable oils. Conference presentation of GEA Westfalia Separator Food Tec GmbH On fats, oils and oilseed analysis and production, 1-28.
37. Duman, E., & Özcan, M. M. (2020). The influence of industrial refining stages on the physico-chemical properties, fatty acid composition and sterol contents in hazelnut oil. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 2501-2506.
38. Durmaz, G., & Gökmen, V. (2019). Effect of refining on bioactive composition and oxidative stability of hazelnut oil. *Food Research International*, 116, 586-591.

39. Dymińska, L., Albegar, A. M. M., Zając, A., Czuj, T., Sasiadek, W., Lorenc, J., & Hanuza, J. (2021). Applying additivity rule to determine physico-chemical properties of edible oil blends based on known parameters of component oils. *ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość*, 28(1), 126, 133-149.
40. Engelmann, J. I., Ramos, L. P., Crexi, V. T., & Morais, M. M. (2017). Degumming and neutralization of rice bran oil. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12362.
41. Esmata A.Y., Hassana R.E., Abo-ElWafab G.A., Abou-ElSoudb M.M., Megahed M.G., 2018, Physicochemical characteristics and oxidative stability of Egyptian corn germ oil produced by aqueous enzymatic extraction. *GRASAS Y ACEITES*, 69, 4.
42. Fang, L., Wang, T., & Lamsal, B. (2015). Synergistic effect of surfactants and silica nanoparticles on oil recovery from condensed corn distillers solubles (CCDS). *Industrial Crops and Products*, 77, 553-559.
43. Fang, L., Wang, T., & Lamsal, B. (2018). Use of surfactant and enzymes in dry-grind corn ethanol fermentation improves yield of ethanol and distillers corn oil. *Industrial Crops and Products*, 111, 329-335.
44. Farhoosh, R., Einafshar, S., & Sharayei, P. (2009). The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. *Food Chemistry*, 115(3), 933-938.
45. Flakelar C.L., Adjonu R., Doran G., Howitt J.A., Lockett D.J., Prenzler P.D. (2022) Phytosterol, tocopherol and carotenoid retention during commercial processing of brassica napus (canola) oil, *Processes*, 10, 580.
46. Fontanel, D. (2013). Unsaponifiable matter in plant seed oils. New York, NY, USA: Springer, 1-366.
47. Fornasero, M. L., Marenchino, R. N., & Pagliero, C. L. (2013). Deacidification of soybean oil combining solvent extraction and membrane technology. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2013.
48. Gharby, S. (2022). Refining vegetable oils: Chemical and physical refining. *The Scientific World Journal*, 2022, Article ID 6627013.
49. Ghazani, S. M., García-Llatas, G., & Marangoni, A. G. (2013). Minor constituents in canola oil processed by traditional and minimal refining methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90, 743-756.
50. Gomes de Oliveira, C., & Porto, L. M. (2005). A kinetic model for bleaching vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82, 537-542.
51. Gryszczyńska, A., Gryszczyńska, B., & Opala, B. (2011). Karotenoidy. Naturalne źródła, biosynteza, wpływ na organizm ludzki. *Postępy Fitoterapii* 2,2011.
52. Gupta, M. (2017). Practical guide to vegetable oil processing. 2nd Edition, AOCS Press, Elsevier Inc.
53. Hadiyah, F., Rainaldi, A. M., Sari, M. I. M., Rico, M., Kusumawardani, D. S., Gayatri, R., Agustina, T. E., Arita, S., & Sari, T. I. (2022). Deacidification of

