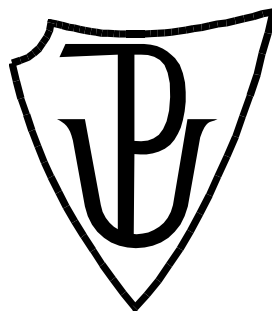


# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra biochemie



## **Kvalita jedlých olejů obohacených extrakty aromatických rostlin**

### **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Autor:	<b>Irena Macháčková</b>
Studijní program:	B1406 Biochemie
Studijní obor:	Biochemie
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	<b>Ing. Sanja Čavar Zeljković, Ph.D.</b>
Rok:	2019

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Olomouci dne 13. 5. 2019

Ráda bych tímto poděkovala Ing. Sanje Čavar Zeljković, vedoucí mé bakalářské práce, za odborné vedení, doporučení literatury a poskytnuté konzultace při vypracování teoretické a experimentální části mé bakalářské práce. Také bych ráda poděkovala doc. RNDr. Petru Tarkowskému, Ph.D. za cenné rady, které mi pomohly k vypracování celé bakalářské práce. Děkuji také RNDr. Jiřímu Pospíšilovi, PhD. za překlad názvů identifikovaných sloučenin do českého jazyka. Dále bych poděkovala všem zaměstnancům oddělení genetických zdrojů zelenin, léčivých rostlin a speciálních plodin Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Olomouci za milý přístup a všestrannou pomoc při práci v laboratoři.

## Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Irena Macháčková
Název práce	Kvalita jedlých olejů obohacených extrakty aromatických rostlin
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Oddělení genetických zdrojů zelenin, léčivých rostlin a speciálních plodin; Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.; pracoviště Olomouc
Vedoucí práce	Ing. Sanja Čavar Zeljković, Ph.D.
Rok obhajoby práce	2019

### Abstrakt

Teoretická část bakalářské je věnována výrobě, složení, vlastnostem a využití jedlých olejů se zaměřením na olej slunečnicový, řepkový a olivový; dále pak informacím o přírodních antioxidantech se zaměřením na mátu klasnatou (*Mentha spicata*), bazalku pravou (*Ocimum basilicum*) a tymián obecný (*Thymus vulgaris*).

Plynovou chromatografií bylo analyzováno složení silic získaných hydrodestilací a fotometricky pak obsah fenolů a antioxidační aktivita silic a methanolových extraktů. Antioxidační aktivita extraktů z bylin klesala v závislosti na obsahu fenolických látek. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazovala bazalková silice a nejnižší silice máty.

Pomocí GC-MS byly stanoveny mastné kyseliny v olejích. Dominantní kyselinou ve slunečnicovém oleji byla kyselina linolová, u řepkového a olivového pak stabilnější kyselina olejová. Stanovením peroxidového čísla bylo zjištěno, že nejlepší antioxidační vlastnosti u slunečnicového oleje vykazoval syntetický butylhydroxytoluen. Naopak přidavkem tymiánové silice bylo zaznamenáno dokonce prooxidační chování, a to především při opakovaném zahřívání oleje. Pro řepkový olej se jako vhodný antioxidant jevila silice tymiánu a pro olivový olej silice tymiánu a máty. Z hlediska čísla kyselosti se jako vhodné antioxidanty u všech testovaných olejů potvrdily silice máty a tymiánu. Metodou headspace byly detekovány aldehydy jakožto produkty oxidace během smažení. Nejhojnějšími byly 3-metylbutanal, pentanal a 3-metylbutanal.

Klíčová slova	Silice, máta, tymián, bazalka, rostlinné oleje, teplotní stabilita, mastné kyseliny, peroxidové číslo, antioxidační aktivita, GC-MS
Počet stran	78
Počet příloh	0
Jazyk	Český

## Bibliographical identification

Autor's first name and surname	Irena Macháčková
Title	Quality of vegetable oils enriched with aromatic herb extracts
Type of thesis	Bachelor
Pracoviště	Department of Genetic Resources for Vegetables, Medicinal and Special Plants, Crop Research Institute, Olomouc
Supervisor	Ing. Sanja Čavar Zeljković, Ph.D.
The year of presentation	2019

### Abstract

The theoretical part of the bachelor thesis summarizes the knowledge about production, composition, properties and use of sunflower, rapeseed, and olive oils. Furthermore the theoretical part is focused on natural antioxidants such as spearmint (*Mentha spicata*), basil (*Ocimum basilicum*) and thyme (*Thymus vulgaris*).

Essential oils were obtained via hydrodistillation and analyzed by gas chromatography–mass spectrometry. Total phenolic content and antioxidant activity of essential oils and methanol extracts were assayed photometrically. The antioxidant activity of the extracts correspond their total phenolic content. The highest antioxidant activity was found in essential oil of basil and the lowest in essential oil of spearmint.

The fatty acid composition was analyzed via gas chromatography–mass spectrometry. The predominance of linoleic acid was found in sunflower oil in contrast to the rapeseed and olive oil in which oleic acid is dominated. Butylated hydroxytoluene was found as the best antioxidant for sunflower oil according to peroxide value. On contrary, the thyme essential oil showed prooxidant properties, especially when the edible oil was fried for longer time. It was found that the best essential oil as antioxidant for rapeseed oil was thyme, and for olive oil was thyme and spearmint. According to acidity value, the best antioxidants for all of the tested oils were essential oils of spearmint and thyme. The headspace method was used for detection of oxidation products of edible oils during frying and 3-methylbutanal, pentanal and 3-methylbutanal were found as the most abundant.

Keywords	Essential oils, thyme, mint, basil, vegetable oils, thermal stability, fatty acids, peroxide value, antioxidant activity, GC-MS
Number of pages	78
Number of appendices	0
Language	Czech

# OBSAH

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>Současný stav řešené problematiky</b>	<b>12</b>
2.1	Rostlinné oleje	12
2.1.1	Výroba oleje	12
2.1.2	Chemické složení	13
2.1.2.1	Nasycené mastné kyseliny	13
2.1.2.2	Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou	14
2.1.2.3	Nenasycené mastné kyseliny s dvěma a více dvojnými vazbami	14
2.1.2.4	Doprovodné látky	15
2.1.3	Fyzikální vlastnosti rostlinných olejů	16
2.1.4	Slunečnicový olej	16
2.1.5	Řepkový olej	17
2.1.6	Olivový olej	18
2.2	Tepelná úprava jedlých olejů	19
2.2.1	Hydrolyza	19
2.2.2	Oxidace	20
2.2.2.1	Produkty autooxidace	21
2.2.3	Polymerace	23
2.2.4	Pyrolytické reakce	23
2.2.5	Vliv reakčních podmínek	25
2.2.6	Změny nutričních hodnot během tepelného zpracování olejů	27
2.2.6.1	Akrylamid	27
2.3	Aromatické byliny jako antioxidanty	30
2.3.1	Antioxidanty	30
2.3.2	Silice	30
2.3.2.1	Jednoduché fenoly, fenolové kyseliny a jejich deriváty	31
2.3.2.2	Terpenové uhlovodíky	32
2.3.2.3	Monoterpeny	32
2.3.2.4	Seskviterpeny	33
2.3.2.5	Diterpeny	33
2.3.3	Máta klasnatá ( <i>Mentha spicata</i> )	34
2.3.4	Bazalka pravá ( <i>Ocimum basilicum</i> )	34
2.3.5	Tymián obecný ( <i>Thymus vulgaris</i> )	35
2.4	Metody	37
2.4.1	Hydrodestilace	37
2.4.2	Extrakce organickým rozpouštědlem	37
2.4.3	DPPH test	37
2.4.4	Folin–Ciocalteuova metoda	39
2.4.5	Plynová chromatografie	40
2.4.6	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií	40
2.4.7	Analýza mastných kyselin pomocí plynové chromatografie	41
2.4.8	Headspace analýza	42
2.4.9	Peroxidové číslo	42
2.4.10	Číslo kyselosti	43
<b>3</b>	<b>Experimentální část</b>	<b>44</b>



3.1	Materiál	44
3.2	Chemikálie	44
3.3	Přístrojové vybavení	45
3.4	Metody	46
3.4.1	Příprava vzorků silic	46
3.4.2	Příprava extraktů	46
3.4.3	Analýza složek silic pomocí GC-MS	46
3.4.4	Stanovení celkových fenolů	47
3.4.5	Stanovení antioxidační aktivity silic a extraktů	47
3.4.6	Příprava vzorků jedlých olejů a jejich tepelná úprava	48
3.4.7	Stanovení celkových mastných kyselin	48
3.4.8	Stanovení peroxidového čísla	49
3.4.9	Stanovení čísla kyselosti	49
3.4.10	Headspace analýza oxidačních produktů smažení	50
<b>4</b>	<b>Výsledky a diskuse</b>	<b>51</b>
4.1	Analýza silic aromatických bylin	51
4.2	Stanovení celkových fenolů	55
4.3	Stanovení antioxidační aktivity extraktů a silic	56
4.4	Stanovení celkových mastných kyselin	57
4.5	Stanovení peroxidového čísla	60
4.6	Stanovení čísla kyselosti	64
4.7	Headspace analýza oxidačních produktů smažení	68
<b>5</b>	<b>Závěr</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>Seznam použité literatury</b>	<b>73</b>

## **Cíle práce**

1. Vypracování literární rešerše o jedlých olejích se zaměřením na slunečnicový, řepkový a olivový olej.
2. Zpracování literární rešerše o přírodních antioxidantech se zaměřením na mátu klasnatou, bazalku pravou a tymián obecný.
3. Izolace silic z máty klasnaté, bazalky pravé a tymiánu obecného pomocí hydrodestilace.
4. Stanovení celkových fenolů v methanolových extraktech aromatických rostlin a stanovení antioxidační aktivity extraktů a silic aromatických rostlin.
5. Porovnání schopnosti silic a syntetických aditiv bránit degradaci jedlých olejů při smažení potravin.

# 1 ÚVOD

Správné fungování lidského organismu je zajišťováno řadou procesů. Jedním z nich je energetický příjem. Nedílnou součástí jídelníčku, která je nejen zdrojem energie, ale také vyvolává pocit nasycenosti a dodává pokrmům charakteristickou vůni a chuť, jsou jedlé oleje. Jsou to sloučeniny mastných kyselin a alkoholu. Svůj velký význam mají nejen pro svou nutriční hodnotu, ale také jako součást stavebních látek buněčných membrán. Současné potravinářství využívá jedlé oleje na mnoho způsobů. K nevelké radosti dietologů je to i tolik zatracované, přesto reklamou dennodenně propagované smažení. Minimální teplota, na kterou se při něm tuk zahřívá, se pohybuje kolem 160 °C. Při styku s potravinou však dochází k prudkému ochlazení oleje a během smažení, které trvá několik minut, teplota oleje opět naroste a zpravidla tak dochází ke snížení jeho kvality. Chemické procesy hydrolytické, oxidační, polymerační a pyrolytické či radikálové mají tak na svědomí degradaci složek kýženého oleje. Potenciální toxicita oleje a samozřejmě i v oleji připravovaného pokrmu není jediným nežádoucím výsledkem procesu smažení. Proto se za účelem snížení vzniku nežádoucích produktů během smažení používají různé přísady, konkrétně antioxidační aditiva. Typickým aditivem používaným pro tuky je syntetický butylhydroxytoluen. Chceme-li však jít přírodní cestou, nabízí se použití bylin, z nichž získané silice mohou jako přírodní zdroje antioxidantů velmi dobře posloužit, navíc s přidanou hodnotou coby ochucovadel. Dobrým příkladem jsou dnes velmi populární aromatické byliny, jako máta klasnatá (*Mentha spicata*), bazalka pravá (*Ocimum basilicum*) a tymián obecný (*Thymus vulgaris*). Porovnání kvality tří druhů vybraných olejů v závislosti na v nich obsažených aditivech, a to jak syntetických, tak přírodních, je předmětem předkládané bakalářské práce. Bere si za cíl prokázat, nakolik je přírodní antioxidant schopen ovlivnit kvalitu oleje, stejně tak i připravovaného pokrmu, během procesu smažení.

## **2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY**

### **2.1 Rostlinné oleje**

Oleje patří mezi základní potraviny, které kromě nutričních hodnot mají příznivý vliv na metabolismus člověka. Podílejí se na prevenci některých onemocnění, jsou zdrojem energie, udržují tělesnou teplotu a hrají důležitou roli při přenosu nervového vzruchu. Jedlé oleje jsou sloučeniny mastných kyselin a alkoholu. Po chemické stránce se jedná o estery glycerolu. Nejčastějším případem je glycerol se třemi navázanými mastnými kyselinami, jedná se tedy o triacylglycerol. Triacylglyceroly se mohou skládat se stejných, ale i různých mastných kyselin vázaných na glycerol. Taktéž mohou obsahovat jednu či více nenasycených vazeb. Mastné kyseliny tvoří až 90 % obsahu oleje. Mimo základních komponent, jako je glycerol a mastné kyseliny, obsahují rostlinné oleje také další lipofilní složky, jako jsou fosfolipidy, karotenoidy, minerály, tokoferoly a další vitamíny (Velíšek a Hajšlová, 2009a). Rostlinné oleje jsou důležité nejen z nutričního hlediska, ale tvoří součást stavebních látek buněčných membrán a představují zdroj energie. Vyvolávají pocit nasycenosti, dodávají jídlům charakteristickou chuť a vůni. Oleje se mohou dělit podle různých kritérií, podle chuti, využití, výživových hodnot nebo typu zpracování (Velíšek a Hajšlová, 2009a). Mezi nejpoužívanější a nejlépe dostupné rostlinné oleje patří olej slunečnicový, řepkový a olivový.

#### **2.1.1 Výroba oleje**

Výroba ať už panenského nebo rafinovaného oleje zahrnuje několik důležitých kroků. Nejdříve se provádí vstupní kontrola semene, kdy jsou semena v laboratořích podrobena chemickému rozboru. Hodnotí se hlavně vzhled, vůně, obsah vody, obsah tuku a polyaromatických uhlovodíků, které jsou zdraví škodlivé. Takto zkontrolovaná semena jsou nasypána do sil, kde probíhá za stálé teploty jejich první čištění. Ze sil semena putují do lisovny. Zde jsou zbavena nečistot jejich filtrací a poté se nadvakrát lisují. Lis za studena se provádí přibližně při 55 °C, čímž olej neztrácí své vitamíny a jiné zdraví prospěšné látky. Prvním lisem lze získat přibližně ze 100 kg zrní 10 kg oleje. Takto je získán tzv. extrapanenský olej. Většinou však dochází k druhému

lisování, kdy už se zbytky lisují při vyšším tlaku a teplotě, která stoupá až k 70 °C. Tímto procesem se získá dalších 20 kg oleje. Slisovaná pevná hmota je pak dále využívána jako krmná surovina v hospodářství. V průmyslových lisovnách se pro větší výtěžnost nechávají výlisky se zbylým olejem extrahovat do organického rozpouštědla (*n*-hexan), čímž se získává až 40 % oleje (Velíšek a Hajšlová, 2009a). Po procesu lisování se panenské oleje smíchají dohromady a je získán nerafinovaný olej. Ten nachází své uplatnění hlavně ve studené kuchyni a jako dochucovadlo. Lisovaný olej může být dále zpracován tzv. rafinací.

Prvním krokem rafinace je zahřátí oleje zhruba na 40 °C. K takto ohřátému oleji se nasype rozemletý vápenec, který zbaví olej nežádoucích barevných složek a dalších látek, jako jsou těžké kovy. Posledním krokem rafinace je dezodorace, kdy jsou účinkem vodní páry, zvýšené teploty a vakua odstraňovány nežádoucí zbytky, kovy a částečně i látky ovlivňující vůni, chuť a celkově látky snižující jakost oleje. Poté jsou oleje plněny do láhví a uchovávány v lednicích do jejich přepravy do velkoobchodů.

Obdobně se připravuje rafinovaný i nerafinovaný olivový olej. Výchozí surovinou jsou však olivy, které se nejdříve očistí a rozemelou, poté se dostávají do lisu a podléhají procesu rafinace.

Rafinované oleje mají vyšší bod kouřivosti, který určuje teplotu, kdy začíná zdraví nebezpečné přepalování při jeho vystavení vyšším teplotám. Proto jsou vhodnější pro přípravu pokrmů při vysokých teplotách, jako je například vaření, smažení nebo fritování (<https://www.fabioprodukt.cz/jedle-oleje-a-potraviny-produkty/>).

## **2.1.2 Chemické složení**

Mastné kyseliny jsou základní složkou rostlinných olejů. Nejčastěji jsou děleny na základě přítomnosti dvojných vazeb na nasycené a nenasycené. Existují však i mastné kyseliny, které vážou různé substituenty nebo mastné kyseliny, jejichž řetězec je rozvětvený či cyklický. Ty většinou nesou triviální název (Belitz *et al.*, 2008).

### **2.1.2.1 Nasycené mastné kyseliny**

Nasycené mastné kyseliny jsou běžnou složkou přírodních lipidů. Obvykle obsahují 4 až 38 atomů, které mají zpravidla lineární, nerozvětvený řetězec, nejčastěji o sudém

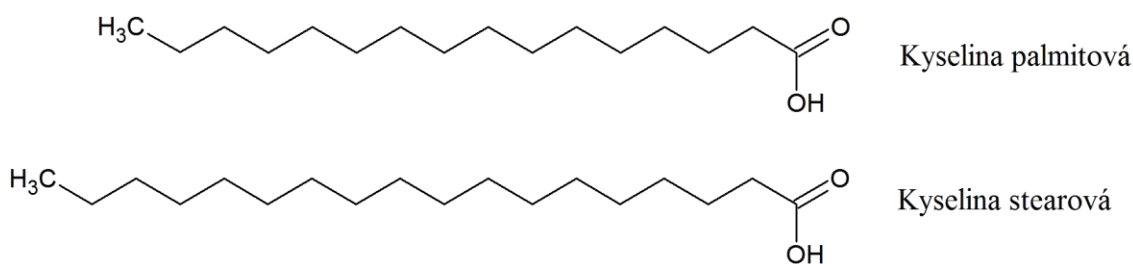
počtu atomů uhlíku. V lipidech potravin se nejčastěji vyskytují kyselina myristová (tetradekanová, 14:0), palmitová (hexadekanová, 16:0) a stearová (oktadekanová, 18:0) (Obr. 1), (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### **2.1.2.2 Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou**

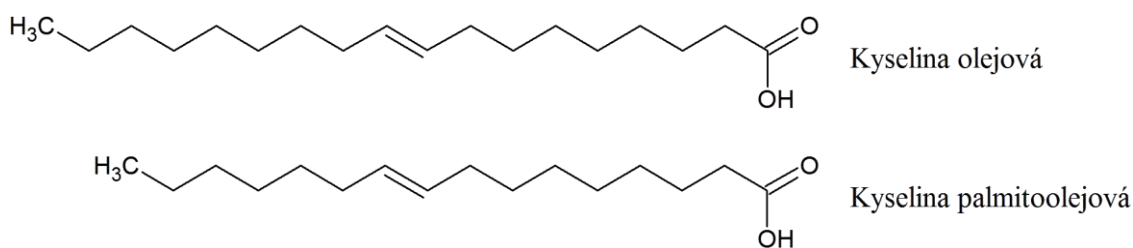
Nenasycené kyseliny s jednou dvojnou vazbou (mononenasycené mastné kyseliny) nebo též MUFA) se liší navzájem počtem atomů uhlíku, polohou dvojně vazby a její prostorovou konfigurací. V lipidových potravinách se zpravidla vyskytují ve stopovém množství. Většina MUFA kyselin se v přírodě nachází v konfiguraci *cis*. Nejznámějšími monoenoovými kyselinami jsou kyselina olejová (oktadecenová 18:1, *cis*-9) existující také v konfiguraci *trans*, palmitoolejová (palmitoolejová 16:1, *cis*-9) nebo kyselina elaidová (oktadecenová 18:1, *trans*-9), (Obr. 2), (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### **2.1.2.3 Nenasycené mastné kyseliny s dvěma a více dvojnými vazbami**

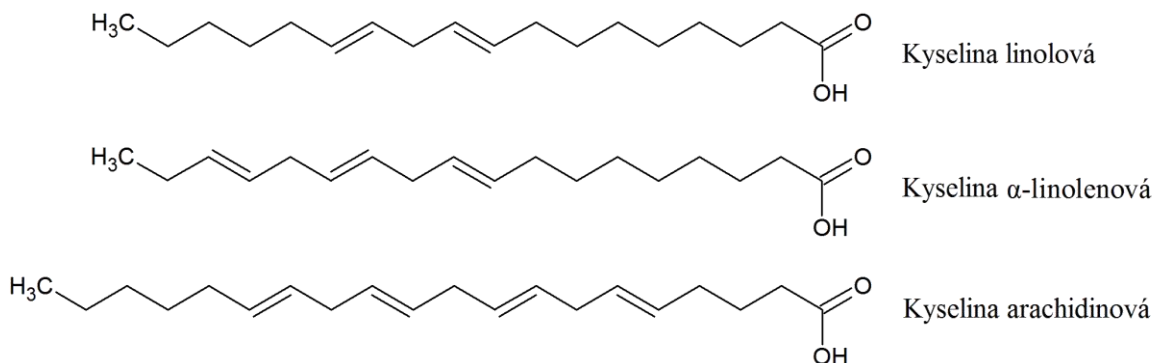
Mastné kyseliny se dvěma izolovanými dvojnými vazbami (dienové) jsou velmi důležité ve výživě. Polynasycené mastné kyseliny nesou mezinárodní označení PUFA a ve svých molekulách mají 2 až 6 dvojných vazeb. Nejvýznamnější dienovou kyselinou je kyselina linolová (oktadekadienová 18:2, *cis*-9). V rostlinných olejích se nejčastěji nacházejí kyselina  $\alpha$ -linolenová (oktadekatrienová 18:3, *cis*-9), arachidinová (20:4 *cis*-5), EPA (eikosapentaenová 20:5, *cis*-5) a DHA (dokosahexaenová 22:4, *cis*-4), (Velíšek a Hajšlová, 2009a). Vzorce těchto kyselin jsou uvedeny na obrázku (Obr. 3). Celkově se jedná o velmi významnou skupinu mastných kyselin, a to hlavně díky kyselině linolové, která je označována za esenciální. Esenciální mastné kyseliny mohou být syntetizovány pouze rostlinnými organismy a živočichové je musejí přijímat v potravě (Hoza a Kramářová, 2008).



