

Česká zemědělská univerzita v Praze  
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů  
Katedra kvality zemědělských produktů

Inhibice oxidace lipidů během smažení pomocí  
přírodních antioxidantů

Diplomová práce

Autor práce: Alena Bulínová

Vedoucí práce: doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.

2012

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Inhibice oxidace lipidů během smažení za přidání přírodních antioxidantů vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne:

.....

**Poděkování:**

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D., za rady, připomínky a trpělivost při vedení mé práce. Dále bych ráda poděkovala paní Blance Dvořákové za rady a ulehčení orientace při práci v laboratoři. Děkuji také mým rodičům za podporu při studiu.

## Souhrn

Tato práce je experimentálního typu. Jde o zjištění, zda oxidace škvařeného vepřového sádla během smažení bramborových hranolků je inhibována přidanými antioxydanty. Použité antioxydanty jsou přírodní, a to byliny z čeledi *Lamiaceae*, *Origanum vulgare* a *Origanum heracleoticum*.

Antioxydační aktivita bylin byla zjišťována Schaalovým testem. Dále byl měřen profil mastných kyselin sádla během smažení u jednotlivých variant pomocí plynové chromatografie.

Tento pokus byl proveden ve třech variantách: bez přidání bylin, s přidáním *Origanum vulgare* a s přidáním *Origanum heracleoticum*. Každá varianta byla opakovaně smažená, celkově 10 x. Po každém smažení byly odebrány dva paralelní vzorky pro Schaaluv test a dva paralelní vzorky, které byly esterifikovány a dále proměřeny na plynové chromatografii pro zjištění profilu mastných kyselin.

Výsledky Schaalova testu ukázaly, že antioxydační účinky *Origanum heracleoticum* jsou vůči ostatním variantám i po opakovaném smažení průkazné. *Origanum vulgare* a její antioxydační účinek vůči variantě bez přidání bylin prokázán nebyl.

Pomocí plynové chromatografie byl určen profil mastných kyselin sádla. Bylo stanoveno 16 kyselin v různém procentuelním zastoupení. Nejmenší zastoupení pod mezí detekce, < 0,1 %, mají kyseliny kaprinová, laurová, margarová, cis margarová, eikosatrienová a eruková. V zastoupení do 3 % jsou kyseliny myristová, palmitoolejová, arachová, eikosenová, eikosadienová a trikosadienová. Do 12 % je zastoupena kyselina linolová. Největší zastoupení od 20 do 50 % mají kyseliny palmitová, stearová a olejová. U varianty s přidáním *Origanum heracleoticum* se profil mastných kyselin výrazně liší od kontrolního vzorku bez smažení a bez přidání bylin jen po 1. smažení. Ostatní hodnoty se pohybovaly v rozmezí  $\pm 10$  % relativních změn jednotlivých mastných kyselin.

Tato práce potvrdila největší antioxydační účinek *Origanum heracleoticum* při opakovaném smažení vepřového sádla.

**Klíčová slova** : antioxydační aktivita, mastné kyseliny, *Origanum vulgare*, *Origanum heracleoticum*, oxidace, smažení

## Summary

This work is an experimental type. The goal is to determine whether the oxidation of lard during frying of potato chips is inhibited by added antioxidants. The antioxidants that were used were natural antioxidants from the *Lamiaceae* family, *Origanum vulgare* and *Origanum heracleoticum*.

Antioxidant activity was determined by Schaal test. Furthermore, the measurement of the fatty acid profile of individual variants was done by gas chromatography.

This experiment was carried out in three variants: without the addition of herbs, with the addition of *Origanum vulgare* and with the addition of *Origanum heracleoticum*. Each variation of lard was repeatedly fried 10 times. After each frying, two parallel samples were collected for Schaal test and two parallel samples were esterified and then measured on a gas chromatography to determine fatty acid profile.

The results of the Schaal tests show that the antioxidant effect between *Origanum heracleoticum* and another two variants, even after repeated frying, was significant. The antioxidant effect between *Origanum vulgare* and variants without the addition of herbs was not found.