- palm oil mill effluent using anion exchange resin. *Materials Today: Proceedings*, 63, S50-S54.
54. Hrastar, R., Cheong, L. Z., Xu, X., Miller, R. L., & Košir, I. J. (2011). Camelina sativa oil deodorization: balance between free fatty acids and color reduction and isomerized byproducts formation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 581-588.
 55. Hu, W., Zhang, L., Li, P., Wang, X., Zhang, Q., Xu, B., Sun X., Ma F., & Ding, X. (2014). Characterization of volatile components in four vegetable oils by headspace two-dimensional comprehensive chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Talanta*, 129, 629-635.
 56. Huda, M. S., Nahar, N., Monono, E., & Regmi, S. (2021). Oil recovery from fractionated dried distillers grains with solubles (DDGS) using enzymes. *Processes*, 9(9), 1507.
 57. Igielska-Kalwat, J., Gościańska, J., & Nowak, I. (2015). Karotenoidy jako naturalne antyoksydanty. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 69, 418-428.
 58. Jamal, Y., Luo, G., Kuo, C. H., Rabie, A., & Boulanger, B. O. (2014). Sorption Kinetics, Thermodynamics and Regeneration for Lipid Feedstock Deacidification Using a Mixed-Bed Ion-Exchange Resin. *Journal of Food Process Engineering*, 37(1), 27-36.
 59. Japir, A. A. W., Salimon, J., Derawi, D., Bahadi, M., & Yusop, M. R. (2016, November). Separation of free fatty acids from high free fatty acid crude palm oil using short-path distillation. *In AIP Conference Proceedings* (Vol. 1784, No. 1). AIP Publishing.
 60. Jeleń, H. H., Obuchowska, M., Zawirska-Wojtasiak, R., & Wasowicz, E. (2000). Headspace solid-phase microextraction use for the characterization of volatile compounds in vegetable oils of different sensory quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2360-2367.
 61. Johra, F. T., Bepari, A. K., Bristy, A. T., & Reza, H. M. (2020). A mechanistic review of β -carotene, lutein, and zeaxanthin in eye health and disease. *Antioxidants*, 9(11), 1046.
 62. Kang, B., Liu, Y., Yang, R., & Liang, S. (2023). Composition and physicochemical properties of corn wax. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 100(10), 783-790.
 63. Kerr, B. J., Dozier III, W. A., & Shurson, G. C. (2016). Lipid digestibility and energy content of distillers' corn oil in swine and poultry. *Journal of Animal Science*, 94(7), 2900-2908.
 64. Kljak, K., & Grbeša, D. (2015). Carotenoid content and antioxidant activity of hexane extracts from selected Croatian corn hybrids. *Food Chemistry*, 167, 402-408.
 65. Kohl S., Gallop Ch. C., Dieker K.A. (2015). Suspended solids separation systems and methods (U.S. Patent No 8,986,551 B2).

66. Kreps, F., Kyselka, J., Burčová, Z., Schmidt, Š., Rajchl, A., Filip, V., Ház, A., Jablonský, M., Sládková, A., & Šurina, I. (2017). Influence of deodorization temperature on formation of tocopherol esters and fatty acids polymers in vegetable oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(3), 1600027.
67. Kreps, F., Vrbíková, L., & Schmidt, Š. (2014). Influence of industrial physical refining on tocopherol, chlorophyll and beta-carotene content in sunflower and rapeseed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(11), 1572-1582.
68. Kucharska, M. (2019). Barwniki fotosyntetyczne i ich zastosowanie. *Tutoring Gedanensis*, 4(2), 41-44.
69. Kuleasan, S., & Tekin, A. (2008). Alkaline neutralization of crude soybean oil by various adsorbents. *European journal of lipid science and technology*, 110(3), 261-265.
70. Leibovitz, Z., & Ruckenstein, C. (1983). Our experiences in processing maize (corn) germ oil. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 85(S1 S1), 538-543.
71. Liu, R., Guo, X., Cheng, M., Zheng, L., Gong, M., Chang, M., Jin, Q., & Wang, X. (2019). Effects of chemical refinement on the quality of coconut oil. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 3109-3116.
72. Liu, X., Zhou, S., Jiang, Y., & Xu, X. (2020). Optimization of deodorization design for four different kinds of vegetable oil in industrial trial to reduce thermal deterioration of product. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 98(4), 475-483.
73. Luangthongkam, P., Fang, L., Noomhorm, A., & Lamsal, B. (2015). Addition of cellulolytic enzymes and phytase for improving ethanol fermentation performance and oil recovery in corn dry grind process. *Industrial Crops and Products*, 77, 803-808.
74. Luo, H., Xue, K., Fan, W., Li, C., Nan, G., & Li, Z. (2014). Hydrolysis of vegetable oils to fatty acids using Brønsted acidic ionic liquids as catalysts. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 53(29), 11653-11658.
75. Ma, Y., Shi, L., Liu, Y., & Lu, Q. (2017). Effects of neutralization, decoloration, and deodorization on polycyclic aromatic hydrocarbons during laboratory-scale oil refining process. *Journal of Chemistry*, 2017.
76. Mahesar, S. A., Shah, S. N., Shirazi, S. T. H., & Nizamani, S. M. (2017). Outcome of refining on the physicochemical properties of cottonseed oil. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 18(2), 105-111.
77. Majoni, S., Wang, T., & Johnson, L. A. (2011). Physical and chemical processes to enhance oil recovery from condensed corn distillers solubles. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 425-434.
78. Marcinkowski, D., Czwartkowski, K., Bochniak, M., Wereńska, M., & Krzaczek, P. (2022). Reuse of Bleaching Earth: The green solution for rapeseed oil producers. *Sustainability*, 14(20), 13071.