Obr. 1 Nejčastější nasycené mastné kyseliny obsažené v jedlých olejích.



Obr. 2 Nejčastější mononasyčené mastné kyseliny obsažené v jedlých olejích.



Obr. 3 Nejčastější polynasyčené mastné kyseliny obsažené v jedlých olejích.

#### 2.1.2.4 Doprovodné látky

Kromě triacylglycerolů, monoacylglycerolů a diacylglycerolů se v olejích nachází asi 1 % doprovodných látek. Jedná se hlavně o steroly, terpenoidy, lipofilní vitamíny, fosfolipidy, antioxidanty, barviva a jiné. Jedná se o látky nerozpustné ve vodě a velmi málo rozpustné v alkoholu. Jejich vlastnosti jsou určovány složením mastných kyselin. Některé z těchto látek neplní vlastnosti živin, ale vykazují efekty, které mohou podporovat zdraví organismu (Frohn, 2002; Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### 2.1.3 Fyzikální vlastnosti rostlinných olejů

Důležitými fyzikálními vlastnostmi olejů jsou bod tání a tuhnutí, viskozita a rozpustnost. Nenasycené mastné kyseliny mají nižší bod tání než nasycené o stejném počtu atomů uhlíku, tzn., že s počtem dvojných vazeb se snižuje bod tání. U nenasycených mastných kyselin se bod tání pohybuje v rozmezí 30 až 65 °C.

Mastné kyseliny jsou rozpustné v organických rozpouštědlech a jejich rozpustnost se s teplotou zvyšuje. Za dobrá rozpouštědla jsou považovány chloroform, toluen, diethylether, benzen aj. Naopak v etanolu jsou mastné kyseliny jen nepatrně rozpustné, a jelikož se jedná o hydrofobní látky, nerozpouštějí se tedy ani ve vodě. Neopomenutelnou fyzikální vlastností je viskozita, která se s molekulovou hmotností mastných kyselin zvyšuje (Pelikán, 2001).

### 2.1.4 Slunečnicový olej

Slunečnicový olej patří mezi nejpoužívanější oleje nejen v českých kuchyních, a to i z důvodu dobré dostupnosti. Je získáván ze semen slunečnice a při jejich zpracování na olej se získá přibližně 40 až 55 % pokrutin (Pelikán, 2001).

Slunečnicový olej se skládá přibližně z 12 % nasycených mastných kyselin (8 % kyselina palmitová, 4 % kyselina stearová), 24 % mononenasycených mastných kyselin (24 % kyselina olejová) a 64 % polynenasycených mastných kyselin (59 % kyselina linolová, 5 % kyselina  $\alpha$ -linolenová). Slunečnicový olej dále obsahuje také lecitin, tokoferoly, karotenoidy a vosky. Je bohatý na vitamín E, jehož množství se pohybuje kolem 70 mg na 100 ml oleje (Iburg, 2004).

Za pokojové teploty je kapalný. Rafinovaný olej je čirý, zlatavě žlutě zbarvený a má slabý tukový pach. K jeho rozkladu dochází při teplotě 232 °C (<http://www.cookingforengineers.com/article/50/Smoke-Points-of-Variou-s-Fats>).

Využití hledá převážně u tepleného zpracování dalších potravin, jako je smažení, dušení, pečení. Dá se však použít i ve studené kuchyni jako dochucovadlo. Méně kvalitní oleje se mohou podílet na výrobě barev, fermeží či mazadel a mýdel (Hosnedl *et al.*, 1998). Má však využití i v dalších odvětvích průmyslu a v lékařství (Valíček, 2002).



### 2.1.5 Řepkový olej

Obdobně jako slunečnicový olej patří řepkový mezi ty nejpoužívanější. Jde o druh oleje, který se získává ze semen rostliny řepky olejné. Na výrobu řepkového oleje pro potravinářské účely je používána hlavně tzv. 00 řepka (dvounulová), která je charakteristická pro své minimální množství kyseliny erukové, a určuje tak svou kvalitu (Baranyk, 2007; Baranyk *et al.*, 2010). Konzumace potravin s vyšším obsahem kyseliny erukové může vést k hromadění tuků v myokardu a tím ke vzniku myokardiální fibrózy či myokarditidy. Často bývá označována jako sloučenina kardiotoxická (<https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92535.aspx>).

Obsah nasycených mastných kyselin v řepkovém oleji činí přibližně 13 % (10 % kyselina palmitová, 3 % kyselina stearová), 56 % mononenasycených mastných kyselin (56 % kyselina olejová) a 31 % polynenasycených mastných kyselin (20 % kyselina linolová, 10 % kyselina  $\alpha$ -linolenová), což se projevuje příznivým poměrem kyseliny linolenové:linolové (2:1). Obsahuje přijatelné množství vitamínu E, které činí asi 30 mg v 100 ml oleje (Iburg, 2004).

Kvalitně rafinovaný olej má neutrální chuť, vůni a jemně žlutou barvu (Iburg, 2004). Řepkový olej snáší vysoké teploty, má dobrou oxidační stabilitu, tudíž má i delší trvanlivost. Zahřívání řepkového oleje nad 270 °C je vhodné se vyhnout kvůli riziku tvorby akroleinu a kvůli rozkladu samotného oleje (Baranyk, 2007; Baranyk *et al.*, 2010).

Řepkový olej se hodí k dušení i delšímu smažení a fritování, neboť obsahuje velké množství mononenasycených mastných kyselin. Může být použit také při přípravě pokrmů za studena. Své využití nachází při výrobě některých margarínů a 100% tuků nebo při výrobě majonéz (Hosnedl *et al.*, 1998; Ward *et al.*, 1985).

Aby bylo zabráněno degradaci světlem, je vhodné jej skladovat ve skleněných tmavých láhvích při teplotě nižší než 15 °C. Doba jeho trvanlivosti je přibližně šest měsíců, avšak jeho použitelnost může být až čtyři roky (Iburg, 2004).

### 2.1.6 Olivový olej

Olivový olej se získává z oliv lisováním nebo jinými postupy. Kvalitní olivový olej si udržuje své přirozené nutriční vlastnosti a v mnoha případech je použit ve své přirozené formě na rozdíl od ostatních rostlinných olejů podléhajících rafinaci. Extra panenský olej patří k jedněm z nejdražších olejů ve srovnání s jinými rostlinnými oleji, což mnohdy vede k jeho falšování (Boskou, 2006).

Chemické složení olivového oleje může být velmi různorodé, protože je závislé na několika faktorech, kterými jsou oblasti pěstování oliv, zeměpisná šířka, podnebí, odrůda a zralost plodu. Průměrně obsahuje 15 % nasycených mastných kyselin (11 % kyselina palmitová, 2 % kyselina stearová, v zanedbatelném množství obsahuje i kyselinu arachidonovou, myristovou, lignocerovou), 74 % mononenasycených mastných kyselin (72 % kyselina olejová, 2 % kyselina palmitoolejová) a 11 % polynenasycených mastných kyselin (10 % kyselina linolová, 1 % kyselina  $\alpha$ -linolenová). Obsah vitamínu E se pohybuje kolem 14 mg na 100 ml oleje (Iburg, 2004).

Barva panenského olivového oleje má žluté až zelené odstíny, a to díky přítomnosti chlorofylů a karotenoidů. Obsah pigmentů je ovlivněn odrůdou, průběhem zrání plodu, skladováním. Velmi často je barva oleje považována za ukazatele kvality (Talbot, 2015). Chuťová škála olivových olejů je široká, neboť existují oleje s jemnější chutí, ale i naopak s výraznější, přes pikantní, ovocnou, hořkou nebo sladkou chuť. Extra panenský olej není příliš tepelně stabilní a při teplotách mezi 160 až 190 °C se začíná přepalovat. Olivový olej z pokrutin je o něco stabilnější a k jeho degradaci dochází přibližně kolem teploty 230 °C (Iburg, 2004).

Olivové oleje se rozdělují do 4 jakostních tříd – extra panenský olivový olej, který je též nejkvalitnější, panenský olivový olej, rafinovaný olivový olej a pokrutinový olej. Využívá se k dušení, pečení, ale své větší uplatnění hledá spíše ve studené kuchyni. Konzumace olivového oleje je zdraví prospěšná pro svůj obsah mononenasycených mastných kyselin a vitamínu E. Používá se také v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu (Iburg, 2004).

## 2.2 Tepelná úprava jedlých olejů

Jedním z nejčastějších způsobů použití olejů v potravinářství je smažení. Smažení je technologický postup, při kterém je potravina ponořena v horkém oleji, případně na něm plave (Pedreschi *et al.*, 2005). Smažit lze potraviny živočišného i rostlinného původu. Během tohoto procesu je tuk přehříván na teploty kolem 150–160 °C. Po vložení připravované potraviny se ve styku s horkým vzduchem odpařuje voda a tuk se ochlazuje. Během smažení, které obvykle trvá několik minut, se teplota opět o několik desítek stupňů zvýší a může docházet k degradaci složek oleje. Během smažení dochází k řadě chemických procesů. Mezi ně patří například procesy hydrolytické, oxidační, polymerační a pyrolytické či radikálové, kterým podléhají jak volné mastné kyseliny, tak i mastné kyseliny vázané v triacylglycerolech. Těmito pochody vzniká celá řada produktů, jako jsou hydroperoxydy, polymery, aldehydy, epoxidy, cyklické mastné kyseliny, trans-isomery nenasycených mastných kyselin a další oxidační produkty lipidů, které jsou potenciálně toxické (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### 2.2.1 Hydrolýza

Hlavním procesem během smažení je hydrolýza olejů. Hydrolytické procesy nastávají působením horké páry (uvolňované ze smažené potraviny) na horký tuk, a dochází tak k hydrolýze esterových vazeb (Chung *et al.*, 2004). Vznikající volné mastné kyseliny se z větší části absorbují smaženou potravinou, a dodávají tak potravině specifickou chuť. Současně během hydrolýzy esterových vazeb dochází také k destilaci uvolněných mastných kyselin z olejové lázně do ovzduší. Zvláště náchylné k tomuto chování jsou tuky obsahující středně dlouhé mastné kyseliny (Nawar, 1969).

K hydrolýze dochází mimo tepelný proces také účinkem lipas, jejichž zdrojem může být například surový olej (lipasy rostlinného původu ze semen) nebo mikroorganismy. V závislosti na lipasové specifitě vznikají různé typy produktů. V případě *sn*-nespecifických lipas původem z olejnatých semen vznikají při hydrolýze rostlinných olejů postupně di- a monoacylglyceroly, glycerol a volné mastné kyseliny (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

## 2.2.2 Oxidace

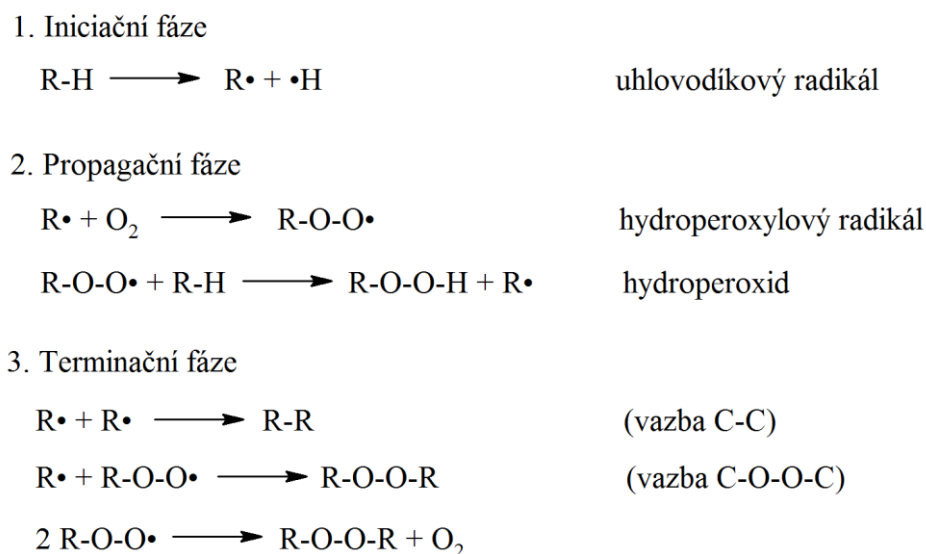
Další skupinou reakcí probíhajících v tukové lázni během smažení jsou velmi rychlé oxidační procesy. Oxidace olejů pracuje na principu autooxidace (Obr. 4), (Akoh a Min, 2002).

Autooxidace je označována za nejběžnější typ oxidace při zpracování a uchovávání olejů. Při běžných teplotách se vzdušným kyslíkem oxidují jen nenasycené mastné kyseliny, avšak za vyšších teplot (odpovídajících teplotám smažení) dochází k autooxidaci nasyčených mastných kyselin (Peers and Swoboda, 1982). Autooxidace je řetězová radikálová reakce, která probíhá ve třech stupních (Akoh a Min, 2002).

Prvním stupněm reakce (iniciace) je vznik volného vodíkového radikálu ( $H \bullet$ ) a volného radikálu mastné kyseliny ( $R \bullet$ ), které vznikají homolytickým štěpením kovalentní vazby mezi uhlíkem a vodíkem uhlovodíkového řetězce. Energie, která je zapotřebí k rozštěpení vazby, může být získána z různých zdrojů. V případě smažení se jedná o záhřev (Velíšek a Hajšlová 2009a).

Jako druhé stádium autooxidace je označován propagační stupeň neboli propagace. Volný vodíkový radikál vznikající při iniciaci se díky své reaktivitě snadno slučuje s molekulou kyslíku, která je vlastně biradikálem. Tímto sloučením vzniká peroxylový radikál ( $R-O-O \bullet$ ). Peroxylový radikál je také velmi reaktivní, což vede k odštěpení vodíkového atomu z další molekuly nenasycené mastné kyseliny. Reakce probíhá poměrně pomalu, a proto určuje rychlost autooxidace. Vzniká hydroperoxid ( $R-O-OH$ ) a další volný radikál mastné kyseliny (Nawar, 1984). Během propagace se mohou tyto dvě dílčí reakce opakovat jednou, několikrát i mnohokrát. Za dostatečného přístupu kyslíku nezávisí rychlost reakce na parciálním tlaku a vede k tvorbě většího množství peroxylových radikálů (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

Třetí stádium autooxidace se nazývá terminační stupeň, též terminace. Nastává tehdy, jestliže je koncentrace volných radikálů v reakčním systému dostatečně vysoká a může tak dojít k reakci mezi dvěma volnými radikály za vzniku neradikálního, poměrně stabilního produktu. Terminací řetězová reakce autooxidace končí (May *et al.*, 1983).



Obr. 4 Obecný mechanismus autooxidace uhlovodíkového řetězce (převzato z Velíšek a Hajšlová, 2009).

### 2.2.2.1 Produkty autooxidace

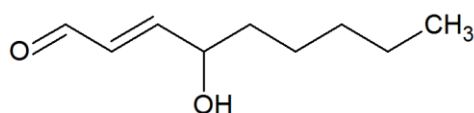
Mezi nejčtenější produkty autooxidace patří hydroperoxydy. Hydroxidy dienových a trienových kyselin jsou velmi nestálé a odštěpují vodíkový radikál za vzniku peroxylového radikálu, nebo jsou schopny odštěpit hydroxylový radikál a vzniká alkoxylový radikál. Při vyšších koncentracích hydroperoxydů dochází k řetězové reakci mastných kyselin. Reakcí mastných kyselin s peroxylovým radikálem vzniká hydroperoxid mastné kyseliny. Produktem reakce mastné kyseliny s alkoxylovým radikálem je hydroxykyselina. Hydroxidy jsou toxické při intravenózním podávání, avšak při orálním podání se za toxické látky nepovažují (Chow, 2007). V trávicím traktu působením příslušných peroxidas dochází k jejich přeměně na příslušné hydroxykyseliny, které jsou prakticky netoxické. Díky rychlému rozkladu hydroxyperoxydů za teplot smažení se hydroperoxydy nepovažují za rizikovou složku tuků a olejů pro smažení. (Kubow, 1990). Avšak přeměnou v žaludku mohou vznikat i toxické produkty, jako jsou epoxidy, aldehydy a nepřeměněné hydroperoxydy, které poškozují stěnu žaludku (Kanazawa a Ashida, 1998).

Největší pozornost z hlediska toxicity produktů během smažení je věnována především nízkomolekulárním aldehydům (Chow, 2007). V trávicím traktu dochází k jejich snadnému vstřebávání a způsobují vážná poškození jater, ledvin a dalších

orgánů, kde se uplatňuje jejich schopnost interakce s proteiny (Esterbauer, 1993). Jeden z nejvýznamnějších toxických produktů během smažení je 4-hydroxy-2-nonenal, který vzniká rozkladem hydroperoxidů kyseliny linolové (Seppanen a Csallany, 2004). Tato látka s malondialdehydem a některými dalšími oxidačními produkty lipidů narušují strukturu LDL lipoproteinů, čímž se zvyšuje riziko aterosklerózy. Dalším negativním efektem této sloučeniny je navození podmínek pro nekontrolovatelné buněčné dělení a tvorbu nádorů.

Dalším významným toxickým produktem autooxidace je hydroxynonenal (Obr. 5), který obdobně jako většina ostatních aldehydů vykazuje mutagenní aktivitu (Esterbauer, 1993).

Obzvláště rizikovými produkty jsou netěkavé oxidační produkty lipidů, jako jsou aldehydokyseliny vznikající při rozkladu hydroperoxidů. Takovou aldehydokyselinou je například 9-oxononanová kyselina, která vzniká rozkladem hydroperoxidů olejové a linolové kyseliny. Aldehydokyseliny jsou schopny snadného vstřebávání v trávicím traktu a vykazují řadu mutagenních a karcinogenních vlastností (Boskou a Elmadfa, 2010).



4-hydroxy-2-nonenal

Obr. 5 Strukturální vzorec 4-hydroxy-2-nonenalu.

### 2.2.3 Polymerace

Třetí významnou skupinou reakcí probíhajících během smažení potravin jsou polymerační procesy, nazývané též jako oxypolymerační (Velíšek a Hajšlová, 2009a). Hlavními produkty rozkladu smaženého oleje jsou netěkavé polární sloučeniny, dimery a polymery triacylglycerolu (Frankel *et al.*, 1984). Dimerizace a polymerace během smažení patří mezi reakce radikálové (Cuesta *et al.*, 1993). Dimery a polymery vznikají většinou reakcemi mezi dvěma volnými radikály. V případě, že se jedná o alkylové radikály, produktem reakce jsou dimery, tvořené mastnými kyselinami vázanými jednoduchou vazbou C-C mezi dvěma uhlíkovými atomy (Stevenson *et al.*, 1984). Mnohem častější jsou produkty s etherovými vazbami typu C-C a možné jsou i peroxidové vazby typu C-O-O-C.

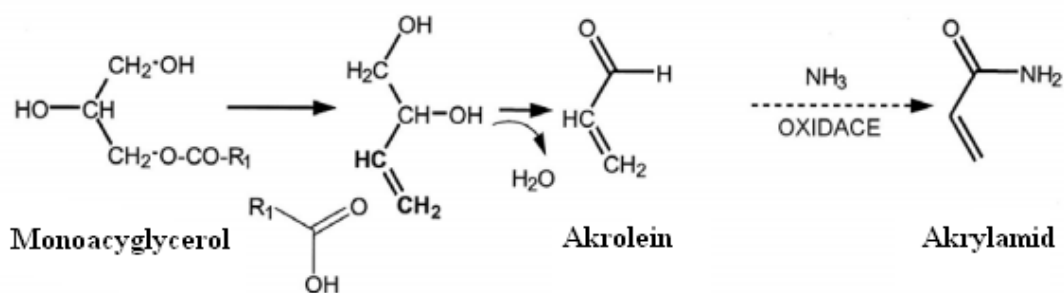
Dvě mastné kyseliny však při těchto procesech mohou být spojeny diperoxidovou vazbou, která je nestálá. Obdobně mohou vznikat produkty, kde jsou mastné kyseliny vzájemně spojeny dvěma vazbami. Těmito produkty jsou tetrahydrofuranové, tetrahydropyranové nebo dioxanové deriváty (Velíšek a Hajšlová, 2009a). Struktura a uspořádání dimerů a polymerů závisí na typu oleje, teplotě olejové lázně během smažení a počtu opakování smažení téhož oleje (Cuesta *et al.*, 1993).