The fatty acid profile was determined by a gas chromatography. 16 acids have been formed in various percentage representations. The smallest representation, below the limit of detection < 0.1 %, had capronic, lauric, margaric, cis-margaric, eikosatrienic and erucic acids. The representation of myristic, palmitoleic, arachidic, eicosenic, eicosadienic and tricosanic acids were below 3 %. The representation of linoleic acid was up to 12 %. The largest representation, from 20 to 50 %, had palmitic, stearic and oleic acids. The fatty acid profile of the variants with the addition of *Origanum heracleoticum* was significantly differed from the sample without fat frying without the addition of herbs after the first frying or without frying. Other relative changes in individual fatty acids were within  $\pm 10$  %.

This work confirms the large antioxidant effect of *Origanum heracleoticum* during the repeated frying of lard.

Key words: Antioxidant activity, Fatty acids, *Origanum vulgare*, *Origanum heracleoticum*, Oxidation, deep – fat fryin

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1     | Úvod.....                                 | 1  |
| 2     | Vědecká hypotéza a cíle práce.....        | 2  |
| 3     | Literární rešerše .....                   | 3  |
| 3.1   | Oxidace .....                             | 3  |
| 3.1.1 | Autooxidace .....                         | 3  |
| 3.1.2 | Produkty autooxidace .....                | 5  |
| 3.1.3 | Inhibitory oxidace .....                  | 5  |
| 3.1.4 | Metody stanovení stability tuků.....      | 6  |
| 3.2   | Antioxidanty .....                        | 9  |
| 3.2.1 | Mechanismus účinku .....                  | 9  |
| 3.2.2 | Rozdělení antioxidantů .....              | 10 |
| 3.2.3 | Fenoly .....                              | 11 |
| 3.2.4 | Použití antioxidantů dle legislativy..... | 11 |
| 3.3   | Dobromysl obecná (oregano obecné) .....   | 14 |
| 3.3.1 | Výskyt a popis .....                      | 14 |
| 3.3.2 | Využití a účinky.....                     | 14 |
| 3.3.3 | Obsahové látky .....                      | 15 |
| 3.3.4 | Antioxidanty a jejich aktivita.....       | 17 |
| 3.4   | Řecké oregano.....                        | 17 |
| 3.4.1 | Výskyt a popis .....                      | 17 |
| 3.4.2 | Využití a účinky.....                     | 18 |
| 3.4.3 | Obsahové látky .....                      | 18 |
| 3.5   | Živočišné tuky.....                       | 19 |
| 3.5.1 | Složení .....                             | 19 |
| 3.5.2 | Stanovení profilu mastných kyselin.....   | 20 |
| 3.5.3 | Získávání živočišných tuků .....          | 20 |
| 3.5.4 | Antioxidanty v živočišných tucích .....   | 20 |
| 3.5.5 | Změny při smažení.....                    | 21 |
| 4     | Materiál a metody .....                   | 22 |
| 4.1   | Smažení bramborových hranolků .....       | 22 |
| 4.1.1 | Materiál .....                            | 22 |
| 4.1.2 | Přístroje.....                            | 22 |
| 4.1.3 | Pracovní postup.....                      | 22 |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 4.2   | Esterifikace mastných kyselin .....                                     | 23 |
| 4.2.1 | Materiál .....  | 23 |
| 4.2.2 | Chemikálie .....  | 23 |
| 4.2.3 | Přístroje .....   | 23 |
| 4.2.4 | Pracovní postup.....  | 23 |
| 4.3   | Stanovení stability tuků proti autooxidaci podle Schaala.....           | 24 |
| 4.3.1 | Materiály .....   | 24 |
| 4.3.2 | Přístroje .....   | 24 |
| 4.3.3 | Pracovní postup.....  | 24 |
| 4.4   | Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie .....  | 25 |
| 4.4.1 | Materiály .....   | 25 |
| 4.4.2 | Chemikálie .....  | 25 |
| 4.4.3 | Přístroje .....   | 25 |
| 4.4.4 | Pracovní postup.....  | 25 |
| 5     | Výsledky .....  | 27 |
| 5.1   | Výsledky stanovení stability tuků proti autooxidaci podle Schaala ..... | 27 |
| 5.2   | Výsledky měření profilu mastných kyselin plynovou chromatografií .....  | 32 |
| 6     | Diskuse.....  | 43 |
| 6.1   | Stanovení stability tuků proti autooxidaci podle Schaala.....           | 43 |
| 6.1.1 | Antioxidační aktivita bylin při skladování.....                         | 43 |
| 6.1.2 | Antioxidační aktivita bylin při smažení.....                            | 43 |
| 6.1.3 | Porovnání antioxidační aktivity bylin při skladování a při smažení..... | 44 |
| 6.2   | Profil mastných kyselin určených pomocí plynové chromatografie .....    | 45 |
| 7     | Závěr .....   | 46 |
| 8     | Seznam literatury .....   | 47 |
| 9     | Samostatné přílohy .....  | 49 |
| 10    | Seznam příloh .....   | 56 |