79. Mariod, A., Matthäus, B., Eichner, K., & Hussein, I. H. (2012). Effects of deodorization on the quality and stability of three unconventional Sudanese oils. *GIDA*, 37 (4): 189-196.
80. Martínez-Valdivieso, D., Font, R., Blanco-Díaz, M. T., Moreno-Rojas, J. M., Gómez, P., Alonso-Moraga, Á., & Del Río-Celestino, M. (2014). Application of near-infrared reflectance spectroscopy for predicting carotenoid content in summer squash fruit. *Computers and electronics in agriculture*, 108, 71-79.
81. Maurer, M. M., Mein, J. R., Chaudhuri, S. K., & Constant, H. L. (2014). An improved UHPLC-UV method for separation and quantification of carotenoids in vegetable crops. *Food Chemistry*, 165, 475–482.
82. Mezouari, S., Kochhar, S. P., Schwarz, K., & Eichner, K. (2006). Effect of dewaxing pretreatment on composition and stability of rice bran oil: Potential antioxidant activity of wax fraction. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(8), 679-686.
83. Mohsen, S. M., & Ammar, A. S. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food chemistry*, 112(3), 595-598.
84. Moreau, R. A., Hicks, K. B., Johnston, D. B., & Laun, N. P. (2010). The composition of crude corn oil recovered after fermentation via centrifugation from a commercial dry grind ethanol process. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 895-902.
85. Moreau, R. A., Johnston, D. B., Hicks, K. B., & Haas, M. J. (2014). Aqueous extraction of corn oil after fermentation in the dry grind ethanol process. In *Green vegetable oil processing, Revised First Edition*,. 53-72. *AOCS Press*.
86. Moreau, R. A., Lampi, A. M., & Hicks, K. B. (2009). Fatty acid, phytosterol, and polyamine conjugate profiles of edible oils extracted from corn germ, corn fiber, and corn kernels. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(12), 1209-1214.
87. Mukutuma, A., Schwarz, N., & Feather, A. (2008). Operation of a Flottweg Tricanter® Centrifuge for Crud Treatment at Bwana Mkubwa Solvent Extraction Plant. In *Proceedings of the International Solvent Extraction Conference*.
88. Nedić Grujin, K., Lužaić, T., Pezo, L., Nikolovski, B., Maksimović, Z., & Romanić, R. (2023). Sunflower Oil Winterization Using the Cellulose-Based Filtration Aid—Investigation of Oil Quality during Industrial Filtration Probe. *Foods*, 12(12), 2291.
89. Nokkaew, R., Punsuvon, V., Inagaki, T., & Tsuchikawa, S. (2019). Determination of carotenoids and dobi content in crude palm oil by spectroscopy techniques: Comparison of raman and ft-nir spectroscopy. *GEOMATE Journal*, 16(55), 92-98.
90. Oliveira, M. D. C. T., & Rosentrater, K. A. (2020). An environmental and economic analysis of flocculation technology applied to a corn-based ethanol plant. *Processes*, 8(3), 271.
91. Ostlund Jr, R. E., Racette, S. B., Okeke, A., & Stenson, W. F. (2002). Phytosterols that are naturally present in commercial corn oil significantly reduce