Cyklické polymery jsou tvořeny radikálovými reakcemi a Diels- Alderovou reakcí a ve výrazném množství se neutvářejí, dokud teplota oleje nedosáhne 200 až 300 °C (Christopoulou a Perkins, 1989). Oxidované polymery urychlují proces oxidace a přispívají k degradaci oleje. Pozorovatelnými projevy degradace oleje jsou tvorba pěny během smažení a nežádoucí zbarvení potravin (Lawson, 1995).

### 2.2.4 Pyrolytické reakce

Společně s oxidací a polymerací dochází při záhřevu tuků na vysoké teploty také k reakcím pyrolytickým. Mezi pyrolytické procesy během smažení patří například dehydratace oxidačních produktů nebo jejich reakce se složkami, převážně s bílkovinami, smažené potraviny. Výstupem těchto reakcí jsou výrazně aktivní látky. V bezvodých tucích při smažení dochází pyrolýzou k tvorbě akroleinu (Obr. 6), (Velíšek a Hajšlová, 2009a). Akrolein je slzotvorná látka, která dráždivě působí na oči,

má toxický vliv na sliznice, dýchací cesty a kůži. Vysoké koncentrace mohou vyvolat edémy plic. Požití akroleinu způsobuje deaktivaci jaterních buněk (<https://www.atsdr.cdc.gov/mmg/mmg.asp?id=552&tid=102>). Akrolein vzniká také odstraněním vody po zahřátí glycerolu, který vzniká hydrolytickou degradací triacylglycerolů, jako důsledek obsahu vody v potravinách. Akrolein se může tvořit také při odbourávání škrobu z methylglyoxalu za vzniku cukrů (fruktóza a glukóza).



Obr. 6 Vznik akroleinu cyklickým mechanismem z monoacylglycerolu (převzato z Gertz a Klostermann, 2002).



## 2.2.5 Vliv reakčních podmínek

Kvalita oleje během procesu smažení může být ovlivněna řadou faktorů. Patří zde například teplota, při které ke smažení dochází. Vysoké teploty stimulují oxidaci a polymeraci oleje (Varela *et al.*, 1988). Negativní účinky na kvalitu oleje má také střídavé chlazení a opětovné ohřívání oleje. Při chlazení z teploty smažení se zvyšuje rozpustnost kyslíku v oleji, což způsobuje jeho degradaci (Clark a Serbia, 1991).

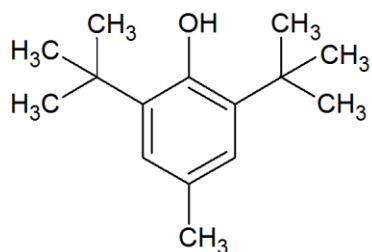
Neopomenutelným faktorem ovlivňujícím kvalitu oleje je doba smažení. S narůstajícím časem smažení v olejové lázni roste koncentrace volných mastných kyselin (Mazza a Qi, 1992), polárních sloučenin, jako jsou dimery triacylglycerolu a oxidované triacylglyceroly (Gordon a Kourimska, 1995), a polymerů (Tompkins a Perkins, 2000).

Složení samotného oleje má také velký význam z hlediska jeho kvality. Hlavní komponentou jedlých olejů odrážející jejich kvalitu je kyselina linolenová. Její množství ovlivňuje stabilitu, chuť oleje a chuť smažených potravin (Liu a White, 1992). S rostoucí koncentrací této kyseliny se zvyšuje riziko degradace (Warner *et al.*, 1997).

Degradace oleje může být závislá také na složení potravin, které podléhají smažení. Vlhkost potravin podporuje hydrolýzu oleje, což lze vizuálně pozorovat tvorbou pěny kolem smažené potraviny (Stevenson *et al.*, 1984). Oxidace oleje je podporována kovy, jako je například železo v masných produktech (Artz *et al.*, 2005). Škrob v potravinách zvyšuje riziko degradace oleje, zatímco potraviny bohaté na aminokyseliny vykazují účinek opačný (Varela *et al.*, 1988).

Velmi významnými látkami, které se podílejí na stabilitě a kvalitě olejů, jsou antioxidanty. Syntetické antioxidanty jako BHT (butylhydroxytoluen) nebo BHA (butylhydroxyanisol), které se využívají běžně jako potravinářská aditiva, snižují oxidační procesy olejů za pokojové teploty. Během teplot smažení však jejich účinek klesá (Choe a Lee, 1998). Čím dál větší pozornost je věnována přírodním antioxidantům, a to hlavně z toho důvodu, že syntetické formy antioxidantů jsou podezřívány z toxicity a karcinogenity (Kahl a Hildebrandt, 1986). Velmi bohaté na antioxidační látky jsou zejména různé druhy koření, byliny, ovoce, zelenina, rostlinná zrna, lístky čajovníku a kakaové boby (Surai, 2015). Velká pozornost je věnována

hlavně extraktům z aromatických rostlin, které jsou považovány za vhodnou alternativu přírodních antioxidantů na úkor synteticky vyráběných (Taghvaei a Jafari, 2015; Sahin *et al.*,2017).



Butylhydroxytoluen

Obr. 7 Strukturní vzorec butylhydroxytoluenu-syntetického antioxidantu.

## 2.2.6 Změny nutričních hodnot během tepelného zpracování olejů

Během tepelného zpracování olejů dochází k řadě reakcí, které ovlivňují jeho kvalitu a podepisují se také na kvalitě dalších potravin v tukové lázni. V závislosti na době tepelného zpracování a typu oleje se mění obsah tokoferolů ve zpracovávané potravine (Miyagawa *et al.*, 1991). Během oxidace vznikající aldehydy, epoxidy, hydroxyketony a dikarboxylové sloučeniny reagují s aminy, aminokyselinami a proteiny zpracovávané potraviny (Pokorný, 1981; Gardner *et al.*, 1992). Dochází ke vzniku látek, které charakterizují chuť, vůni a dodávají výrobkům charakteristické nahnědlé zbarvení. Za tyto reakce je zodpovědná Maillardova reakce. Nahnědlé zbarvení je dáno poklesem hladiny lysinu, histidinu a metioninu během tepelného zpracování potravin (Hidalgo a Zamora, 2000).

Na druhé straně při vysokých teplotách dochází ke ztrátě nutričních hodnot a tvorbě zdraví škodlivých látek. Oxidační produkty tuků reagující s aminokyselinami zpracovávané potraviny, hlavně s asparaginem, dávají vznik karcinogenního akrylamidu. Akrolein vznikající při cyklických mechanismech z monoacylglycerolů, tedy při pyrolytických reakcích, reaguje obdobně s asparaginem za vzniku nežádoucího akrylamidu (Yasahura *et al.*, 2003). Ten vzniká při teplotách vyšších než 100 °C (Becalski *et al.*, 2003) a jeho množství se zvyšující teplotou roste (Kim *et al.*, 2004; Pedreschi *et al.*, 2005).

### 2.2.6.1 Akrylamid

Akrylamid, amid akrylové kyseliny neboli prop-2-enamid je obsažen v širokém spektru pražených, pečených, toastovaných a smažených potravin, především připravených ze surovin rostlinného původu a bohatých na škrob. Zdrojem akrylamidu však může být i pitná voda a tabákový kouř (Velíšek a Hajšlová, 2009b).

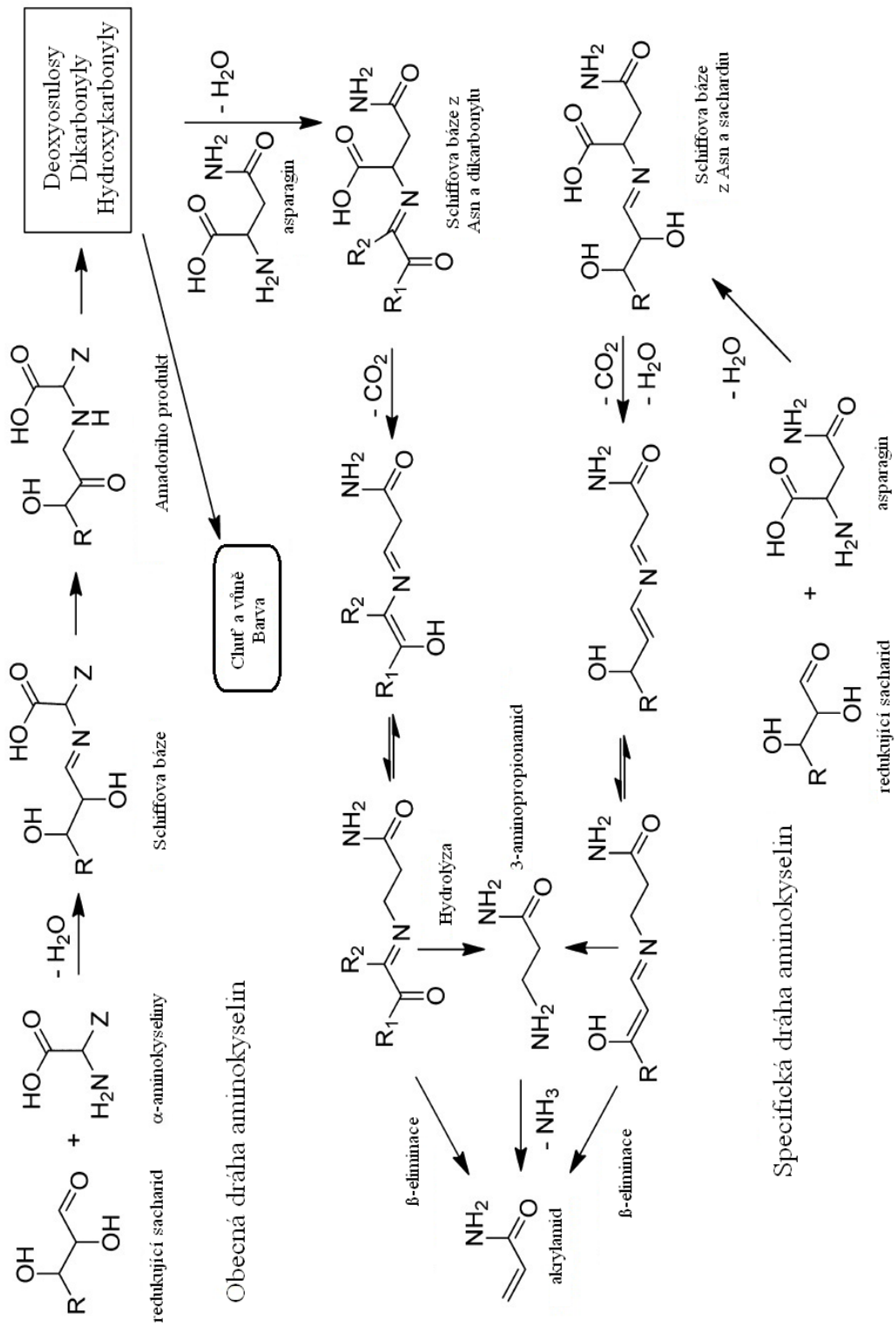
Průměrný denní příjem se pohybuje mezi 0,3 a 2 µg na kg tělesné hmotnosti a je závislý na přijímaných surovinách a způsobu kulinárního zpracování. Syrové nebo vařené potraviny (nedochází-li k překročení teploty 120 °C) obsahují jen minimální množství akrylamidu, či se v nich nevyskytuje vůbec (Friedman, 2003; Svensson *et al.*, 2003; Hedegaard *et al.*, 2008; Velíšek a Hajšlová, 2009b). Naopak vyšší koncentrace se

vyskytují u potravin zpracovaných smažením nebo pečením. Průměrný obsah akrylamidu v bramborových hranolkách se pohybuje mezi 348 a 350  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , u bramborových lupínků až mezi 626 a 628  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Velíšek a Hajšlová, 2009b).

Přítomnost akrylamidu v potravinách lze z větší části vysvětlit jako důsledek Maillardovy reakce, kde jsou klíčovými prekurzory aminokyselina asparagin a redukující cukry nebo různé karbonylové sloučeniny vzniklé ze sacharidů, které umožňují dekarboxylaci asparaginu (Obr. 8). Během Maillardovy reakce se tvoří mnoho žádoucích sensoricky aktivních látek, ale také některých toxických sloučenin s mutagenními a karcinogenními vlastnostmi (Ciesarová, 2005). Kromě hlavního reakčního mechanismu v průběhu Maillardovy reakce existují také vedlejší reakce, které umožňují vznik akrylamidu v potravinách. Například termickou deaminací biogenního 3-aminopropionamidu, nebo z produktů oxidace lipidů, jako je akrolein a kyselina akrylová (Claus *et al.*, 2008).

Faktory, jako je obsah redukujících cukrů, asparaginu a dalších volných aminokyselin ve výchozí surovině, teplota, při které je potravina zpracována, hodnota pH, obsah vody a použití aditivních látek v dané receptuře, určují úroveň kontaminace finálního produktu akrylamidem. Omezení tvorby akrylamidu lze docílit modifikací technologických podmínek, volbou méně rizikové tepelné úpravy nebo výběrem vhodné suroviny (Velíšek a Hajšlová, 2009b).

Akrylamid je označován jako karcinogenní, genotoxický, toxický pro reprodukci a neurotoxický pro centrální nervový systém člověka. Vysoké koncentrace akrylamidu také zvyšují riziko tvorby nádorů štítné žlázy, dělohy, prsní žlázy a dalších orgánů (Besaratina a Pfeifer, 2004; Rice, 2005; Koyama *et al.*, 2006; Mojska *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2010). Podle mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny je klasifikován jako potenciální lidský karcinogen řadící se do třídy 2A. Akrylamid se v organismu rychle absorbuje a poté je následně rovnoměrně distribuován. Jedním z primárních metabolitů je glycidamid, který je produktem oxidace. Akrylamid a glycidamid reagují s makromolekulami, jako je hemoglobin či DNA. Stanovení těchto aduktů se v praxi používá k odhadu expozice. Glycidamid je obdobně považován za karcinogenní látku (Velíšek a Hajšlová, 2009b).



Obr. 8 Předpokládané mechanismy vzniku akrylamidu z redukujícího sacharidu a asparaginu (převzato z Parker *et al.*, 2012).

## **2.3 Aromatické byliny jako antioxidanty**

Aromatické byliny jsou rostliny, z nichž je možné získat vonné látky. Jedná se hlavně o silice (někdy též esenciální oleje) a kumariny. Tyto látky se získávají z celých rostlin, případně z jejich částí, jako jsou kořeny, listy, květy, plody (Neugebauerová a Žďárská, 2015). Aromatické rostliny jsou velmi často spojovány s léčivými efekty a antioxidantními účinky (Valíček, 2006). Využívají se v aromaterapii, jako koření či potravinová aditiva (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### **2.3.1 Antioxidanty**

Antioxidanty jsou v potravinářství označovány za aditivní látky, které prodlužují údržnost potravin. Chrání potravinu před znehodnocením způsobeným oxidací tuků a jiných snadno oxidujících složek potravin. Reagují s volnými radikály nebo jako sekundární antioxidanty redukují vzniklé hydroperoxy. Dále váží do komplexů katalyticky působící kovy a eliminují přítomný kyslík (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

Z přírodních antioxidantů jsou jako aditiva studovány převážně tokoferoly a tokotrienoly (Choe a Min, 2006). Bohaté na antioxidanty jsou však také rostlinné oleje a jiné tuky. K prodloužení údržnosti potravin jsou využívány převážně různé byliny a koření ve formě extraktů. Nevýhodou přírodních antioxidantů oproti těm synteticky připravovaným je jejich složení, které obvykle není konstantní, jsou dražší a velmi často méně účinné. Mají omezené použití, a to hlavně z toho důvodu, že mohou vykazovat vůni či hořkou chuť po použitých rostlinách.

Podle struktury mohou být přírodní antioxidanty rozděleny na endioly a fenolové antioxidanty. V prvním případě jsou do této skupiny zařazeny tokoferoly, fenolové antioxidanty, galláty a další látky obsažené v potravinách, kořenech a bylinách. Endioly zahrnují kyselinu askorbovou a erythorbovou, jejich soli a deriváty (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### **2.3.2 Silice**

Silice jsou těkavé vonné látky, které jsou složeny z komplexů. Získávají se destilací s vodní parou, klasickou destilací, extrakcí pomocí lipofilních rozpouštědel nebo jiným

mechanickým způsobem bez zahřívání z rostlinných surovin. Jedná se o olejovité směsi ve vodě omezeně rozpustné. Většinou jsou bezbarvé a delším uchováváním oxidují, pryskyřičnatí a tmavnou. Vyznačují se optickou aktivitou a vysokým indexem lomu, který je dán přítomností nenasycených látek s dvojnými a trojnými vazbami. (Spilková *et al.*, 2016). Vznikají jako produkty sekundárního metabolismu rostlin, kdy dochází k degradaci sacharidů, lipidů a proteinů, tedy látek primárního metabolismu. Látky silic mohou vznikat dvěma biogenetickými pochody. Prvním je mevalonátová cesta, jejímiž produkty jsou terpenické látky. Naopak kumariny nebo fenolické látky vznikají tzv. šikimátovou cestou (Nováková a Šedivý, 1996).

Léčivé rostliny obsahující senzory aktivní látky, jako jsou terpeny, se označují názvem primární senzory aktivní látky. Senzorické látky, které vznikly působením enzymů nebo jinými chemickými procesy při skladování, například potravin, jsou označovány jako sekundární senzory aktivní látky (Spilková *et al.*, 2016).

Silice jsou složeny z mnoha chemických sloučenin, které zastupují všechny biogenetické skupiny (acetogeniny, terpeny, fenylypropany, látky se sírou a dusíkem v molekule). V jedné silici se může nacházet až 50 různých látek. Obsahují senzory aktivní látky. Nejčastějšími složkami silic jsou terpeny a fenylypropany. Z terpenů se v silicích vyskytují hlavně monoterpeny, seskviterpeny a diterpeny. Monoterpeny a seskviterpeny se vyskytují v těchto základních typech: acyklické, monocyklické, bicyklické a tricyklické. Mimo terpenů a fenylypropanů se v silicích nacházejí také jejich deriváty, tedy alkoholy, aldehydy, ketony, kyseliny, estery, ethery a další (Spilková *et al.*, 2016).

Využití izolovaných látek silic je velmi široké. Využívají se pro své antimikrobiální a protizánětlivé účinky, mají vliv na hladinu cholesterolu, srdeční frekvenci, tvorbu a vylučování žluči a jsou charakteristické pro své antioxidační účinky, takže jsou vhodnými aditivami potravin (Bowles, 2003).

### **2.3.2.1 Jednoduché fenoly, fenolové kyseliny a jejich deriváty**

Fenoly jsou heterogenní skupinou sloučenin, přičemž se některé uplatňují jako vonné látky. Jde o některé jednoduché fenoly, jejichž vznik je zapříčiněn degradací fenolových kyselin, případně se jedná o produkty redukce těchto kyselin a další deriváty

hydroxyfenolových kyselin (kumarin). Dále plní funkci chuti, přírodních barviv a velmi často se řadí k obranným látkám rostlin zvaným fytoalexinům, přírodním antioxidantům a přirozeným toxickým složkám potravin. Fenoly, které se uplatňují jako vonné a chuťové látky, jsou primárními složkami některých silic a jako sekundární aromatické látky vznikají při zpracování potravin. Struktura primárních složek souvisí s příslušnými alkyl(aryl)ethery.

Mezi nejvýznamnější jednoduché alkylfenoly vyskytující se v silicích patří monoterpeny karvakrol, thymol a chavicol. Od guajakolu jsou pak dovozeny například eugenol, nebo isoeugenol (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### **2.3.2.2 Terpenové uhlovodíky**

Terpeny jsou nenasycené uhlovodíky převážně rostlinného původu. Jejich molekuly jsou složeny ze dvou a více isoprenových jednotek. Patří mezi látky těkavé a mají silné aroma. Jsou součástí silic a jejich obecný vzorec je  $(C_5H_8)_n$ . Terpenové uhlovodíky se dělí podle stavby uhlíkatého řetězce (acyklické, cyklické), chemického složení (uhlovodíky, kyslíkaté deriváty), výskytu v rostlinách (silice, pryskyřice, balzámy), počtu polymerovaných molekul isoprenu (monoterpeny, seskviterpeny, diterpeny, triterpeny, tetraterpeny a polyterpeny).

Syntetizují se složitými mechanismy z izoprenových jednotek isopentenyl-difosfátu a dimethylallyl-difosfátu, kdy nejdříve vzniká geranyl-difosfát (prekurzor monoterpenů), ten reaguje s isopentenyl-difosfátem za vzniku farnesyl-difosfátu (prekurzor seskviterpenů). Následnou reakcí s dalším isopentenyl-difosfátem vzniká prekurzor diterpenoidů geranyl-geranyl-difosfát. Pokračuje-li reakce dále, tvoří se prekurzory polyprenoidů. Reakcí dvou molekul farnesyl-difosfátu vede k triterpenoidům a steroidům (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### **2.3.2.3 Monoterpeny**

Monoterpeny se v potravinách nacházejí v acyklických, monocyklických i bicyklických formách.



V silicích se z acyklických monoterpenů vyskytuje převážně myrcen a ocimen. Z acyklických monoterpenů obsahujících alkoholovou skupinu jsou to linalool, geraniol, citronelol. Z aldehydů je to například citral neboli gerandial.