# 1 Úvod

Autooxidace lipidů je přirozenou součástí a nejběžnějším typem oxidace při zpracování nebo skladování potravin. Při tomto procesu dochází ke změnám vlastností potravin, především ke změnám organoleptickým, jako je změna chuti, vůně a barvy. Nejenom v potravinářství je cílem tyto pochody co nejvíce oddálit. Docílit tohoto zpomalení pomáhají tak zvané inhibitory oxidace, které snižují rychlost autooxidace (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

Antioxidanty jsou používanými přídatnými látkami do tuků a olejů při zpracování potravin. V praxi nejčastěji používané jsou antioxidanty syntetické, kterým se dává přednost pro jejich konstantní obsah účinných látek a také proto, že jsou finančně méně náročné. V přírodě lze také získat antioxidanty přírodní, které však nemají stabilní obsah účinných látek. Jsou obsaženy především v bylinách a v koření (Velíšek a Hajšlová, 2009b). Nejbohatšími antioxidačními účinky disponují rozmarýna, šalvěj, oregano, muškátový oříšek, tymián (Pokorný et. al., 2001) hřebíček a skořice (Shan, 2005).

Doposud byla posuzována především antioxidační účinnost při skladování lipidů. Proto je tato práce zaměřena na zjištění antioxidační účinnosti přírodních antioxidantů během opakovaného smažení.



## 2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Otázkou této práce je, zda antioxidační účinky bylin z čeledi *Lamiaceae*, *Origanum vulgare* a *Origanum heracleoticum*, inhibují oxidaci lipidů během smažení.

Léčivé a aromatické rostliny obsahují řadu nutričně cenných látek s antioxidačními účinky. Cílem práce bylo porovnání antioxidační aktivity těchto dvou druhů bylin z téže čeledi za podmínek smažení reálného potravinového materiálu – brambor. Jako smažicí médium bylo použito škvařené vepřové sádlo.

Prvním cílem bylo provedení Schaalova testu, porovnávání indukční periody a protekčích faktorů jednotlivých variant se vzrůstajícím počtem smažení a vyhodnocení průkaznosti výsledků.

Dalším cílem bylo stanovení profilu mastných kyselin a pozorování jejich změn při vzrůstajícím počtu smažení u jednotlivých variant.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Oxidace

Velíšek a Hajšlová (2009a) popisují oxidaci jako reakci uhlovodíkového řetězce a člení ji na 6 typů

- autooxidace (vzdušným kyslíkem)
- oxidace hydroperoxydy či peroxidem vodíku
- oxidace singletovým kyslíkem
- oxidace katalyzovaná enzymy
- oxidace těžkými kovy
- oxidace chinony

#### 3.1.1 Autooxidace

Autooxidace mastných kyselin vzdušným kyslíkem, jak uvádí Velíšek a Hajšlová (2009a), je nejběžnějším typem oxidace za nejběžnějších podmínek při zpracování nebo skladování potravin. Při běžných teplotách se vzdušným kyslíkem oxidují jen nenasycené kyseliny. Za vyšších teplot, odpovídajících teplotám pečení, smažení a pražení, dochází i k autooxidaci nasycených mastných kyselin. Z poznatků Pospíšila (1968), je celkový průběh oxidace závislý na charakteru substrátu a reakčních podmínkách, které ovlivňují především iniciační stádium reakce.