- cholesterol absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 75(6), 1000-1004.
92. Pan, F., Li, Y., Luo, X., Wang, X., Wang, C., Wen, B., Guan, X., Xu, Y., & Liu, B. (2020). Effect of the chemical refining process on composition and oxidative stability of evening primrose oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), e14800.
 93. Paradiso, V. M., Gomes, T., Nasti, R., Caponio, F., & Summo, C. (2010). Effects of free fatty acids on the oxidative processes in purified olive oil. *Food Research International*, 43(5), 1389-1394
 - Anderson, D. (2005). A primer on oils processing technology. *Bailey's industrial oil and fat products, Sixth Edition, Six Volume Set. John Wiley & Sons, Inc.* 5, 1-56.
 94. Pestana, V. R., Zambiasi, R. C., Mendonça, C. R., Bruscatto, M. H., Lermagarcía, M. J., & Ramis-Ramos, G. (2008). Quality changes and tocopherols and γ -orizanol concentrations in rice bran oil during the refining process. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(11), 1013-1019.
 95. Plat, J., & Mensink, R. P. (2009). Plant stanol esters lower serum triacylglycerol concentrations via a reduced hepatic VLDL-1 production. *Lipids*, 44, 1149-1153.
 96. PORIM Test Methods (1995). Kuala Lumpur: Palm Oil Research Institute of Malaysia (PORIM).
 97. Puri, P. S. (1980). Winterization of oils and fats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 57(11), A848-A850.
 98. Regert, M. (2009). Direct mass spectrometry to characterise wax and lipid materials. *Organic mass spectrometry in art and archaeology, John Wiley & Sons, Ltd*, chapter 4, 97-129.
 99. Reinicke, M., Leyh, J., Zimmermann, S., Chey, S., Brkovic, I. B., Wassermann, C., Landmann, J., Lütjohann, D., Isermann, B., Bechmann, I., & Ceglarek, U. (2021). Plant sterol-poor diet is associated with pro-inflammatory lipid mediators in the murine brain. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13207.
 100. Rhazi, L., Depeint, F., & Ayerdi Gotor, A. (2022). Loss in the intrinsic quality and the antioxidant activity of sunflower (*Helianthus annuus* L.) oil during an industrial refining process. *Molecules*, 27(3), 916.
 101. Ribeiro, J. A., Almeida, E. S., Neto, B. A., Abdelnur, P. V., & Monteiro, S. (2018). Identification of carotenoid isomers in crude and bleached palm oils by mass spectrometry. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 631-637.
 102. Riyadi, A. H., Muchtadi, T. R., Andarwulan, N., & Haryati, T. (2016). Pilot plant study of red palm oil deodorization using moderate temperature. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 9, 209-216.
 103. ROZPORZĄDZENIE KOMISJI (UE) NR 686/2014 z dnia 20 czerwca 2014 r. zmieniające rozporządzenia (WE) nr 983/2009 i (UE) nr 384/2010 w odniesieniu do warunków stosowania określonych oświadczeń zdrowotnych odnoszących się do wpływu steroli roślinnych i stanoli roślinnych na obniżanie poziomu cholesterolu LDL we krwi.