K monocyklickým terpenům se řadí limonen, menthol obsahující alkoholovou skupinu,  $\alpha$ -terpinen, cinnamaldehyd, vanilin, ketonické terpeny menthon, karvon, piperiton (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

Nejčastěji zastoupené bicyklické monoterpeny v rostlinných silicích jsou sabinen (tujanový typ),  $\alpha$ -pinen a  $\beta$ -pinen patřící do typu pinanového. Za důležité bicyklické terpenové alkoholy se považují borneol a isoborneol patřící do kamfanového typu (Polívka, 2010).

#### **2.3.2.4 Seskviterpeny**

V přírodě se nachází asi 300 různých struktur, od kterých jsou seskviterpeny odvozeny. Patří mezi hlavní složky silic, které obsahují obvykle 15 uhlíkových atomů. Jen malá část acyklických seskviterpenů se nachází v potravinách. Hlavními představiteli této skupiny jsou  $\alpha$ -farnesen a  $\beta$ -farnesen.

Mezi monocyklické seskviterpeny patří například  $\alpha$ -bisabolen,  $\beta$ -bisabolen, dále pak uhlovodíky  $\alpha$ -zingiberen a ar-kurkumen (Polívka, 2010).

Nejčastější bicyklické seskviterpeny obsažené v rostlinných silicích jsou například germakren A, germakren B,  $\alpha$ -humulen. Dalšími příklady mohou být  $\beta$ -kadinen,  $\beta$ -selinen,  $\beta$ -karyofylen,  $\alpha$ -bergamoten, valencen atd. (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

#### **2.3.2.5 Diterpeny**

Diterpeny vznikají spojením čtyř isoprenoidních jednotek a obsahují 20 uhlíků. Jedná se o bezbarvé krystalické látky bez zápachu. V potravinách plní především úlohu prekurzorů biologicky aktivních látek.

Obdobně jako monoterpeny a seskviterpeny jsou i diterpeny většinou cyklické sloučeniny. Acyklické diterpeny v přírodě nejsou příliš zastoupeny (Berger, 2007). Příkladem diterpenových uhlovodíků jsou makrocyclické sloučeniny, jako je cembren, kasben, případně taxa-4,11-dien, který je též prekurzorem toxických diterpenoidů

(alkaloidů). *Ent*-kauren je prekurzorem rostlinných hormonů giberelinů, diterpenových alkoholů kafesolu, kahweolu, diterpenoidních antioxidantů kyseliny karnosové nebo karnosolu nacházející se v nati hluchavkovitých rostlin (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### **2.3.3 Máta klasnatá (*Mentha spicata*)**

Máta klasnatá (*Mentha spicata* L.) je aromatická bylina patřící do rodu máta čeledi hluchavkovitých. Celkově je rod máta rozšířen hlavně v mírném podnebném pásmu po celém světě. Máta vyžaduje pro svůj růst hlavně vlhkou, slabě kyselou až mírně zásaditou půdu, proto vyrůstá kolem vodních toků, rybníků, jezer, ale i zavlhých pastvin, v polích a okolo vlhčích lesních cest.

Jde o statnou, až 1 m vysokou bylinu s vytrvávajícími nadzemními výběžky. Pyšní se vzpřímenou, nahoře větvenou čtyřhrannou lodyhou. Ta může být lysá nebo jen roztroušeně pýřitá. Listy máty jsou řapíkaté, vejčité až kopinaté. Po obvodě jsou čepele řídce ostře pilovité a jejich horní strana je hustě porostlá jednoduchými chlupy. Směrem k vrcholu listu jsou zahnuté a ze spodní strany se nachází šedé, neuspořádané jednoduché chlupy. Někdy mají listy jen krátké papily. Květy jsou v lichopřeslenech. Čtyři korunní lístky jsou světle růžové až fialové. Z koruny vystupují konce čtyř stejně dlouhých tyčinek s prašníky. Čnělka s bliznou vyrůstá na lysém semeníku. Plodem je hnědá až černá tvrdka (Novák *et al.*, 1958).

Máta klasnatá se pěstuje hlavně pro své aromatické listy. Máta má protizánětlivé účinky, používá se proti kožním vyrážkám a revma. Tlumí bolest hlavy a působí proti ospalosti. Dále se listy používají k přípravě čajů nebo odvarů s pozitivními účinky na horní cesty dýchací (Goliašová a Michalková, 2006).

Hlavními složkami silice máty klasnaté vykazující antioxidační aktivitu jsou zpravidla monoterpeny, jako karvon, linalool, menthol a limonen (Lawrence, 2006).

### **2.3.4 Bazalka pravá (*Ocimum basilicum*)**

Bazalka pravá (*Ocimum basilicum*) patří mezi aromatické rostliny čeledi hluchavkovitých. Jedná se o jednoletou rostlinu původem z Asie. Nyní se nejvíce pěstuje v severní Africe, Evropě a severozápadní Asii.

Bazalka dorůstá výšky 20-40 cm. Její lodyha je lysá, někdy zřídka ochlupená, tupě čtyřhranná až oblá, vzpřímená či vystoupavá. Velmi často dřevnatí na bázi a v horní části dochází k větvení. Bazalka pravá má dlouze řapíkaté listy, jejichž čepel je eliptická až vejčitá, celokrajná až řídce zubatá. Povrch listů bývá lysý nebo jsou přítomny malé chloupky na spodních žilkách. Lichopřesleny jsou chudokvěté. Květy jsou bílé a větších rozměrů. Plodem jsou červenohnědé tvrdky (Paton, 1992). Má sladce kořeněnou vůni se stopami hřebíčkové a anýzové esence. Chuť je podobná hřebíčku s tóny mentolu a anýzu (Norman, 2008). Pro svůj růst vyžaduje vlhkou, výživnou půdu a přímé slunce.

Své využití nalézá v medicíně při léčbě zánětu průdušek, proti nachlazení, na horečky a stres. Pro svou schopnost redukovat cukry je čím dál častěji využívána k léčbě některých typů cukrovky. Ulevuje při migrénách a nespavosti. Šťáva z listů se používá na kožní choroby. Zvyšuje žaludeční činnost, snižuje nadýmání a podporuje chuť k jídlu (Webb, 2002). Z nutričního hlediska je zdrojem vitamínu A, vitamínu C, železa, vápníku, hořčíku a draslíku.

Mezi hlavní složky silice bazalky pravé s antioxidační aktivitou patří hlavně methylchavicol, linalool, myrcen, eugenol, ocimem, bazalkový kafr a další (Hiltunen a Holym, 1999).

### **2.3.5 Tymián obecný (*Thymus vulgaris*)**

Tymián obecný je aromatická bylina, která je původem ze Středozeší. Nyní je pěstován převážně v Evropě a Asii. Patří do čeledi hluchavkovitých a velmi často je nazýván mateřídouška dymián. Pěstuje se v zahradách, polních kulturách a je velmi rozšířenou bylinou na neobdělávaných slunných, suchých a lehčích půdách.

Silně aromatické nízké stálezelené polokeře tymiánu jsou vysoké 20–30 cm a jsou pěstovány jako jednoleté nebo také jako vytrvalé byliny. Dřevnaté lodyhy jsou hustě obrostlé drobnými listy. Listy bývají řapíkaté nebo přisedlé, čárkovité až okrouhle vejčité, s přisedlými žlázkami. Narůžovělé květy tymiánu jsou oboupohlavní a rostou do vidlanovitých svazků. Tymián začíná kvést v květnu a kvete až do září. Plody jsou čtyři vejcovité tvrdky (Korbelář a Endris, 1974). Celá rostlina zemitě a peprně voní. Chuť je kořená, s tóny hřebíčku a máty (Norman, 2008).

Tymián obecný podporuje trávení, používá se proti kašli, zahání infekce, tlumí křeče. V medicíně se využívá také při bronchitidě, zápalu plic, astmatu a jakémkoli zánětu horních či dolních dýchacích cest. (Bristow, 2005). Zevně se tymián používá do koupelí a obkladů při léčbě hnisavých ran a kožních onemocnění (Korbelář a Endris, 1974).

Nať obsahuje silici s hlavními obsahovými složkami karvakrolem, geraniolem, cymolem a nejdůležitějším tymolem. Další látky obsažené v silici tymiánu obecného jsou tymol methylether, cymen,  $\alpha$ -pinen, borneol a další (Hui, 2010).

## 2.4 Metody

### 2.4.1 Hydrodestilace

Metoda hydrodestilace je velmi podobná destilaci s vodní parou. Tato metoda je založena na vkládání vysušeného rostlinného materiálu s destilovanou vodou do varné baňky a dochází ke společné destilaci. Na baňku je nasazen tzv. Clevengerův nástavec, který slouží k jímání silice. Clevengerův nástavec obsahuje také chladič a kalibrovanou kapiláru pro měření objemu silice. Baňka s rostlinným materiálem a vodou je zahřívána na topném hnízdě, kdy dochází ke stoupání vody ze směsi do chladiče a následně k její kondenzaci a skapávání do kapiláry. Přebytečná voda putuje zpět do varné baňky. Získaná silice obsahuje velké množství vody, které je možné odstranit dekantací. Hydrodestilace podle Clevengera je výhodná hlavně z toho důvodu, že je šetrná ke složkám v silicích, neboť během celého procesu nedochází k překročení teploty destilace 100 °C (Topiař *et al.*, 2013).

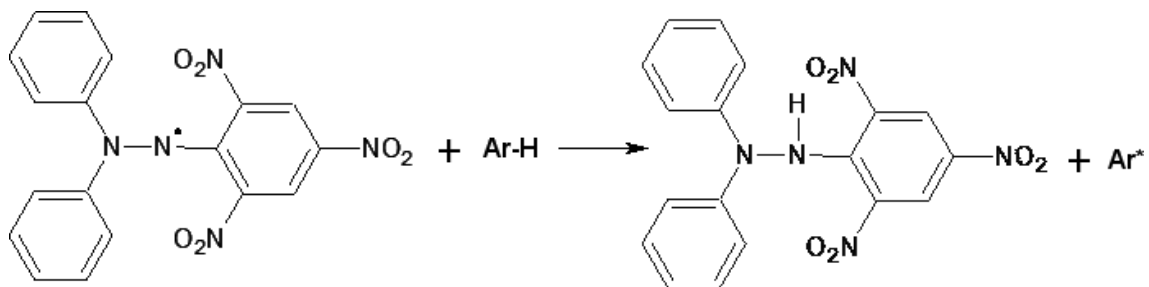
### 2.4.2 Extrakce organickým rozpouštědlem

Extrakce patří mezi separační metody, kdy dochází k přechodu složky ze směsi látek v kapalně nebo tuhé fázi do jiné kapalně fáze. Extrakce je výhodná pro izolaci tepelně nestabilních látek, protože je možné ji uskutečnit i za laboratorní teploty či chladu. Extrakce z pevné fáze do kapaliny může být různého typu. K extrakci se velmi často používá Soxhletův extraktor nebo dochází k maceraci. Při maceraci se rozmíchá pevná fáze s rozpouštědlem a následně dojde k filtraci, čímž se získá požadovaný extrakt. Digesce je macerace horkým rozpouštědlem. Pro izolaci bylinných extraktů mohou být použita organická činidla, jako je například methanol nebo ethanol.

### 2.4.3 DPPH test

Inhibitory oxidace jsou sloučeniny s odlišnou chemickou strukturou a různými účinky mechanismu. Primární antioxidanty pracují na principu přerušení řetězové radikálové reakce. Míra účinnosti primárních antioxidantů je určována např. při reakci s radikálem, jehož úbytek lze měřit. DPPH test využívá stabilního 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylového radikálu pro určení antiradikálové aktivity ať už synteticky připravovaných antioxidantů

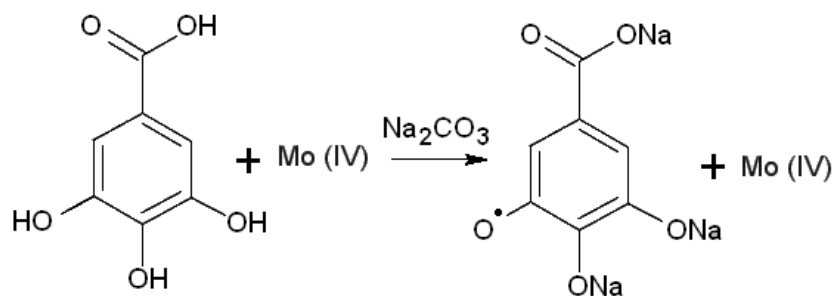
či izolovaných přírodních látek a extraktů. Přítomností antioxidantů s antiradikálovou aktivitou dochází k redukci barevného stabilního radikálu DPPH na bezbarvou molekulu (Obr. 9). Rychlost a míra odbarvení, což se projeví poklesem absorbance, jsou úměrné antioxidační aktivitě analyzované látky. Antioxidační aktivita se vyjadřuje jako účinná koncentrace antioxidantu, která je potřebná k redukci 50 % radikálu DPPH (hodnota EC<sub>50</sub>). Pokles absorbance vzorků se sleduje při 517 nm (Cavar *et al.*, 2008).



Obr. 9 Redukce barevného stabilního radikálu DPPH na bezbarvou molekulu v přítomnosti antioxidantů s antiradikálovou aktivitou.

#### 2.4.4 Folin–Ciocalteuova metoda

Folin-Ciocalteuova metoda se provádí pro stanovení celkového množství polyfenolických látek ve vzorku. Je založena na reakci Folin- Ciocalteuova činidla, což je směs oxidů wolframu a molybdenu, s fenoly, které jsou obsaženy v extraktu. Během reakce dochází k redukci fenolů za vzniku modrých chromogenů (Obr. 10). Změna absorbance se měří spektrofotometricky při vlnové délce 765 nm. Výsledná koncentrace polyfenolických látek se převádí na ekvivalentní množství kyseliny gallové, pomocí které je sestavena kalibrační křivka. Proto se též tato metoda někdy nazývá metoda GAE (Gallic Acid Equivalent method), (Singleton a Rossi, 1965; Márová a Obruča, 2013).



Obr. 10 Redukce fenolů v přítomnosti Folin-Ciocalteuova činidla za vzniku modrých chromogenů.

## **2.4.5 Plynová chromatografie**

Plynová chromatografie (GC, gas chromatography) patří mezi separační metody. K separaci plynů jsou zde využívány dvě heterogenní fáze, přičemž mobilní fáze je plynná, jedná se většinou o inertní plyn, a separované složky jsou taktéž v plynném stavu. Nosný plyn je málo viskózní a stlačitelný (Churáček, 1990). Naopak stacionární fáze bývá tuhá látka nebo kapalina zakotvená na inertním nosiči. V koloně pak dochází k rozdělení jednotlivých látek na základě interakcí mezi separovanými látkami a stacionární fází, což se projeví rozdílnou elucí. Separované složky jsou unášeny nosným plynem a pomocí detektoru je zaznamenáno jejich množství, jako funkce jednotky času na objemu proteklého nosného plynu (Holzbecher a Churáček, 1987).

## **2.4.6 Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií**

Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií je v současnosti běžnou analytickou metodou, která kombinuje vysokou separační schopnost kapilární plynové chromatografie s detekcí vysoce specifickou pro daný analyt a zároveň umožňující získání informace o struktuře neznámých látek (Renew a Huang, 2004). Hmotnostní spektrometr pracuje ve spojení s plynovým chromatografem jako detektor. Jednotlivé složky analytu postupně opouštějí GC kolonu a vstupují přes vyhřívanou spojku do MS. Vyhřívaná spojka udržuje složky analytu v plynném stavu i poté, co opustily termostat GC. Kapilární kolony jsou obvykle přímo připojeny k ionizačnímu zdroji. Ionizace analytu nastává v ionizační komoře. Vzniklé nabitě fragmenty jsou urychleny směrem k hmotnostnímu analyzátoru, kde jsou analyzovány. Fragmenty analytu opouštějící analyzátor přistupují k detektoru. Vzniklý záznam je softwarově zpracován do podoby hmotnostního spektra.

Produktem každé GC-MS analýzy je chromatogram a hmotnostní spektrum každé složky vzniklé separací v GC. Chromatogram pak slouží ke kvantitativní analýze a hmotnostní spektra ke kvalitativní analýze analytů. Zatímco běžné detektory GC pracují za normálního tlaku, MS systém pracuje za tlaku podstatně nižšího. Na konci GC kolony (u detektoru) se tedy pracuje za podstatně nižšího tlaku než na jejím začátku (u injektoru). Výsledkem je tedy to, že GC-MS retenční časy identických analytů při



identickém teplotním režimu a identické koloně jsou kratší ve srovnání s retenčními časy dosaženými s jinými detektory (Pertile a Čablík, 2006).

#### **2.4.7 Analýza mastných kyselin pomocí plynové chromatografie**

Pro stanovení mastných kyselin ve vzorku plynovou chromatografií je nejběžnější postup příprava metylester derivátů MK (FAMES), neboť je nutné převést mastné kyseliny pro jejich analýzu na nízkomolekulární nepolární deriváty (methylestery). Stanovení mastných kyselin se provádí nejčastěji ve 3 krocích. Nejdříve dochází k extrakci lipidů rozpouštědlem, poté jsou izolované lipidy esterifikovány do formy FAMES a následně jsou tyto látky analyzovány pomocí plynové chromatografie (Christie, 1989).

Derivatizace mastných kyselin je převedení analytu chemickou reakcí na deriváty dobře analyzovatelné plynovým chromatografem. Tímto procesem se zajistí vyšší těkavost, vyšší tepelná stabilita, nižší polarita, nižší nevratná sorpce v injektoru nebo zvýšená odezva ve specifickém detektoru (Klouda, 2003). Pro přípravu těchto nepolárních derivátů methylesterů mohou být využity procesní kroky, jako jsou extrakce, hydrolýza, metylace, esterifikace apod.

Mezi nejzákladnější extrakce patří kyselá a bazická katalyzovaná esterifikace, ale existují i jiné způsoby jak připravit požadované methylestery. Pro kyselou katalyzovanou esterifikaci je derivatizačním činidlem nejčastěji 5% bezvodá kyselina chlorovodíková v methanolu nebo 1–2% roztok koncentrované  $H_2SO_4$  v methanolu. Pro bazickou katalyzovanou esterifikaci se využívá jako derivatizační činidlo roztok methoxidu sodného v bezvodém metanolu ( $0,5 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ). Vznikající FAMES jsou po samotné esterifikaci vytřepávány do organického rozpouštědla, jakým je hexan nebo heptan. Tato směs může být vysušena bezvodým síranem sodným nebo za sníženého tlaku na rotační vakuové odparce.

Odparky jsou následně rozpuštěny v organickém rozpouštědle a analyzovány pomocí plynové chromatografie (Christie, 1989).

### **2.4.8 Headspace analýza**

Analýza headspace (HS) je jednou z možností jak analyzovat silice ze vzorku (Mlejová *et al.*, 2010). Headspace metoda ve spojení s plynovou chromatografií umožňuje postup pro stanovení těkavých látek. Zakládá se na rozdělení analytů, které jsou sledovány mezi netěkavou kapalnou nebo pevnou fází a plynnou fází, nacházející se nad samotným vzorkem (Horák *et al.*, 2012). Headspace analýza se používá jako nepřímá metoda pro určení obsahu dané složky ve vzorku na základě analýzy plynné fáze (Churáček, 1990). Takto je zajištěna selektivní extrakce silic bez dalších složek matrice (Mlejová *et al.*, 2010). Díky tomu je potlačeno zatížení chromatografického systému interferujícími nebo jinak nežádoucími látkami. Účinnost této analýzy je závislá na distribuční konstantě analytu mezi plynnou a kapalnou nebo pevnou fází. Jestliže je rovnováha posunuta k plynné fázi, látka bude stanovena s větší citlivostí.

Headspace analýza může být prováděna dvěma způsoby. Pokud se vzorek nachází v rovnovážném stavu s plynnou fází v plynotěsné uzavřené nádobce, jde o statickou headspace analýzu. Po ustanovení rovnováhy je plynná fáze odebrána a nastříknuta na chromatografickou kolonu. K vytěsnění látek ze vzorku do parního prostoru je možné použít zvýšenou teplotu nebo zvýšit iontovou sílu vzorku pomocí vysolení. Pro dávkování se používají plynotěsné stříkačky nebo ventilované systémy s dávkovací smyčkou (Horák *et al.*, 2012).

Při dynamické headspace analýze dochází k probublávání inertního plynu vzorkem a vytěsněné těkavé látky se zachytávají na sorbentu. Poté je sorbent rychle zahřát a těkavé látky jsou tak uvolněny nebo desorbovány a nanесeny na kolonu plynového chromatografu (Churáček, 1990). Tato technika je obecně citlivější než statická headspace, protože probubláváním se podaří vytěsnit z matrice vzorku podstatně více analytů než u statického provedení (Horák *et al.*, 2012).

### **2.4.9 Peroxidové číslo**

Peroxidové číslo je jedním z parametrů kvality olejů. Jde o vhodné měřítko oxidace tuků (přepálenosti). Je ukazatelem obsahu primárních produktů oxidace tuku. Určuje se reakcí chloroformového extraktu vzorku tuku s jodidem draselným v roztoku

s kyselinou octovou a následnou titrací uvolněného jódu odměrným roztokem thiosíranu sodného (jodometrická titrace). Vyjadřuje se v  $\mu\text{val}$  na 1 gram tuku, v  $\mu\text{mol}$  ( $1/2 \text{ ROOH}$ ) nebo  $\mu\text{mol}$  ( $1/2 \text{ O}_2$ ) na gram tuku, případně v  $\mu\text{g}$  aktivního kyslíku ( $1/2 \text{ O}_2$ ) na 1 gram tuku (Príbela, 1991).

Peroxidové číslo se vypočítá podle rovnice:

$$\text{PČ} = \frac{1000 \cdot c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot (V_1 - V_2)}{m}$$

( $V_1$  je spotřeba titračního činidla při titraci se vzorkem,  $V_2$  je spotřeba při titraci bez vzorku a  $m$  je navážka oleje).

#### 2.4.10 Číslo kyselosti

Pro hodnocení kvality olejů se používá několik metod, které hodnotí různé kvalitativní ukazatele. Jednou z nich je též číslo kyselosti tuku. Číslo kyselosti tuku popisuje stupeň hydrolytického štěpení tuku, tedy jeho rozklad na glycerol a volné mastné kyseliny, čímž dochází ke zvýšení stupně kyselosti. Stanovuje se titračně alkalimetry. Dochází k titraci vyextrahovaného oleje, rozpuštěného v extrakčním činidlo (diethyletheru) odměrným roztokem hydroxidu draselného do růžového zabarvení. Jako acidobazický indikátor je použit fenolftalein. Číslo kyselosti se vyjadřuje v mg KOH spotřebovaného na 1g tuku ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ), (Príbela, 1991).

Číslo kyselosti se vypočítá podle rovnice:

$$\text{ČK} = \frac{56,11 \cdot c(\text{KOH}) \cdot V(\text{KOH})}{m}$$

( $m$  je navážka tuku v gramech,  $c$  je koncentrace hydroxidu draselného a  $V$  spotřeba hydroxidu draselného).

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Materiál

V rámci bakalářské práce byly jako rostlinný materiál využity genotypy máty klasnaté (*Mentha spicata*), bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) a tymiánu obecného (*Thymus vulgaris*), které byly vypěstovány na experimentální půdě Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i.v Olomouci a sklizeny v září roku 2018.

V experimentální části bakalářské práce se pracovalo s jedlými oleji dostupnými v maloobchodní síti. Konkrétně se jednalo o slunečnicový (Gold Plus), řepkový (BILLA) a extra panenský olivový olej (BILLA).

#### 3.2 Chemikálie

Benzen (Sigma-Aldrich, USA)

Diethylether (Sigma-Aldrich, USA)

Dichlormethan (Penta, s.r.o., Česká republika)

Dimethylsulfoxid (Sigma-Aldrich, USA)

2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl (Sigma-Aldrich, USA)

Fenolftalein (Sigma-Aldrich, USA)

Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma-Aldrich, USA)

Hydroxid draselný (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)

Chloroform (Penta, s.r.o., Česká republika)

Jodid draselný (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)

Kyselina gallová (Sigma-Aldrich, USA)

Kyselina octová (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)

Methanol ( $\geq 99,9\%$ , Honeywell, Německo)

Methanol (Sigma-Aldrich, USA)

Methoxid sodný (Sigma-Aldrich, USA)

Síran sodný bezvodý (Penta, s.r.o., Česká republika)

Standardní směs methyl esterů mastných kyselin Supelco 37 Component FAME Mix in dichlormethane (Supelco, Pensylvánie, USA)

Škrob

Thiosíran sodný (Penta, s.r.o., Česká republika)

Uhličitan sodný bezvodý p.a. (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika)

### **3.3 Přístrojové vybavení**

Analytické váhy ALJ 220-4 (Kern, Česká republika)

Analytické váhy EWB (Kern, Česká republika)

Automatické pipety (Eppendorf, Německo)

Automatické pipety BioPette Plus (Labnet, USA)

Centrifugační mikrozkušavky 2 ml (Eppendorf, Německo)

Chlazený centrifugační koncentrátor CentriVap (Labconco, USA)

Chromatograf Agilent 7890 A (Agilent Technologies, USA)

Krimpovací kleště (Macherey-Nagel, Německo)

Laboratorní digestoř (Merci, Česká republika)

Laboratorní sklo

Spektrofotometr (Boeco, Německo)

Topné hnízdo LTHS 1000 ml (Brněnská Drutěva, výrobní družstvo, Česká republika)

Ultrazvuková lázeň Sonorex Digitec (Bendelin, Německo)

Vařič (Sencor, Česká republika)

Vialky Clear 10 ml (Pragolab, Česká republika)

Vialky Clear 2 ml (Pragolab, Česká republika)

Vortex V-1 plus (Biosan, Litva)

Zkumavky 15 ml (Corning, Mexiko)

Zkumavky 50 ml (Corning, Mexiko)

## **3.4 Metody**

### **3.4.1 Příprava vzorků silic**

Pomocí hydrodestilace s využitím Clevengerovy aparatury byly izolovány silice máty klasnaté (*Mentha spicata*), bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) a tymiánu obecného (*Thymus vulgaris*). Vysušený a nadrcený rostlinný materiál o hmotnosti přibližně 50 g byl vložen do varné baňky a poté bylo přidáno 0,5 l vody. Baňka byla převedena na topné hnízdo a napojena na Clevengerův nástavec. Po dobu 1–2 hodin byl zahříván rostlinný materiál ve vodě k varu. Docházelo ke stoupání vody ze směsi do chladiče a následně k její kondenzaci a skapávání do kapiláry. Získaná silice byla dvakrát vytřepána do dimethylchloridu a spodní vrstva prezentující silici odebrána do kádinky. Pro odstranění přebytečné vody byl přidán přibližně 1 g síranu sodného a směs byla přefiltrována. Pro dokonalé odstranění veškeré vody byla využita digitální suchá lázeň nastavená na teplotu 40 °C. Takto získaná silice byla uschována do lednice až do jejího dalšího použití.

### **3.4.2 Příprava extraktů**

Pro přípravu methanolových extraktů byl vysušený a nadrcený rostlinný materiál o hmotnosti asi 10 gramů extrahován 50 ml 80% methanolu. Tuhá fáze byla řádně promíchána s rozpouštědlem a ponechána 10 minut v ultrazvukové lázni. Vzniklá směs byla přefiltrována a získaný extrakt uložen do lednice do dalšího měření.

### **3.4.3 Analýza složek silic pomocí GC-MS**

S využitím plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (Cavar *et al.*, 2008) bylo zjištěno procentuální zastoupení složek získané silice každé aromatické rostliny se zaměřením na fenolické látky a látky s antioxidační aktivitou. Pro analýzu bylo odebráno 0,5 ml izolované silice každé byliny a přidán 1 ml benzenu. Získané výsledky

byly vyhodnoceny pomocí programu Massfinder 4.51 – 11, Chemstation E. 02.02.1431 (Agilent Technologies, Inc.) a databáze (Adams, 2007).

Podmínky analýzy byly následující: typ použité kolony byl Agilent HP-5MS, stacionární fázi byl 5% fenyl methyl siloxan. Parametry kolony byly délka 30 m, průměr 0,25 mm a tloušťka filmu 0,25  $\mu\text{m}$ . Dávkovaný objem vzorku byl 1  $\mu\text{l}$ . Splitovací poměr byl 5:1. Průtok plynu byl 1,1 ml/min. Teplotní program byl 60–300  $^{\circ}\text{C}$  s nárůstem 3  $^{\circ}\text{C}$  za minutu. Teplota hmotnostního detektoru byla 230  $^{\circ}\text{C}$ , rozsah měření  $m/z$  byl 40–550 amu.

#### **3.4.4 Stanovení celkových fenolů**

Pomocí Folin-Ciocalteuovy metody (Singleton a Rossi, 1965) byly stanoveny celkové fenoly u rostlinných methanolových extraktů. Z takto připravených extraktů bylo odebráno 10  $\mu\text{l}$  (z extraktu bazalky právě 100  $\mu\text{l}$ ) a naředěno do 6 ml destilované vody do odměrné baňky. Poté bylo přidáno 500  $\mu\text{l}$  dvakrát naředěného roztoku Folin-Ciocalteova činidla. Po 5 minutách se přidalo 1,5 ml 20% uhličitanu sodného a vzorky byly doplněny destilovanou vodou na 10 ml. Připravené vzorky byly inkubovány ve tmě 2 hodiny při laboratorní teplotě a poté se změřila absorbance při 765 nm. Kalibrační křivka byla připravena ředěním zásobního roztoku kyseliny gallové o koncentraci 1  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  (25  $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 50  $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 75  $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 100  $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 250  $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 500  $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 1000  $\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalenty kyseliny gallové (GAE) na gram suchého rostlinného materiálu.

#### **3.4.5 Stanovení antioxidační aktivity silic a extraktů**

Ke stanovení antioxidační aktivity silic a extraktů (Cavar *et al.*, 2008) byl ze zásobního roztoku DPPH ( $c = 1 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) v methanolu připraven pracovní roztok o koncentraci  $c = 5,25\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . K analýze bylo pipetováno 1 ml pracovní směsi a 50  $\mu\text{l}$  vzorku. Vzorky extraktů pro měření byly 100x zředěny 80% methanolem. Vzorky rostlinných silic byly zředěny DMSO (dimethylsulfoxid) na výslednou koncentraci 50  $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Kalibrační řada standardu kyseliny gallové byla připravena ředěním zásobního roztoku kyseliny gallové o koncentraci 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . (rozpuštěním navážky pevného standardu v destilované vodě. Roztoky 0,5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 15  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 10  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 25  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 50  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,

75  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 100  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  byly získány postupným ředěním zásobního roztoku destilovanou vodou. Úbytek absorbance byl měřen spektrofotometricky při vlnové délce  $\lambda = 517 \text{ nm}$  pro zjištění celkové antioxidační aktivity po 30 minutách. Docházelo k redukci barevného stabilního radikálu DPPH na bezbarvou molekulu v přítomnosti antioxidantů s antiradikálovou aktivitou. Úbytek absorbance byl vyjádřen v % a pomocí kalibrační křivky přepočten na ekvivalentní množství kyseliny gallové odpovídající 1 ml extraktu nebo silice ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

### **3.4.6 Příprava vzorků jedlých olejů a jejich tepelná úprava**

Vzorky jednotlivých jedlých olejů byly připraveny přidáním rostlinné silice či BHT s výslednou koncentrací 100  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Jako kontrolní vzorky byly použity oleje bez příměsí.

Každá takto připravená směs podléhala tepelné úpravě (procesu smažení) po dobu 30 minut ve třech opakováních. Směs byla zahřívána na minimální teplotu 160  $^{\circ}\text{C}$  na vařiči a po dosažení této teploty bylo přidáno vždy 20 g bramborových kostek. Po každých 30 minutách se nechala směs vychladnout a poté došlo ke stanovení peroxidového čísla, čísla kyselosti a byly odebrány 2 ml vzorku do Eppendorf zkumavek, které byly následně uschovány do mrazáku pro další měření.

### **3.4.7 Stanovení celkových mastných kyselin**

Pro stanovení celkových mastných kyselin bylo pracováno podle Carvalho a Malcata, (2005). Bylo odebráno přibližně 25 mg smaženého oleje, který byl zahříván 90 minut. K tomuto množství bylo přidáno 500  $\mu\text{l}$  0,5  $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  methoxidu sodného v methanolu. Tato směs byla vortexována 5 sekund a následně ponechána stát při pokojové teplotě 5 minut. Poté byl každý vzorek dvakrát extrahován 500  $\mu\text{l}$  hexanu a odpařen pomocí vakuové odparky při 35  $^{\circ}\text{C}$  (10 min). K odparkům bylo přidáno 1000  $\mu\text{l}$  hexanu a tento vzorek byl ještě 50x zředěn hexanem. Vzorky byly převedeny do vialek a analyzovány pomocí GC-MS. Koncentrace jednotlivých mastných kyselin byly vyhodnoceny pomocí programu Massfinder 4.51 – 11. Hodnoty pak byly převedeny na procentuální množství ve vzorku.



Podmínky analýzy byly následující: typ použité kolony byl Agilent HP-5MS, stacionární fázi byl 5% fenyl methyl siloxan. Parametry kolony byly délka 30 m, průměr 0,25 mm a tloušťka filmu 0,25  $\mu\text{m}$ . Dávkovaný objem vzorku byl 2  $\mu\text{l}$ . Splitovací poměr byl 5:1. Průtok plynu byl 1,1  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ . Teplotní program byl 40–200  $^{\circ}\text{C}$  s nárůstem 10  $^{\circ}\text{C}$  za minutu, poté 200–250  $^{\circ}\text{C}$  s nárůstem 2  $^{\circ}\text{C}$  za minutu a potom 250–300  $^{\circ}\text{C}$  s nárůstem 20  $^{\circ}\text{C}$  za minutu. Teplota hmotnostního detektoru byla 230  $^{\circ}\text{C}$ , rozsah měření  $m/z$  byl 40–540 amu. Identifikace proběhla podle autentických standardů.

### 3.4.8 Stanovení peroxidového čísla

Ke stanovení peroxidového čísla bylo vycházeno z publikace Bačovské *et al.* (2017). Nejprve byla připravena směs chloroformu a kyseliny octové v poměru 1:1,5. Do Erlenmeyerovy baňky byly naváženy 3 g vzorku oleje s přesností na 0,0001 g. Poté se přililo 10 ml směsi chloroform- kyselina octová, 1 ml roztoku KI (5 g se rozpustilo v 5 ml vody) a takto připravený vzorek byl uschován na 20 minut na tmavé místo. Po 20 minutové inkubaci se přidalo 10 ml vody a 5 ml škrobového mazu. Směs byla titrována odměrným roztokem 0,005  $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  thiosíranu sodného do odbarvení vrchní (vodní) vrstvy. Spotřeba titračního činidla byla zapsána a hodnota dosazena do vzorce pro výpočet peroxidového čísla. Slepý pokus byl proveden stejným způsobem jako stanovení vzorku s tím, že se zkušební vzorek vynechal. Peroxidové číslo bylo stanoveno vždy ve třech opakováních.

### 3.4.9 Stanovení čísla kyselosti

Pro stanovení čísla kyselosti bylo vycházeno z publikace Bačovské *et al.* (2017). Nejprve byly odváženy 3 g vzorku jedlého oleje s přesností na 0,0001 g a vzorek byl kvantitativně převeden do titrační baňky o objemu 250 ml. Do baňky se přidalo 25 ml diethyletheru a 1 ml fenolftaleinu. Vzorek byl 1 minutu třepán a poté titrován odměrným roztokem hydroxidu draselného o koncentraci 0,005  $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  v ethanolu do slabě růžového zbarvení. Spotřeba titračního činidla byla dosazena do vzorce pro výpočet čísla kyselosti. Číslo kyselosti bylo stanoveno vždy ve třech opakováních podle Bačovské *et al.* (2017).

### 3.4.10 Headspace analýza oxidačních produktů smažení

K analýze headspace byly využity vzorky tepelně upravených brambor, které podléhaly procesu smažení po dobu 30 minut třetího cyklu. Tyto brambory byly rozetřeny v misce tloučkem a poté odebráno 5 g do 10 ml vialek, které byly utěsněny krimpovacími kleštěmi. Jako kontrolní vzorek bylo odebráno 5 g nadrcených brambůrků zakoupených v maloobchodní síti (Bohemia Chips jemně solené). Pomocí plynové chromatografie byla provedena analýza headspace pro detekci a kvantifikaci akroleinu ve smažených bramborách. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu Massfinder 4.51 – 11 a Chemstation E. 02.02.1431 (Agilent Technologies, Inc.).

Podmínky analýzy byly následující: typ použité kolony byl Agilent HP-5MS, stacionární fáze byl 5% fenyl methyl siloxan. Parametry kolony byly délka 30 m, průměr 0,25 mm a tloušťka filmu 0,25  $\mu\text{m}$ . Splitovací poměr byl 2:1. Průtok plynu byl 1,5 ml/min. Teplotní program byl 40–240  $^{\circ}\text{C}$  s nárůstem 25  $^{\circ}\text{C}$  za minutu. Teplota hmotnostního detektoru byla 230  $^{\circ}\text{C}$ , rozsah měření  $m/z$  byl 29–230. Teplota byla 80  $^{\circ}\text{C}$  a inkubační doba 15 minut.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 4.1 Analýza silic aromatických bylin

Pomocí plynové chromatografie byla provedena analýza a identifikace složek silic aromatických bylin. Bylo získáno procentuální zastoupení složek získané silice každé aromatické rostliny. Získané výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu Massfinder 4.51 – 11, Chemstation E. 02.02.1431 (Agilent Technologies, Inc.) a databáze Adams (Adams, 2007). Jednotlivé složky byly seřazeny dle retenčních časů do tabulky (Tab. 1).

U máty klasnaté bylo pomocí plynové chromatografie identifikováno celkem 31 sloučenin. Největší procentuální zastoupení bylo očekáváno u oxidu piperitonu (Velíšek a Hajšlová, 2009a), což se analýzou také potvrdilo. V dané silici byl obsah oxidu piperitonu 57,31 %. Vysoký obsah vykazoval také 1,8- cineol s obsahem 14,01 %, který je považován za antioxidační látku. Mezi další významné látky s antioxidační aktivitou obsažené v silici máty patří hlavně monoterpeny, jako karvon, myrcen, linalool, menthol a limonen (Lawrence, 2006). V daném vzorku byly identifikovány myrcen s procentuálním zastoupením 5,18 %, limonen (4,08 %) a linalool (0,23 %).

Analýzou silice bazalky pravé bylo identifikováno 50 sloučenin. Hlavní složky bazalkové silice tvoří převážně methylchavikol, linalool, eugenol, ocimen a estragol (Hiltunen, 1999), které jsou také významné antioxidanty. U daného vzorku silice bazalky pravé vykazoval nejvyšší obsah linalool s 53,99 %. Silice dále obsahovala významné antioxidační látky jako myrcen (0,6 %),  $\beta$ -Ocimen (0,56 %), eukalyptol (8,36 %), eugenol (2,67 %) a methyleugenol (0,12 %).

U námi získaného vzorku silice tymiánu obecného bylo zjištěno 42 sloučenin. Hlavními obsahovými složkami jsou karvakrol, geraniol, cymol a nejdůležitější thymol. Další významné látky obsažené v silici tymiánu obecného jsou thymol methylether, cymen,  $\alpha$ -pinen, borneol a další (Hui, 2010). Nejvyšší obsah zaujímal thymol (50,64 %), který je také jeden z nejvýznamnějších antioxidantů nejen tymiánu. Vysoké procento zaujímaly také *p*-cymen (15,93 %) a  $\Upsilon$ -terpinene (10,92 %). Dalšími antioxidačními látkami v daném vzorku byly látky jako myrcen (1,66 %), eukalyptol (0,25 %),  $\beta$ -ocimen (0,07 %), linalool (1,54 %) thymol methyl ether (0,06 %) a karvakrol (2,77 %).