104. Saleh, Z. B., Ezzatpanah, H., Aminafshar, M., & Safafar, H. (2013). The effect of refining process on the conjugated dienes in soybean oil. *J. Agr. Sci. Tech.*, 15: 1185-1193.
105. Salehi-Sahlabadi, A., Varkaneh, H. K., Shahdadian, F., Ghaedi, E., Nouri, M., Singh, A., Farhadnejad, H., Găman, M. A., Hekmatdoost, A., & Mirmiran, P. (2020). Effects of Phytosterols supplementation on blood glucose, glycosylated hemoglobin (HbA1c) and insulin levels in humans: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 19, 625-632.
106. Savinova, T. S., Dovbnya, D. V., Khomutov, S. M., Kazantsev, A. V., Huy, L. D., Lukashev, N. V., & Donova, M. V. (2020). Conversion of Soybean Phytosterol into Androsta-4, 9 (11)-diene-3, 17-dione. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 56, 459-466.
107. Sbihi, H. M., Nehdi, I. A., Mokbli, S., Romdhani-Younes, M., & Al-Resayes, S. I. (2018). Hexane and ethanol extracted seed oils and leaf essential compositions from two castor plant (*Ricinus communis* L.) varieties. *Industrial Crops and Products*, 122, 174-181.
108. Sengupta, R., & Bhattacharyya, D. K. (1992). A comparative study between biorefining combined with other processes and physical refining of high-acid mohua oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69, 1146-1149.
109. Shepperd P.W., Pankonen M. & Gross J.T. (2014) Chemical additives and use thereof in stillage processing operations (U.S. Patent No 8,841,469 B2).
110. Shi, L., Zheng, L., Zhao, C., Huang, J., Jin, Q., & Wang, X. (2018). Effects of deacidification methods on high free fatty acid containing oils obtained from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berry. *Industrial Crops and Products*, 124, 797-805.
111. Sillero, A., & Ribeiro, J. M. (1989). Isoelectric points of proteins: theoretical determination. *Analytical Biochemistry*, 179(2), 319-325.
112. Silva, S.M., Sampaio, K., A., Ceriani, R., Verhé, R., Stevens, Ch., De Greyt, W., & Meirelles, A.,J.,A., (2014) Effect of type of bleaching earth on the final color of refined palm oil. *LWT - Food Science and Technology*, 59, 1258-1264.
113. Suseno, S. H., Sintoko, E. D. P., & Fitriana, A. M. J. N. (2017). Sardine oil purification with winterization. *Oriental Journal of Chemistry*, 33(6), 3150.
114. Tao, C., Shkumatov, A. A., Alexander, S. T., Ason, B. L., & Zhou, M. (2019). Stigmasterol accumulation causes cardiac injury and promotes mortality. *Communications Biology*, 2(1), 20.
115. Tivanello, R., Capristo, M., Vicente, E., Ferrari, R., Sampaio, K., & Arisseto, A. (2020). Effects of deodorization temperature and time on the formation of 3-MCPD, 2-MCPD, and glycidyl esters and physicochemical changes of palm oil. *Journal of Food Science*, 85(7), 2255-2260.
116. Tumanov, S., Pinu, F. R., Greenwood, D. R., & Villas-Bôas, S. G. (2018). Effect of free fatty acids and lipolysis on Sauvignon Blanc fermentation. *Australian journal of grape and wine research*, 24(4), 398-405.

117. Usman, M. A., Ekwueme, V. I., Alaje, T. O., & Mohammed, A. O. (2012). Characterization, acid activation, and bleaching performance of Ibeshe clay, Lagos, Nigeria. *International Scholarly Research Notices*, 2012.
118. Vaisali, C., Charanyaa, S., Belur, P. D., & Regupathi, I. (2014). Refining of edible oils: a critical appraisal of current and potential technologies. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(1), 13-23.
119. Van Hoed, V., Vila Ayala, J., Czarnowska, M., De Greyt, W., & Verhé, R. (2010). Optimization of physical refining to produce rice bran oil with light color and high oryzanol content. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 1227-1234.
120. Vázquez-Carrillo, M. G., Santiago-Ramos, D., Gaytán-Martínez, M., Morales-Sánchez, E., & de Jesús Guerrero-Herrera, M. (2015). High oil content maize: Physical, thermal and rheological properties of grain, masa, and tortillas. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 156-161.
121. Verleyen, T., Sosinska, U., Ioannidou, S., Verhé, R., Dewettinck, K., Huyghebaert, A., & De Greyt, W. (2002). Influence of the vegetable oil refining process on free and esterified sterols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 947-953.
122. von der Haar, D., Stäbler, A., Wichmann, R., & Schweiggert-Weisz, U. (2015). Enzymatic esterification of free fatty acids in vegetable oils utilizing different immobilized lipases. *Biotechnology Letters*, 37, 169-174.
123. Wang, B., Sun, S., Yao, N., & Chu, C. (2021). A novel method for simultaneous degumming and deacidification of corn oil by miscella refining in one step. *LWT-Food Science and Technology*, 137, 110480.
124. Widodo, L. U., & Wahyusi, K. N. (2017). The Effect of Heating Temperature at the Bleaching Process of Palm Oil to the Color's Absorption of Activated-Based Trass Rock. *Advanced Science Letters*, 23(12), 12239-12242.
125. Winkler -Moser, J. K., Hwang, H. S., Byars, J. A., Vaughn, S. F., Aurandt-Pilgrim, J., & Kern, O. (2023). Variations in phytochemical content and composition in distillers corn oil from 30 US ethanol plants. *Industrial Crops and Products*, 193, 116108.
126. Wołowicz, A. (2015). Zastosowanie jonitów amfoterycznych i anionitów o różnej zasadowości grup funkcyjnych w procesie odzysku i rozdzielania jonów metali szlachetnych. *Przemysł Chemiczny*, 64, 1000-1009.
127. 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), 334.
128. Yorulmaz, A. (2018). Influence of industrial refining on some characteristics of olive pomace oil. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 95(3).
129. Yu, D., Dong, T., Zhang, L., Zhou, X., Wang, L., Yang, F., & Liu, T. (2023). Effects of different deodorization methods on the oxidation of sterol components in rice bran oil. *Food Chemistry*, 404, 134568.