Tab. 1 Procentuální zastoupení jednotlivých složek v silici máty klasnaté (značené M), bazalky pravé (B) a tymiánu obecného (T)

	Látka	RI*	RI A.**	M (%)	B (%)	T (%)
1	(Z)-3-hexenal		797		0,06	
2	tricyklen	922	921			0,03
3	$\alpha$ -thujen	952	924			0,82
4	$\alpha$ -pinen	932	932	0,90	0,43	0,81
5	kamfen	947	946		0,17	0,60
6	sabinen	972	969	0,78	0,37	
7	okten-3-ol	976	974			0,83
8	$\beta$ -pinen	976	974	1,98	1,98	
9	3-oktanon	985	979			0,03
10	myrcen	990	988	5,18	0,60	1,66
11	3-oktanol	994	988	0,46		0,06
12	$\alpha$ -felandren	1005	1002			0,29
13	$\delta$ -3-karen	1010	1008			0,12
14	$\alpha$ -terpinen	1016	1014	0,15	0,10	2,35
15	<i>o</i> -cymen	1023	1022		0,09	
16	limonen	1027	1024	4,08		
17	<i>p</i> -cymen	1028	1020			15,93
18	sylvestren	1030	1025			0,62
19	eukalyptol	1030	1026	14,01	8,36	0,25
20	(Z)- $\beta$ -ocimene	1035	1032	0,58		
21	(E)- $\beta$ -ocimene	1046	1044		0,56	0,07
22	$\gamma$ -terpinen	1056	1054	0,24	0,14	10,92
23	<i>cis</i> -sabinen hydrát	1066	1065		0,09	0,43
24	<i>cis</i> -linalool oxid	1071	1067		0,14	
25	terpinolen	1087	1086	0,19	0,32	
26	fenchon	1088	1083			0,45
27	linalool	1099	1095	0,23	53,99	1,54
28	okt-1-en-3-yl acetát	1111	1110	0,11	0,12	
29	<i>cis</i> -menth-2-en-1-ol	1120	1118			0,03
30	(E)-myroxid	1142	1140		0,81	
31	kafr	1143	1141		0,88	0,05
32	borneol	1164	1165		0,83	0,12
33	$\delta$ -terpineol	1165	1162	0,71		
34	terpinen-4-ol	1175	1174	0,65	0,84	1,13
35	<i>p</i> -cymen-8-ol	1183	1179	0,12	0,12	
36	$\alpha$ -terpineol	1189	1186	0,32	1,17	0,11
37	myrtenal	1194	1195	0,24		
38	oktyl acetát	1212	1211		0,28	0,28

Tab. 2 Procentuální zastoupení jednotlivých složek v silici máty klasnaté (značené M), bazalky pravé (B) a tymiánu obecného (T), (pokračování)

	Látka	RI*	RI A.**	M (%)	B (%)	T (%)
39	1-methoxy-3-methyl-2-vinylbenzen	1214	1219	0,49		
40	thymol methyl ether	1234	1232			0,06
41	hexenyl-2-methyl-butanoát	1235	1229	0,20		
42	karvakrol methyl ether	1243	1241			0,92
43	<i>cis</i> -piperiton epoxid	1253	1250	0,22		
44	geraniol	1254	1249		0,50	0,50
45	( <i>E</i> )-anetol	1285	1282			0,07
46	bornyl acetát	1285	1287		3,01	
47	thymol	1306	1298			50,64
48	karvakrol	1311	1298			2,77
49	piperitenon	1338	1340	0,21		
50	thymol acetát	1355	1349			0,14
51	eugenol	1357	1356		2,67	
52	piperiton oxid	1370	1366	57,31		
53	$\alpha$ -kopaen	1374	1374		0,16	
54	$\beta$ -kubeben	1388	1387		0,10	
55	$\beta$ -elemen	1391	1389		1,36	
56	methyl eugenol	1404	1403		0,12	
57	karyofylen	1417	1417	2,69	0,20	1,87
58	$\beta$ -gurjunen	1429	1431		0,11	
59	$\alpha$ - <i>trans</i> -bergamoten	1435	1432		2,96	
60	$\alpha$ -guaien	1437	1437		0,62	
61	<i>cis</i> -muurolo-3,5-dien	1444	1448	0,19	0,11	
62	$\alpha$ -humulen	1451	1452		0,52	0,07
63	( <i>E</i> )- $\beta$ -farnesen	1456	1454	0,18	0,11	
64	<i>cis</i> -kadina -1,4-dien	1460	1461	0,37	0,33	
65	geranyl propanoát	1475	1476			0,13
66	$\gamma$ -muurolen	1478	1478	2,39	2,43	
67	bicyklogermakren	1493	1500	0,29	0,33	
68	viridifloren	1497	1496		0,16	
69	$\alpha$ -blunesen	1504	1509		1,87	
70	$\Upsilon$ -kadinen	1512	1513		1,51	0,10
71	<i>trans</i> -kalamenen	1519	1521	0,22		
72	$\delta$ -kadinen	1522	1522			0,12
73	$\beta$ -seskvihellandren	1522	1521		0,33	
74	maalialkohol	1563	1566		0,73	
75	spathulenol	1574	1577		0,32	
76	karyofylen oxid	1580	1582			0,64

Tab. 3 Procentuální zastoupení jednotlivých složek v silici máty klasnaté (značené M), bazalky pravé (B) a tymiánu obecného (T), (pokračování)

	Látka	RI*	RI A.**	M (%)	B (%)	T (%)
77	1,10-diepikubenol	1612	1618		0,80	
78	seskvilavandulol	1630	1631			0,04
79	cedrenalon	1640	1638		5,23	0,18
80	$\beta$ -endesmol	1647	1649		0,18	
81	$\alpha$ -kadinol	1651	1652	0,13	0,29	
82	4-hydroxy-karyofylen	1668	1666			0,05
83	shyobunol	1686	1688			0,06
	Suma			95,82	99,51	97,89

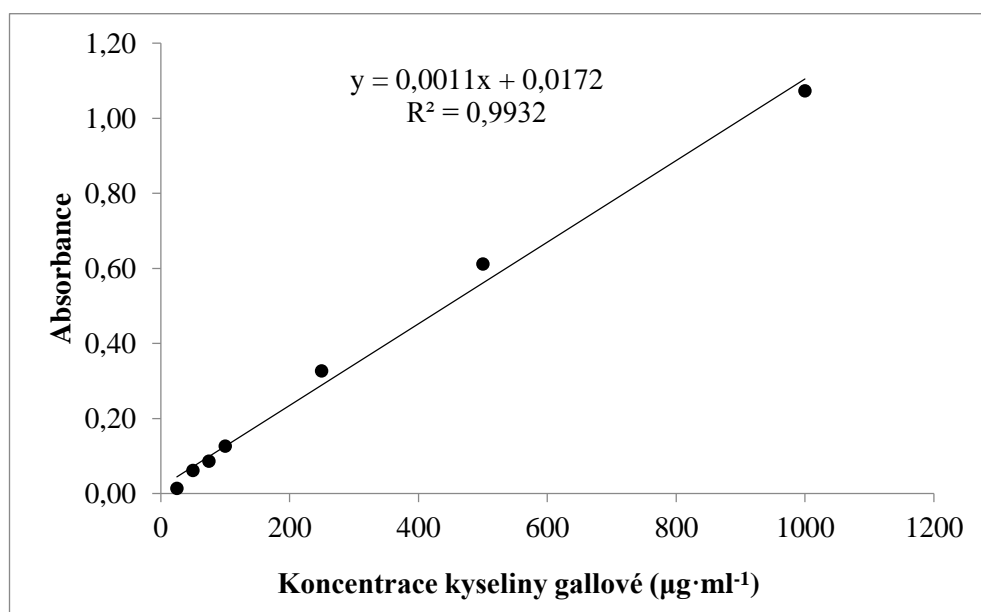
\*RI – Experimentálně zjištěný retenční index dané látky

\*\*RI A – Retenční index dle databáze Adams

## 4.2 Stanovení celkových fenolů

Pomocí Folin-Ciocalteuovy metody byly stanoveny celkové fenoly u rostlinných methanolických extraktů. Kalibrační křivka byla sestavena ředěním zásobního roztoku kyseliny gallové (Obr. 8). Množství fenolických látek v extraktu jako ekvivalenty kyseliny gallové na gram suchého rostlinného materiálu je znázorněno v tabulce (Tab. 2).

Stanovením celkových fenolických látek u extraktů bylo zjištěno, že nejvyšší obsah těchto látek vykazoval extrakt máty klasnaté. Hodnota celkových fenolů byla asi pětkrát vyšší než u extraktu bazalky pravé a asi dvakrát vyšší než u extraktu z tymiánu obecného. Nejnižší obsah fenolických látek byl očekáván u extraktu bazalky pravé (Del Re a Jorge, 2001), což bylo experimentem potvrzeno.



Obr. 11 Graf kalibrační křivky kyseliny gallové.

Tab. 4 Celkové množství fenolických látek extraktů máty klasnaté (M), bazalky pravé (B) a tymiánu obecného (T), (n=3)

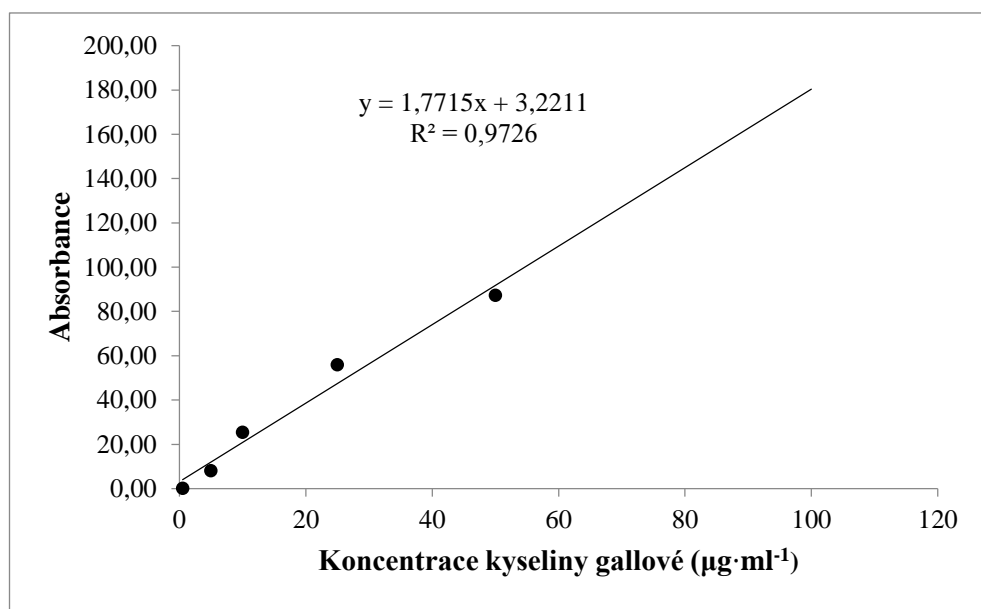
Vzorek	Množství fenolických látek (mgGAE·gDW <sup>-1</sup> )	SD
Máta klasnatá	11,869	1,118
Bazalka pravá	2,513	0,093
Tymián obecný	4,925	1,380

### 4.3 Stanovení antioxidační aktivity extraktů a silic

Antioxidační aktivita silic a extraktů byla stanovena pomocí DPPH metody. Kalibrační křivka byla sestavena ředěním zásobního roztoku kyseliny gallové (Obr. 12). Úbytek absorbance byl vyjádřen v % a pomocí kalibrační křivky přepočten na ekvivalentní množství kyseliny gallové odpovídající 1 ml extraktu nebo silice ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

Jestliže se vycházelo z předpokladu, že množství fenolických látek ve vzorku je přímo úměrné antioxidační aktivitě (Fallarero *et al.*, 2003; Kuskoski *et al.*, 2005), pak se očekávalo, že nejvyšší antioxidační aktivitu bude vykazovat extrakt máty klasnaté, neboť v něm bylo detekováno nejvyšší množství těchto látek. Metodou DPPH byly předpoklady potvrzeny a nevyšší antioxidační aktivitu vykazoval 100x zředěný extrakt máty klasnaté ( $14,46 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

Přesto, že bylo očekáváno, že obdobně jako u extraktů bude mít silice máty nejlepší antioxidační vlastnosti (Kamkar *et al.*, 2010), experimentem bylo zjištěno, že právě tato silice vykazuje hodnoty antioxidační aktivity nejnižší. Nejlepším antioxidantem se u silic jevila silice z bazalky pravé s hodnotou  $35,41 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Silice z máty pak vykazovala nejslabší antioxidační vlastnosti. Antioxidační aktivity extraktů a silic jsou vyznačeny v tabulce (Tab. ).



Obr. 12 Graf kalibrační křivky kyseliny gallové.



Tab. 3 Hodnota antioxidační aktivity 100x zředěných vzorků extraktů a silic máty klasnaté, bazalky pravé a tymiánu obecného, (n=3)

Vzorek	Antioxidační aktivita cGAE ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ )*	
	Extrakt	Silice
Máta klasnatá	14,46 ± 0,78	14,1 ± 1,51
Bazalka pravá	4,73 ± 0,27	35,41 ± 1,39
Tymián obecný	6,31 ± 0,62	28,12 ± 2,04

\*cGAE ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) - Antioxidační aktivita jednotlivých vzorků vyjádřených jako ekvivalentní množství kyseliny gallové odpovídající 1 ml extraktu nebo silice

#### 4.4 Stanovení celkových mastných kyselin

Po derivatizaci mastných kyselin, kdy byly analyty převedeny na estery, proběhla samotná analýza pomocí GC-MS. Jednotlivé složky byly následně přepočítány opět na mastné kyseliny, čímž bylo získáno procentuální zastoupení těchto kyselin v jednotlivých vzorcích s oleji a antioxidanty.

Výchozí předpoklad, že během smažení nedochází k výrazné změně koncentrace jednotlivých mastných kyselin v olejích a obdobně se nemění ani složení těchto olejů, pokud jsou obohaceny o silici aromatické byliny (Miguel *et al.*, 2014) byl experimentem potvrzen. Rozdíly mezi složením samotných olejů a olejů obohacených o bylinnou silici, které podléhaly tepelné úpravě, nebyly příliš výrazné v případě vzorků obsahujících slunečnicový a řepkový olej. U vzorků s olivovým olejem bylo vyzorováno, že přidávkem antioxidantů se zastoupení mastných kyselin měnilo. Koncentrace mastných kyselin byly porovnány s hodnotami dřívějšího experimentu (Carvahlo a Malcata, 2005), výsledky jsou srovnatelné. Vzorky s oleji mezi sebou se lišily pouze v dominující mastné kyselině.

Z tabulky (Tab. 4) je možné pozorovat, že ve vzorcích se slunečnicovým olejem byla dominující mastnou kyselinou kyselina linolová, což odpovídá literárním údajům (Miguel *et al.*, 2014).

U vzorků s řepkovým olejem převládala kyselina olejová (Tab. 5) obdobně, jak bylo očekáváno u vzorků, které obsahovaly olivový olej (Miguel *et al.*, 2014). Analýzou GC-MS bylo potvrzeno, že v olivovém oleji dominuje kyselina olejová (Tab. 6).

Tab. 4 Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorcích obsahujících tepelně zpracovaný slunečnicový olej (S) a tento olej obohacený o BHT (BHT), silici máty (M), silici bazalky (B) a silici tymiánu (T), (n=3)

Mastná kyselina	Rt (min)	S (%)	BHT (%)	M (%)	B (%)	T (%)
Kyselina palmitová	19,869	4,69	4,55	4,46	4,54	4,58
Kyselina palmitoolejová	20,150	5,73	5,81	5,65	5,77	5,80
Kyselina linolová	22,942	60,42	59,94	60,05	57,30	58,90
Kyselina olejová	23,062	19,34	19,18	19,03	19,52	20,31
Kyselina linolelaidová	23,080	6,53	6,58	6,33	6,79	7,00
Kyselina stearová	23,549	3,30	3,21	3,18	3,32	3,40
Kyselina arachidinová	28,132		0,73		0,75	
Suma		100,00	100,00	98,69	98,00	100,00

Tab. 5 Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorcích obsahujících tepelně zpracovaný řepkový olej (R) a tento olej obohacený o BHT (BHT), silici máty (M), silici bazalky (B) a silici tymiánu (T), (n=3)

Mastná kyselina	Rt (min)	R (%)	BHT (%)	M (%)	BHT (%)	T (%)
Kyselina palmitová	19,869	3,76	3,54	3,43	3,87	3,58
Kyselina palmitoolejová	20,150	4,60	4,50	4,19	4,72	4,26
Kyselina linolová	22,942	16,46	16,98	13,99	16,73	15,55
Kyselina olejová	23,062	54,77	54,37	55,54	53,99	52,85
Kyselina linolelaidová	23,080	15,17	16,31	17,77	16,93	16,74
Kyselina trans-olejová	23,062	0,78	1,14	1,18		0,97
Kyselina stearová	23,549	2,26	2,14	2,33	2,37	2,25
Kyselina arachidinová	28,132	1,24	1,04	1,57	1,39	1,40
Suma		99,04	100,000	100,000	100,000	97,599

Tab. 6 Procentuální zastoupení mastných kyselin ve vzorcích obsahujících tepelně zpracovaný olivový olej (O) a tento olej obohacený o BHT (BHT), silici máty (M), silici bazalky (B) a silici tymiánu (T), (n=3)

Mastná kyselina	Rt (min)	O (%)	BHT (%)	M (%)	B (%)	T (%)
Kyselina palmitová	19,869		1,37	1,25		1,05
Kyselina palmitoolejová	20,150	14,12	12,34	11,75	11,84	11,22
Kyselina linolová	22,942	5,12	5,07	4,18	4,24	4,00
Kyselina olejová	23,062	75,47	59,08	61,51	61,44	61,00
Kyselina linolelaidová	23,080		16,99	17,42	17,38	17,05
Kyselina trans-olejová	23,062	0,49	0,69		0,93	0,81
Kyselina stearová	23,549	4,80	3,68	3,89	4,17	3,86
Kyselina arachidinová	28,132		0,78			1,02
Suma		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

## 4.5 Stanovení peroxidového čísla

Analytickou titrací bylo provedeno stanovení peroxidového čísla. Po dosazení spotřeby titračního činidla do vzorce pro výpočet peroxidového čísla byly získány hodnoty pro každý olej, ať už čistý, nebo obohacený o přírodní či syntetický antioxidant během tepelné úpravy (smažení).

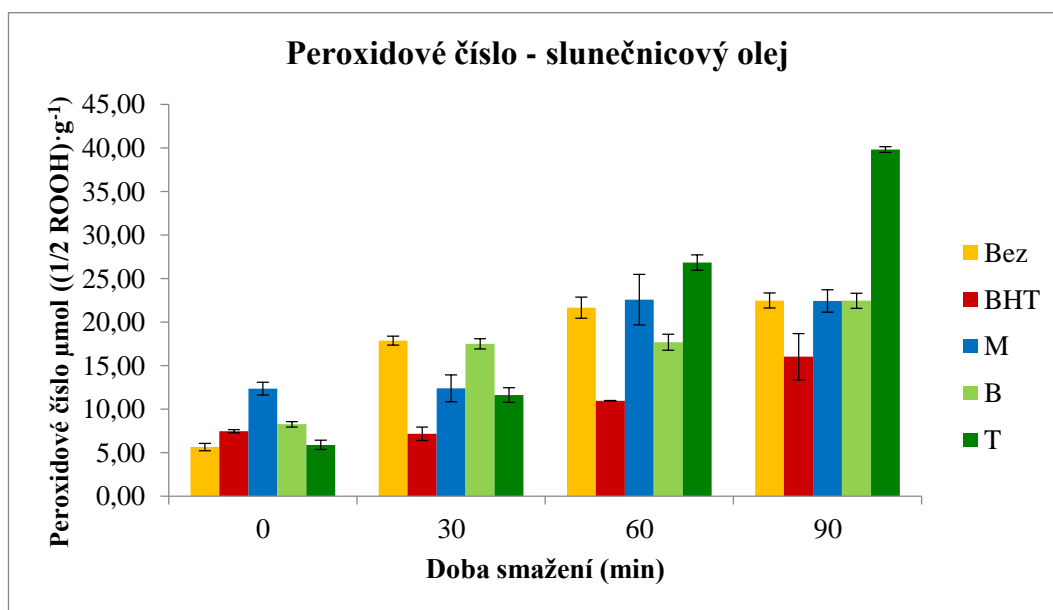
Obdobně jako u skladování, tak i u tepelné úpravy jedlých olejů dochází k nežádoucím degradačním procesům, které se projevují na jejich kvalitě. Jedním z parametrů kvality olejů je peroxidové číslo, u kterého jsem předpokládala, že se s délkou tepelné úpravy bude zvyšovat, neboť dochází k přepalování oleje, řadě oxidačních procesů a jeho degradaci (Kamkar *et al.*, 2010). Peroxidové číslo čerstvých olejů se má pohybovat v rozmezí od 0,8 do 10  $\mu\text{mol}$  ( $1/2 \text{ ROOH}$ ) na gram tuku. Pokud je hodnota peroxidového čísla vyšší, tak se může jednat např. o žluklé tuky, tuky po smažení, silně oxidované tuky apod. (Kroschwitz a Winokur, 1990).

U jednotlivých vzorků se výsledné peroxidové číslo pohybuje v průměru v rozmezí od 3 do 39,8  $\mu\text{mol}$  ( $1/2 \text{ ROOH}$ ) na gram tuku. Na základě zjištěných informací můžeme tvrdit, že u vzorků je patrný proces oxidace.

Ve všech případech byl pozorován očekávaný trend nárůstu peroxidového čísla s délkou tepelné úpravy oleje. Nejvyšší hodnoty peroxidového čísla vykazoval slunečnicový olej a olivový olej naopak hodnoty nejnižší. Vysoké hodnoty peroxidového čísla mohou být důsledkem chemického složení oleje a podílu nenasycených mastných kyselin. U slunečnicového oleje je dominující kyselina linolová (Tab. 4). Ta je oproti kyselině olejové, která zaujímá nejvyšší procento u oleje řepkového (Tab. ) a olivového (Tab. ), méně stabilní, a proto oxidačním procesům podléhá nejvíce slunečnicový olej.

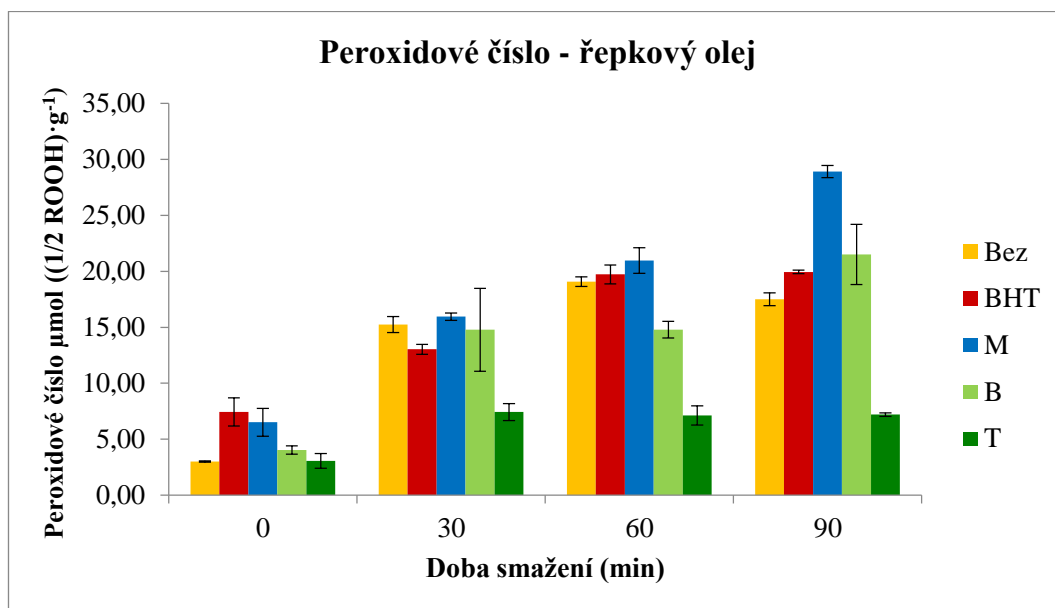
Z předchozích experimentů bylo předpokládáno, že silice z bazalky, díky svým antioxidačním vlastnostem, bude nejvíce potlačovat oxidační procesy během smažení oleje, a tím pádem budou hodnoty peroxidového čísla nižší než u olejů obohacených o jiný přírodní antioxidant, případně u kontroly (olej bez příměsi). Avšak slunečnicový olej s přidávkem silice z bazalky jevil srovnatelné hodnoty peroxidového čísla jako u kontroly. Nedošlo tedy k výrazné inhibici oxidačních procesů během smažení.