130. Yuan, L., Zhang, F., Shen, M., Jia, S., & Xie, J. (2019). Phytosterols suppress phagocytosis and inhibit inflammatory mediators via ERK pathway on LPS-triggered inflammatory responses in RAW264. 7 macrophages and the correlation with their structure. *Foods*, 8(11), 582.
131. Zarei Jelyani, A., Tavakoli, J., Lashkari, H., & Aminlari, M. (2021). Different effect of chemical refining process on Baneh (*Pistacia atlantica* var *mutica*) kernel oil: Regeneration of tocopherols. *Food Science & Nutrition*, 9(10), 5557-5566.
132. Zeldenrust, R. S. (2018). Edible Oil Processing, section Alkali refining. *AOCS lipid library, oils and fats*.
133. Zhang, R., Ma, S., Li, L., Zhang, M., Tian, S., Wang, D., Liu, K., Liu, H., Zhu, W., & Wang, X. (2021). Comprehensive utilization of corn starch processing by-products: A review. *Grain & Oil Science and Technology*, 4(3), 89-107.
134. Zhu, M., Wen, X., Zhao, J., Liu, F., Ni, Y., Ma, L., & Li, J. (2016). Effect of industrial chemical refining on the physicochemical properties and the bioactive minor components of peanut oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(2), 285-294.
135. Zschau, W. (2001). Bleaching of edible fats and oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103(8), 505-551.

Źródła internetowe:

1. The International Production Assessment Division (IPAD) of the USDA's Foreign Agricultural Service USDA, (2023) Corn Production <https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=0440000>

WYKAZ NORM STOSOWANYCH W NINIEJSZEJ PRACY DOKTORSKIEJ

PN-EN ISO 660:2021-03 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.

PN-EN ISO 12937:2005 +Ap1:2021-11 Oznaczanie wody — Miareczkowanie kulometryczne metodą Karla Fischera.

PN-EN ISO 3657:2020:10 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce — Oznaczanie liczby zmydlenia.

PN-EN ISO 3960:2017-03 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczanie liczby nadtlenkowej - Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.

ISO 3596:2000 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczanie substancji niezmydlających się - Metoda ekstrakcji eterem etylowym.

PN-EN ISO 3961:2018 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie liczby jodowej.

PN-ISO 15305:2001 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie barwy w skali Lovibonda.

PN-EN 6885:2016 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczanie liczby anizydynowej.

PN-ISO 10540-1 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie zawartości fosforu.

PN-EN ISO 10539:2002 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie alkaliczności.

PN_EN ISO 6886:2016 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Oznaczenie stabilności oksydacyjnej (test przyspieszonego utleniania).