Jako nejlepší antioxidant se u slunečnicového oleje jevil syntetický butylhydroxytoluen, protože u tohoto oleje byly pozorovány nejnižší hodnoty peroxidového čísla po celou dobu tepelné úpravy. Naopak přídavek tymiánové silice byl důsledkem vysokých hodnot peroxidového čísla, a to především při třetím opakování zahřívání oleje. Vysvětlením může být vysoká koncentrace thymolu v tymiánu, neboť v takovémto případě se thymol může chovat jako prooxidant (Ozkan a Erdogan, 2012). Závislost peroxidového čísla na délce tepelné úpravy je popsána v grafu (Obr. 13).



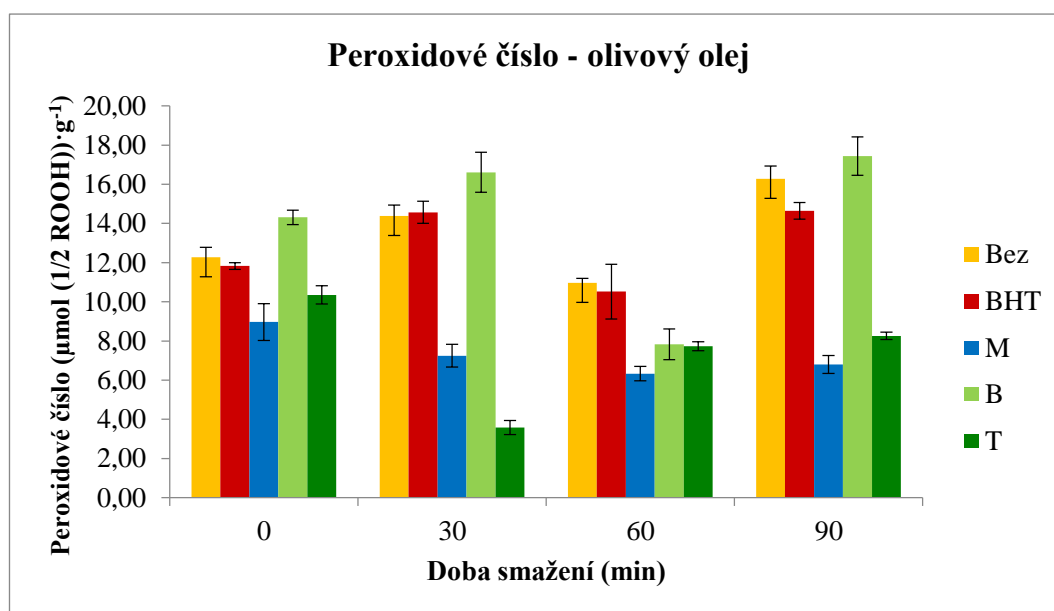
Obr. 13 Graf závislosti peroxidového čísla na délce tepelné úpravy u slunečnicového oleje. Kontrolou je olej bez příměsí (Bez) značen žlutě, olej obohacen o BHT (BHT) značen červeně. Olej s příměsí máty (M) je značen modře, s příměsí bazalky (B) světle zeleně a olej obohacený o silici tymiánu (T) tmavě zeleně, (n=3).

Z grafu závislosti peroxidového čísla na délce tepelné úpravy u řepkového oleje (Obr. 14) je možné pozorovat, že jako nejlepší antioxidant se zde jevila silice z tymiánu, neboť hodnoty peroxidového čísla u takto obohaceného oleje byly po celou dobu nejnižší. V tomto případě došlo k inhibici oxidačních procesů oproti kontrole nejvíce a silice z tymiánu může být považována za vhodné přírodní antioxidantní aditivum pro řepkový olej.



Obr. 14 Graf závislosti peroxidového čísla na délce tepelné úpravy u řepkového oleje. Kontrolou je olej bez příměsí (Bez) značen žlutě, olej obohacen o BHT (BHT) značen červeně. Olej s příměsí máty (M) je značen modře, s příměsí bazalky (B) světle zeleně a olej obohacený o silici tymiánu (T) tmavě zeleně, (n=3).

I přesto, že olivový olej vykazoval nejnižší hodnoty peroxidového čísla, ke smažení se spíše nepoužívá. Nebyl zde pozorován trend nárůstu v závislosti na délce tepelné úpravy, což je nejen důsledkem chemického složení oleje, ale i složení přidaných aditiv a jejich vzájemné interakce během tepelné úpravy. Tyto vlivy přispívají k nestabilitě tohoto oleje (Dorman *et al.*, 2000). Za vhodné antioxidanty se v tomto případě mohou považovat silice z máty klasnaté a tymiánu obecného, protože hodnoty peroxidového čísla u takto obohacených olejů byly oproti kontrole nižší po celou dobu tepelné úpravy. Závislost peroxidového čísla na délce tepelné úpravy je popsána v grafu (Obr. 15Obr. 13).



Obr. 15 Graf závislosti peroxidového čísla na délce tepelné úpravy u olivového oleje. Kontrolou je olej bez příměsí (Bez) značen žlutě, olej obohacen o BHT (BHT) značen červeně. Olej s příměsí máty (M) je značen modře, s příměsí bazalky (B) světle zeleně a olej obohacený o silici tymiánu (T) tmavě zeleně, (n=3).

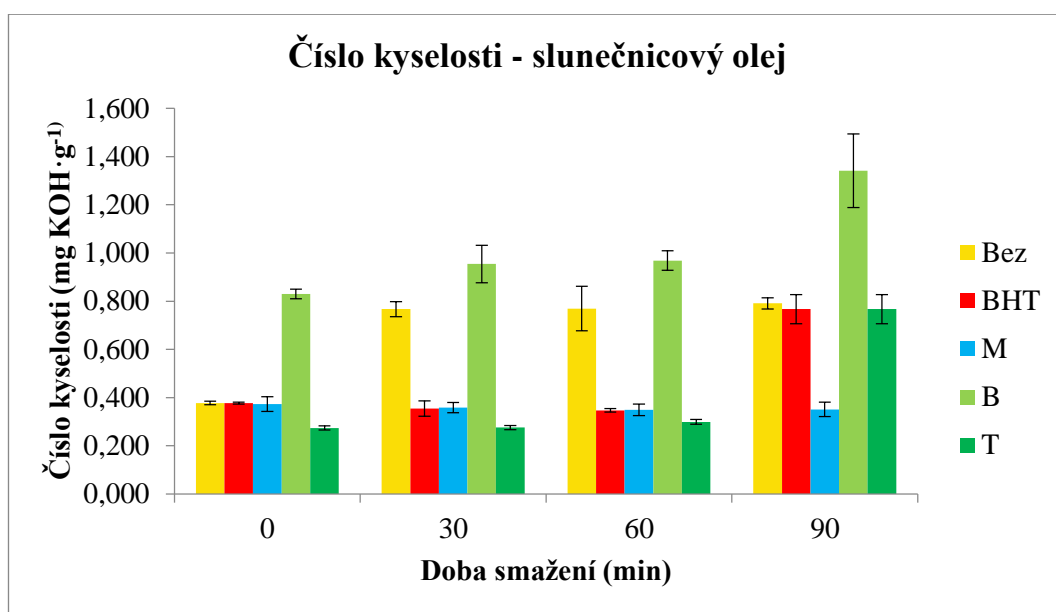
## 4.6 Stanovení čísla kyselosti

Dalším parametrem pro hodnocení kvality olejů je číslo kyselosti. Číslo kyselosti popisuje míru degradace olejů během jeho skladování. Během skladování dochází k hydrolytickému štěpení tuků, tedy jeho rozkladu na glycerol a volné mastné kyseliny, čímž dochází ke zvýšení stupně kyselosti. K hydrolytickým procesům dochází taktéž při tepelné úpravě, tedy při smažení (Chung *et al.*, 2004). Předpokládala jsem, že během experimentu dojde k obdobnému nárůstu čísla kyselosti během tepelné úpravy jedlých olejů, jako při skladování olejů. Číslo kyselosti čerstvých rostlinných olejů nemá být vyšší než 2,5 mg KOH.g<sup>-1</sup> tuku (Bečka, 2007).

Číslo kyselosti ve všech případech během tepelné úpravy olejů mírně rostlo, pouze u olivového oleje přesahovalo limitní hodnotu 2,5 mg KOH na gram tuku. Patel *et. al.* (2014) prováděli obdobný experiment s oleji obohacenými o přírodní antioxidanty. V jejich experimentu se hodnoty čísla kyselosti s délkou tepelné úpravy olejů neměnily. Zdá se tedy, že přidané antioxidační látky sice mohou snižovat hodnotu čísla kyselosti, ale s délkou smažení nemají na číslo kyselosti vliv.

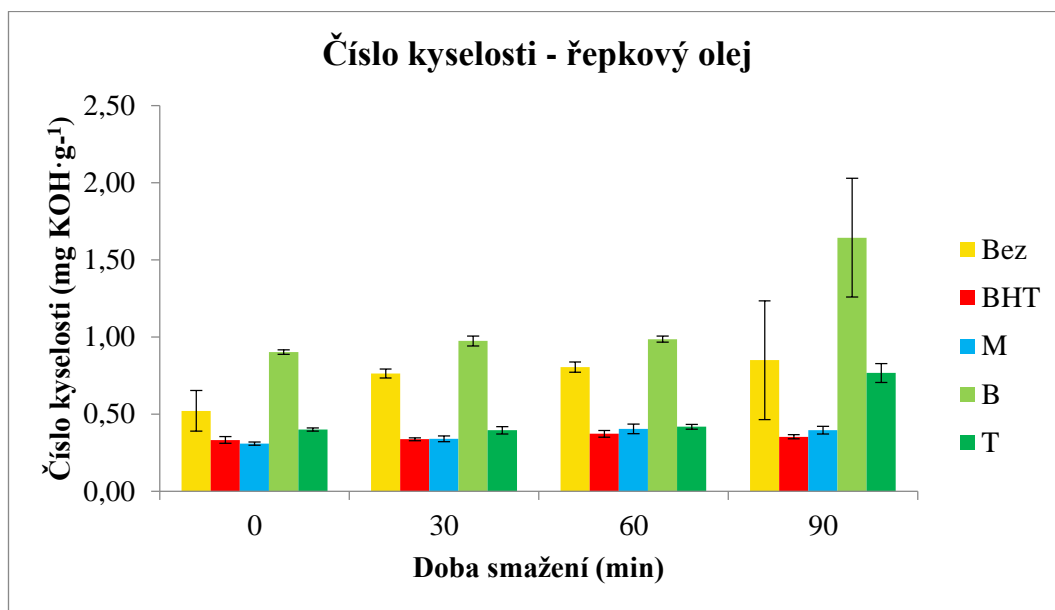
Závislost čísla kyselosti na délce tepelné úpravy slunečnicového oleje je znázorněna v grafu (Obr. 16). U tohoto oleje se nejlepším inhibitorem degradace jevíly silice máty a tymiánu, neboť hodnoty čísla kyselosti se po celou dobu tepelné úpravy pohybovaly níž, než tomu bylo u kontroly, a zároveň byly srovnatelné s olejem s BHT. Číslo kyselosti v případě slunečnicového oleje s bazalkovou silicí bylo blízké kontrole, pouze v případě nejdelšího smažení ji převyšovalo. Vhodným aditivem pro slunečnicový olej je tedy z přírodních antioxidantů silice z máty a tymiánu.





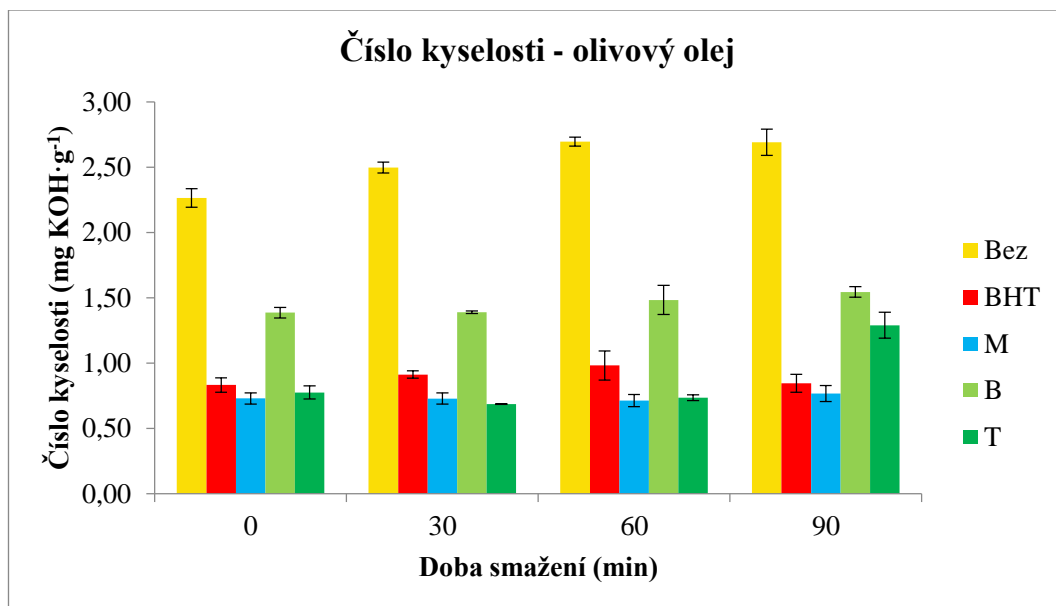
Obr. 16 Graf závislosti čísla kyselosti na délce tepelné úpravy u slunečnicového oleje. Kontrolou je olej bez příměsí (Bez) značen žlutě a olej obohacen o BHT (BHT) je značen červeně. Olej s příměsí máty (M) je značen modře, s příměsí bazalky (B) světle zeleně a olej obohacený o silici tymiánu (T) tmavě zeleně, (n=3).

U řepkového oleje nastala podobná situace jako u slunečnicového (Obr. 17). Silice z máty a tymiánu tedy vykazovaly obdobné chování jako BHT, a proto mají srovnatelné inhibiční účinky, díky kterým je možné označit mátu a tymián za vhodná antioxidační aditiva. Naopak olej obohacený o silici z bazalky právě vykazoval nejvyšší hodnoty čísla kyselosti. Pravděpodobně docházelo k degradaci látek významných pro svou antioxidační aktivitu vlivem vysokých teplot během smažení.



Obr. 17 Graf závislosti čísla kyselosti na délce tepelné úpravy u řepkového oleje. Kontrolou je olej bez příměsí (Bez) značen žlutě a olej obohacen o BHT (BHT) je značen červeně. Olej s příměsí máty (M) je značen modře, s příměsí bazalky (B) světle zeleně a olej obohacený o silici tymiánu (T) tmavě zeleně, (n=3).

Z grafu (Obr. 18) je možné pozorovat, že přidavek antioxidantu v olivovém oleji snižuje hodnotu čísla kyselosti. Tento efekt je nejméně patrný u silice bazalky, zatímco hodnoty čísla kyselosti v případě BHT, silice máty a tymiánu jsou si blízké v celém experimentu s výjimkou přidavku tymiánu po 90 minutách smažení.



Obr. 18 Graf závislosti čísla kyselosti na délce tepelné úpravy u olivového oleje. Kontrolou je olej bez příměsí (Bez) značen žlutě a olej obohacen o BHT (BHT) je značen červeně. Olej s příměsí máty (M) je značen modře, s příměsí bazalky (B) světle zeleně a olej obohacený o silici tymiánu (T) tmavě zeleně, (n=3).

## 4.7 Headspace analýza oxidačních produktů smažení

Cílem experimentu byla analýza akroleinu a dalších oxidačních produktů v tepelně zpracovaných bramborách, neboť se vycházelo z předpokladu a dřívějších studií, že během smažení dochází k tvorbě těchto látek (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Headspace analýzou nebyla prokázána přítomnost akroleinu ve vzorcích, a to ve všech případech. Jako kontrola byl použit vzorek obsahující smažené brambůrky zakoupené v maloobchodní síti, a ani v tomto případě nebyla přítomnost akroleinu potvrzena. Naopak byly detekovány látky, které se podílejí na degradaci oleje, jako jsou například aldehydy (Pokorný 1981; Gardner *et al.*, 1992). Tyto aldehydy vznikají v důsledku hydrolytických a oxidačních procesů, kterým olej podléhá.

V případě vzorků obsahujících slunečnicový olej s příměsí antioxidantů byl nejhojněji zastoupeným produktem oxidace 3-metylbutanal (38,09–85,85 %). U všech vzorků byl detekován 2,4-dimetyl-1-heptan (5,13–25,29 %). Všechny detekované látky jsou znázorněny v tabulce (Tab. 7).

Tab. 7 Procentuální zastoupení látek detekovaných metodou headspace u vzorků obsahujících pouze slunečnicový olej a tento olej obohacený o BHT (BHT), silici máty klasnaté (M), silici bazalky pravé (B) a silici tymiánu obecného (T)

Látka	Rt (min)	S (%)	BHT (%)	M (%)	B (%)	T (%)
1 3-metylbutanal	2,178		38,09	85,85	68,29	63,69
2 pentanal	2,296	33,84				
3 2,3,4-trimethylpentan	3,632	35,16		6,86	3,14	14,53
4 2,4-dimetyl-1-heptan	4,670	25,29	47,46	5,13	20,83	10,45
5 amylfuran	6,213	5,70				0,00
6 <i>p</i> -cymen	6,501					7,37
7 benzenacetyldehyd	6,666			2,16		
8 $\gamma$ -terpinen	6,767					3,96
9 linalool	7,046				7,76	
10 butylhydroxytoluen	9,497		14,45			

U vzorků s řepkovým olejem byl nejvíce zastoupen pentanal, a to konkrétně u oleje obohaceného o tymiánovou silici (74,92 %). V případě vzorku se silicí máty zaujímal největší zastoupení 2,4-dimetyl-1-heptan (61,17 %). Tato látka byla detekována i u vzorku bez příměsí a u vzorku s bazalkovou silicí v rozmezí 12,51–20,02 %. Všechny detekované látky jsou znázorněny v tabulce (Tab. 5).

Tab. 5 Procentuální zastoupení látek detekovaných metodou headspace u vzorků obsahujících pouze řepkový olej a tento olej obohacený o BHT (BHT), silici máty klasnaté (M), silici bazalky pravé (B) a silici tymiánu obecného (T)

Látka	Rt (min)	R (%)	BHT (%)	M (%)	B (%)	T (%)
1 propen	2,194					74,92
2 2-methyl-1-nitro-propane	2,409				35,52	
3 pentanal	2,296	43,15				
4 2,3,4-trimethylpentan	3,632	28,55				
5 2,4-dimetyl-1-heptan	4,670	20,02		61,17	12,51	
6 <i>p</i> -cymen	6,501		39,94			14,93
7 eucalyptol	6,565			20,59	10,27	
8 benzenacetyldehyd	6,666	8,30				
9 $\gamma$ -terpinen	6,767		23,35			7,82
10 linalool	7,046				36,64	2,33
11 butylhydroxytoluen	9,497		36,71			
12 benzil dimetyl ketal	11,235			18,23	5,06	

Ve vzorcích obsahujících olivový olej byla ve všech případech detekována jako nejhojněji zastoupená látka 3-metylbutanal v relativním rozmezí 17,42–99,76 %. Všechny detekované látky jsou znázorněny v tabulce (Tab. 9).

Tab. 9 Procentuální zastoupení látek detekovaných metodou headspace u vzorků obsahujících pouze olivový olej a tento olej obohacený o BHT (BHT), silici máty klasnaté (M), silici bazalky pravé (B) a silici tymiánu obecného (T)

	Látka	Rt (min)	O (%)	BHT (%)	M (%)	B (%)	T (%)
1	3-metylbutanal	2,178	91,44	96,48	17,42	19,76	99,76
2	propan	2,566					0,24
3	2,3,4-trimethylpentan	3,632	2,36				
4	2,4-dimethyl-1-heptan	4,67			39,22		
5	benzenacetyldehyd	6,666	3,33				
6	linalool	7,046	0,51		17,17	80,24	
7	nonenal	7,073	0,83	2,50			
8	piperitone oxide	8,763			13,71		
9	butylhydroxytoluen	9,497		1,03			
10	benzil dimetyl ketal	11,235	1,53		12,49		

## 5 ZÁVĚR

Teoretická část práce je věnována jedlým olejům se zaměřením na slunečnicový, řepkový a olivový. Zvláštní pozornost byla věnována skupinám reakcí probíhajících v tukové lázni během smažení. Dále pojednává o přírodních antioxidantech se zaměřením na mátu klasnatou (*Mentha spicata*), bazalku pravou (*Ocimum basilicum*) a tymián obecný (*Thymus vulgaris*).

V praktické části byla provedena izolace silic pomocí hydrodestilace a prostá extrakce methanolem. Plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem byly analyzovány složky silic. V silici máty klasnaté bylo zjištěno největší procentuální zastoupení u oxidu piperitonu, které činilo 57,31 %. U vzorku silice bazalky pravé vykazoval nejvyšší obsah linalool s 53,99 % a nejvyšší obsah v tymiánové silici zaujímal thymol (50,64 %).

Pomocí Folin-Ciocalteuovy metody byly stanoveny celkové fenoly v methanolových extraktech. Obsah fenolických látek klesal v následujícím pořadí: extrakt máty klasnaté > extrakt tymiánu obecného > extrakt bazalky pravé. Stanovená antioxidační aktivita u extraktů z bylin klesala podle očekávání v závislosti na obsahu fenolických látek, a to v následujícím pořadí: extrakt máty klasnaté > extrakt tymiánu obecného > extrakt bazalky pravé. Naopak nejvyšší antioxidační aktivitu u silic vykazovala bazalková silice a nejnižší silice z máty.

Pro porovnání schopnosti silic a syntetických aditiv bránit degradaci jedlých olejů při smažení potravin se stanovily mastné kyseliny v olejích, které byly podrobeny procesu smažení. Bylo dokázáno, že přidavkem antioxidantů se koncentrace mastných kyselin během tepelné úpravy nemění. U slunečnicového oleje je dominující kyselina linolová, u řepkového a olivového pak stabilnější kyselina olejová. Stanovením peroxidového čísla bylo zjištěno, že nejlepší antioxidační vlastnosti u slunečnicového oleje vykazoval syntetický butylhydroxytoluen a přidavek tymiánové silice byl dokonce důsledkem vysokých hodnot peroxidového čísla, a to především při třetím opakování zahřívání oleje, pravděpodobně vlivem vysoké koncentrace thymolu v tymiánu, neboť v takovémto případě se thymol může chovat jako prooxidant. Pro řepkový olej se jako vhodné přírodní antioxidační aditivum jevila silice z tymiánu a pro olivový olej silice

z tymiánu a máty. Z hlediska čísla kyselosti se jako nejlepší antioxidanty u všech testovaných olejů potvrdily silice z máty a tymiánu. Headspace analýzou nebyla ve vzorcích dokázána přítomnost škodlivého akroleinu, byly však detekovány látky, které se podílejí na degradaci oleje, jako jsou aldehydy. V případě vzorků obsahujících slunečnicový olej s příměsí antioxidantů byl nejhojněji zastoupeným produktem oxidace 3-metylbutanal (38,09–85,85 %), u vzorků s řepkovým olejem pak pentanal, a to konkrétně u oleje obohaceného o tymiánovou silici (74,92 %), a ve vzorcích obsahujících olivový olej byl nejhojněji zastoupen 3-metylbutanal v relativním rozmezí 17,42–99,76 %.



## 6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Adams, R.P. (2007): *Identification of Essential oil of Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. 4th ed., Allured Publishing Corporation, USA, 804 stran.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry: <https://www.atsdr.cdc.gov/mmg/mmg.asp?id=552&tid=102> (20. 2. 2019)
- Akoh C.C., Min D.B. (2002): *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, Second Edition (Food Science and Technology)*. 2nd ed., CRC Press, New York, USA, 1028 stran.
- Artz W.E., Osidacz P.C., Coscione A.R. (2005): Iron accumulation in oil during the deep-fat frying of meat. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **82**, 249–254.
- Bačovská R., Filípková S., Hanáčková P., Pospíšil L. (2017): *Cvičení z chemie přírodních polymerů Návodů k laboratorním úlohám*. 1. vyd., Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika, 32 stran.
- Baranyk P. (2010): *Olejniny*. 1. vyd., Profi Press, Praha, 206 stran.
- Baranyk P., Fábry A., (2007): *Řepka: pěstování, využití, ekonomika*. 1. vyd., Profi Press, Praha, Česká republika, 208 stran.
- Becalski A., Lau B.P., Lewis D., Seaman S.W. (2003): Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 802–808.
- Bečka D. (2007): *Řepka ozimá: pěstitelský rádce*. 1. vyd., Kurent, České Budějovice, Česká republika, 56 stran.
- Belitz H.D., Grosh W., Schieberle P. (2008): *Food chemistry*. 4th ed., Springer, New York, USA, 1070 stran.
- Berger R.G. (2007): *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. 1. vyd., Springer, Berlín, Germany, 648 stran.
- Besaratinia A., Pfeifer G.P. (2004): Genotoxicity of acrylamide and glycidamide. *Journal of the National Cancer Institute* **96**, 1023-1029
- Bezpečnost potravin A-Z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92535.aspx> (5. 3. 2019).
- Boskou D., (2006): *Olive oil: chemistry and technology*. 2nd ed., Academic Press and AOCS Press, Champaign, USA, 282 stran.
- Boskou D., Elmadfa I. (2010): *Frying of Food: Oxidation, Nutrient and Non-Nutrient Antioxidants, Biologically Active Compounds and High Temperatures*. 2nd ed., CRC Press, Boca Raton, USA, 328 stran.
- Bowles E. J.(2003): *The chemistry of aromatherapeutic oils*. 3rd ed., Allen & Unwin, Crows Nest, Australia, 256 stran
- Bristow S. (2005): *Léčivé byliny: kompletní průvodce*. 1. vyd., Alpress, Frýdek-Místek, Česká republika, 256 stran.
- Carvalho A.P., Malcata F.X. (2005): Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas Chromatographic Analysis of Marine Lipids: Insight Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 5049-5059.
- Ćavar S., Maksimović M., Šolić M. E., Jerković-Mujkić A., Bešta R. (2008): Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two Satureja essential oils. *Food Chemistry* **111**, 648–653.
- Ciesarová Z. (2005): Minimalizácia obsahu akrylamidu v potravinách. *Chemické Listy* **99**, 483-491.
- Clark W.L., Serbia G.W. (1991): Safety aspects of frying fats and oils. *Food Technology* **45**, 84–89.

- Claus A., Carle R., Chieber A. (2008): Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal Science* **47**, 118-133.
- Cooking for engineers: <http://www.cookingforengineers.com/article/50/Smoke-Points-of-Variou-Fats> (3. 3. 2019)
- Cuesta C., Sanchez-Muniz F.J., Garrido-Polonio C., Lopez-Varela S., Arroyo R. (1993): Thermooxidative and hydrolytic changes in sunflower oil used in frying with a fast turnover of fresh oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **70**, 1069–1073.
- Del Re P.V., Jorge N. (2001): Antioxidant potential of oregano (*Oreganum vulgare L.*), basil (*Ocimum basilicum L.*) and thyme (*Thymus vulgaris L.*): application of oleoresins in vegetable oil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **3**, 955-959.
- Dorman, H.J.D., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., & Deans, S.G. (2000): In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal* **15**, 12–16.
- Esterbauer H. (1993). Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *The American Journal of Clinical Nutrition* **57**, 779-786.
- Fabio produkt: <https://www.fabioprodukt.cz/jedle-oleje-a-potravin-y-produkty> (20. 11. 2018)
- Fallarero A., Loikkanen J.J., Männistö P.T., Castañeda O., Vidal A. (2003): Effects of aqueous extracts of *Halimeda incrassata* (Ellis) Lamouroux and *Bryothamnion trquetrum* (S.G. Gmelim) howe on hydrogen peroxide and methyl mercury-induced oxidative stress in GT1-7 mouse hypothalamic immortalized cells. *Phytomedicine* **10**, 39-47. <http://dx.doi.org/10.1078/094471103321648647>
- Frankel E.N., Smith L.M., Hamblin C.L., Creveling R.K., Clifford A.J. (1984): Occurrence of cyclic fatty acid monomers in frying oils used for fast foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **61**, 87–90.
- Friedman M. (2003): Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 4504-4526.
- Frohn B. (2002): *Olivový olej a přírodní léčba: Prevence proti infarktu*. 1. vyd. Fontána, Olomouc, Česká republika, 168 stran.
- Gardner D.R., Sanders R.A., Henry D.E., Tallmadge D.H., Wharton H.W. (1992): Characterization of used oils. Part 1: isolation and identification of compound classes. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **61**, 87–90.
- Gertz Ch., Klostermann S. (2002): Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **104**, 762-771.
- Goliašová K., Michalková E. (2006): *Flóra Slovenska V/3*. 1. vyd., VEDA, Bratislava, Slovenská republika, 342 stran.
- Gordon M.H., Kourimska L. (1995): The effects of antioxidants on changes in oils during heating and deep frying. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **68**, 347–353.
- Hedegaard R. V., Frandsen H., Skibsted L. H. (2008): Kinetics of formation of acrylamide and Schiff base intermediates from asparagine and glucose. *Food Chemistry* **108**, 917-925.
- Hidalgo F.J., Zamora R. (2000): The role of lipids in nonenzymatic browning. *Grasas Aceites* **51**, 37–51.
- Hiltunen R., Holym Y. (1999): *Basil: The genus Ocimum*. 1. vyd., CRC Press, Boca Raton, USA, 152 stran.
- Holzbecher Z., Churáček J. (1987): *Analytická chemie*. 1. vyd., SNTL - Nakladatelství technické literatury, Praha, Česká republika 664 stran.
- Horák T., Jiří Č., Jurková M., Čejka P., Kellner V., Dvořák J., Hašková D. (2012): Head-space Analysis in Brewing Analytics. *Kvasný průmysl* **58**, 2-5.
- Hosnedl V., Vašák J., Mečiar L. (1998): *Rostlinná výroba – II*. 1.vyd. ČZU, Praha, Česká republika, 135 stran.

- Hui Y.H. (2010): *Handbook of fruit and vegetable flavors*. 1st ed., Wiley, New Jersey, USA, 1120 stran.
- Choe E., Lee J. (1998). Thermooxidative stability of soybean oil, beef tallow, and palm oil during frying of steamed noodles. *Korean Journal of Food Science and Technology* **30**, 288-292.
- Choe E., Min D.B. (2006): Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **5**, 169–186.
- Chow Kuang, C. (2007): *Fatty acids in foods and their health implications*. 3rd ed., CRC Press, Boca Raton, USA, 1296 stran.
- Chrisite W. W. (1989): *Gas chromatography and lipids*. 1st ed., Matreya, State College, USA, 316 stran.
- Christopoulou C.N., Perkins E.G. (1989): Isolation and characterization of dimmers formed in used soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **66**, 1360–1370.
- Chung J., Lee J., Choe E. (2004): Oxidative stability of soybean and sesame oil mixture during frying of flour dough. *Journal of Food Science* **69**, 574–578.
- Churáček J. (1990): *Analytická separace látek*. 1. vyd., Státní nakladatelství technické literatury, Praha, Česká republika, 384 stran.
- Iburg A. (2004): *Lexikon octů a olejů: původ, chuť, použití, recepty*. 1. vyd., Rebo Productions, Dobřejšovice, Česká republika, 299 stran.
- Kahl R., Hildebrandt A.G. (1986): Methodology for studying antioxidant activity and mechanism of action of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology* **24**, 1007–1014.
- Kamkar A., Javan A.J., Asadi F., Kamalinejad M. (2010): The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology* **48**, 1796–1800.
- Kanazawa K., Ashida H. (1998): Dietary hydroperoxides of linoleic acid decompose to aldehydes in stomach before being absorbed into the body. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism* **1393**, 349–361.
- Kim I., Choe E. (2004a). Oxidative stability and antioxidant content changes in roasted and bleached sesame oil during heating. *Food Science and Biotechnology* **13**, 762–767.
- Kim M., Choe E. (2004b): Effects of burdock (*Arctium lappa* L.) extracts on autoxidation and thermal oxidation of lard. *Food Science and Biotechnology* **13**:460–466.
- Klouda P. (2003): *Moderní analytické metody*. 2. vyd., Pavel Klouda - Pavko, Ostrava, Česká republika, 132 stran.
- Korbelář J., Endris Z. (1974): *Naše rostliny v lékařství*. 4. vyd., Avicenum, Praha, Česká republika, 496 stran.
- Koyama N., Sakamoto H., Sakuraba M., Koizumi T., Takashima Y., Hayashi M., Matsufuji H., Yamagata K., Masuda S., Kinae N., Honma M. (2006): Genotoxicity of acrylamide and glycidamide in human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutation Research* **603**, 151-158.
- Kubow S. (1990): Toxicity of dietary lipid peroxidation products. *Trends in Food Science & Technology* **1**, 67-71.
- Kuskoski M.E., Asuero A.G., Troncoso A.M., Mancini-Filho J., Fett R. (2005): Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **25**, 726-732  
<http://dx.doi.org/10.1271/bbb1961.53.519>
- Lawrence B. J. (2006): *Mint: The Genus Mentha (Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles)*. 1st ed., CRC Press, Boca Raton, USA, 598 stran.
- Lawson, H. (1995): *Food oils and fats: Technolog, utilization and nutrition*. 1st ed., Chapman & Hall, New York, USA, 340 stran.

- Liu H.R., White P.J. (1992): High-temperature stability of soybean oils with altered fatty acid compositions. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **69**, 533–537.
- Márová I., Obruča S. (2013): *Vybrané instrumentální úlohy z aplikované biochemie*. 1. vyd., Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Brno, 167 stran.
- May W.A., Peterson R.J., Chang S.S. (1983): Chemical reactions involved in the deep-fat frying of foods: IX. Identification of the volatile decomposition products of triolein. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **60**, 990–995.
- Mazza G., Qi H. (1992): Effect of after-cooking darkening inhibitors on stability of frying oil and quality of French fries. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **69**, 847–853.
- Miguel M.G., Antunes M.D., Rohaim A., Figueiredo A.C., Pedro L.G., Barroso J.G. (2014): Stability of Fried Olive and Sunflower Oils Enriched with *Thymbra capitata* Essential Oil. *Czech Journal of Food Sciences* **32**, 102–108.
- Miyagawa K., Hirai K., Takezoe R. (1991): Tocopherol and fluorescence levels in deep-frying oil and their measurement for oil assessment. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **68**, 163–166.
- Mlejová V., Pavlíková P., Dobiáš P., Adam M., Ventura K. (2010): Aplikace mikroextrakce tuhou fází pro analýzu bylinných silic. *Chemické listy* **104**, 166–171.
- Mojska H., Gielecińska I., Szponar L., Ołtarzewski M. (2010): Estimation of the dietary acrylamide exposure of the Polish population. *Food and Chemical Toxicology* **48**, 2090–2096.
- Nawar W.W. (1969): Thermal degradation of lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **17**, 18–21.
- Nawar W.W. (1984): Chemical changes in lipids produced by thermal processing. *Journal of Chemical Education* **61**, 299–302.
- Neugebauerová J., Žďárská V. (2015): *Léčivé rostliny pěstujeme - sbíráme - využíváme. Kapesní průvodce zelenou medicínou*. 1. vyd., Arista Books, Praha, Česká republika, 260 stran.
- Norman J. (2008): *Bylinky a koření v kuchyni*. 1. vyd., Ottovo nakladatelství, Praha, Česká republika, 336 stran.
- Novák F.A., Penka M., Cejp K., Martinec T. (1958): *Farmaceutická botanika*. 2. vyd., Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, Česká republika, 640 stran
- Nováková B., Šedivý Z. (1996): *Praktická aromaterapie*, 1. vyd. Pragma, Praha, Česká republika, 399 stran.
- Ozkan A., Erdogan A. (2012): A comparative study of the antioxidant/prooxidant effects of carvacrol and thymol at various concentrations on membrane and DNA of parental and drug resistant H1299 cells. *Natural Product Communications* **7**, 1557–60.
- Parker J.K., Balagiannis D.P., Higley J., Smith G., Wedzicha B.L., Mottram D.S. (2012): Kinetic Model for the Formation of Acrylamide during the Finish-Frying of Commercial French Fries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**, 9321–9331.
- Patel S., Shende S., Arora S., Singh R.R.B., Rastogi S., Rawat A.K.S. (2014): Antioxidant potential of herbs and spices during deep frying of ghee. *International Journal of Dairy Technology* **10**, 1471–0307.
- Paton A. (1992): A synopsis of *Ocimum L.* (Labiatae) in Africa. *Springer on behalf of Royal Botanic Gardens* **47**, 403–345.
- Pedreschi F., Moyano P., Kaack K., Granby K. (2005): Color changes and acrylamide formation in fried potato slices. *Food Research International* **38**, 1–9.
- Peers K.E., Swoboda P.A.T. (1982): Deterioration of sunflower seed oil under simulated frying conditions and during small-scale frying of potato chips. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **33**, 389–95.

- Pelikán M. (2001): *Zpracování obilovin a olejnin*. 2.vyd., MZLU, Brno, Česká republika, 148 stran.
- Pertile E., Čablík V. (2006): *Instrumentální metody analýzy*. 1. vyd., VŠB – Technická univerzita Ostrava, Ostrava, Česká republika, 238 stran.
- Pokorny J. (1981): Browning from lipid-protein interaction. *Progress in food & nutrition science* **5**, 421–428.
- Polívka F. (2010): *Užitkové a pamětihodné rostliny cizích zemí*. 3. vyd., Volvox Globator, Praha, Česká republika, 646 stran.
- Pribela A. (1991): *Analýza potravin*. 2. vyd., Slovenská technická univerzita, Ediční středisko STU Bratislava, Bratislava, Slovenská republika, 394 stran.
- Renew J., Huang E. (2004): Simultaneous determination of fluoroquinolone, sulfonamide, and trimethoprim antibiotics in wastewater using tandem solid phase extraction and liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1042**, 113–121.
- Rice J. M. (2005): The carcinogenicity of acrylamide. *Mutation Research* **580**, 3–20.
- Sahin S., Bilgin M., Sayim E. & Güvenilir B. (2017): Effects of natural antioxidants in the improvement of corn oil quality: olive leaf vs. lemon balm. *International Journal of Food Science & Technology* **52**, 374–380.
- Seppanen C.M., Csallany A.S. (2004): Incorporation of the toxic aldehyde 4-hydroxy-2-trans-nonenal into food fried in thermally oxidized soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* **81**, 1137–1141.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* **16**, 144–158
- Spilková J., Martin J., Siatka T., Tůmová L., Kašparová M. (2016): *Farmakognozie*. 1. vyd., Nakladatelství Karolinum, Praha, Česká republika, 346 stran.
- Stevenson S.G., Vaisey-Genser M., Eskin N.A.M. (1984): Quality control in the use of deep frying oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **61**, 1102–1108.
- Surai, P. (2015): Silymarin as a Natural Antioxidant: An Overview of the Current Evidence and Perspectives. *Antioxidants* **4**, 204–247
- Svensson K., Abramsson L., Becker W., Glynn A., Hellenas K.E., Lind Y., Rosén J. (2003): Dietary intake of acrylamide in Sweden. *Food and Chemical Toxicology* **41**, 1581–1586.
- Taghvaei M., Jafari S.M. (2015): Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *Journal of Food Science and Technology* **52**, 1272–1282.
- Talbot G. (2015): *Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition: Properties, Processing and Applications*, 1st ed., Woodhead Publishing, Cambridge, England, 384 stran.
- Tompkins C., Perkins E.G. (2000): Frying performance of low-linolenic acid soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **77**, 223–229.
- Topirař M., safrtová M., Sovová H., Karban J. (2013): *Optimalizace a matematický popis hydrodestilace eukalyptu a lipie*. 1. vyd., Česká společnost chemického inženýrství, Praha, Česká republika, 48 stran.
- Valíček P. (2006): *Technické a siličnaté rostliny*. 1. vyd., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, Česká republika, 95 stran.
- Valíček P. a kol. (2002): *Užitkové rostliny tropů a subtropů*. 1. vyd. Academia, Praha, Česká republika, 486 stran.
- Varela G., Bender A.E., Morton I.D. (1988): *Frying of food: principles, changes, new approaches*. 1. vyd., VCH, New York, USA, 202 stran.
- Velišek J., Hajšlová J. (2009a): *Chemie potravin I*. 3. vyd., OSSIS, Tábor, 602 stran.
- Velišek J., Hajšlová J. (2009b): *Chemie potravin II*. 3. vyd., OSSIS, Tábor, 644 stran.

- Wang R.S., McDaniel L.P., Manjanatha M.G., Shelton S.D., Doerge D.R., Mei N. (2010): Mutagenicity of acrylamide and glycidamide in the testes of big blue mice. *Toxicological Sciences* **117**, 72-80.
- Ward J., Basford W. Hawkins J. (1985): *Oilseed rape*. 1st ed., Farming Press, Ipswich, England, 298 stran.
- Warner K., Orr P., Glynn M. (1997): Effect of fatty acid composition of oils on flavor and stability of fried foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **74**, 347–356.
- Webb M. A. (2002): *Bylinky ilustrovaný průvodce*. 1. vyd., Fortuna Print, Praha, Česká republika, 192 stran.
- Yasahura A., Tanaka Y., Hengel M., Shibamoto T. (2003): Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systém. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 3999–4003.