##### 3.1.1.1 Průběh autooxidace

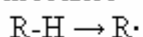
Velíšek a Hajšlová (2009a) autooxidaci uhlovodíkového řetězce mastných kyselin definují jako radikálovou řetězovou reakci, která probíhá ve třech stupních, viz obrázek 1.

1. Iniciační stupeň – homolytickým štěpením kovalentní vazby C-H uhlovodíkového řetězce vzniká volný vodíkový radikál a volný radikál mastné kyseliny. Jedná se o reakci endotermickou, kde potřebnou energii může molekula mastných kyselin získat z různých zdrojů, např. z energie tepelné (záhřevem), ultrafialového nebo radioaktivního záření, viditelného světla.
2. Propagační stupeň – vzniklý volný radikál mastné kyseliny je velmi reaktivní a snadno se sloučí s molekulou kyslíku. Vzniká peroxidový radikál, který je opět velmi reaktivní, takže odštěpí atom vodíku z další molekuly nasycené mastné kyseliny. Vzniká hydroperoxid a volný radikál mastné kyseliny. Tento sled uvedených reakcí se může opakovat až několikrát. Reakce volného radikálu mastné kyseliny s kyslíkem je

mnohem rychlejší než reakce peroxidového radikálu s uhlovodíkovým řetězcem lipidu. Peroxidový radikál reaguje s molekulou lipidu poměrně pomalu, a tato reakce proto určuje rychlost autooxidace.

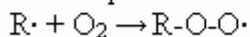
3. Terminační stupeň – v tomto stupni, pokud je koncentrace volných radikálů v reakčním systému dost vysoká, je pravděpodobné, že dva volné radikály spolu zreagují a vznikne neradikálový, poměrně stabilní produkt. Tímto řetězec skončí. Za omezeného přístupu kyslíku, kdy rychlost autooxidace závisí na jeho parciálním tlaku, jsou hlavními radikály v systému radikály mastné kyseliny a hlavní terminační reakcí je jejich rekombinace. Za dostatečného přístupu kyslíku rychlost reakce na jeho parciálním tlaku nezávisí. Vzniká více peroxidových radikálů, hlavními terminačními reakcemi jsou rekombinace radikálů mastných kyselin s peroxidovými radikály a vzájemné rekombinace peroxidových radikálů.

Iniciační reakce

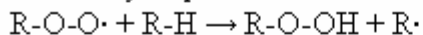


Propagační reakce

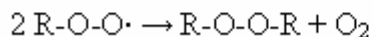
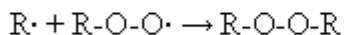
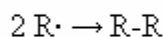
Tvorba peroxidového radikálu:



Tvorba hydroperoxidu:



Terminační reakce



|                   |                             |
|-------------------|-----------------------------|
| <i>R-O-OH</i>     | <i>hydroperoxid</i>         |
| <i>R-H</i>        | <i>Lipid</i>                |
| <i>R\cdot</i>     | <i>Volný radikál lipidu</i> |
| <i>R-O-O\cdot</i> | <i>Peroxidový radikál</i>   |

Obrázek 1 Průběh autooxidace, (Velíšek a Hajšlová, 2009a)

### **3.1.2 Produkty autooxidace**

Pospíšil (1968), Velíšek a Hajšlová (2009a) rozdělují produkty autooxidace na primární a sekundární reakční produkty. Primární hydroperoxidické sloučeniny jsou přítomny jako nečistota ve všech organických látkách. Sekundární reakční produkty obsahují funkční skupiny jako např. hydroxylové, karbonylové, karboxylové a pod., a tvoří se rozpadem hydroperoxidů, další jinými reakcemi. Změny, ke kterým dochází s sebou přinášejí i změny v organoleptických vlastnostech tuků. Jde především o změnu vůně, chuti a někdy i zbarvení.

#### **3.1.2.1 Primární reakční produkty**

Primárními produkty jsou hydroperoxydy mastných kyselin. Velmi nestálé jsou hydroperoxydy dienových kyselin, z nichž vzniká peroxylový radikál, a trienových kyselin, ze kterých vzniká alkoxylový radikál. Přednostně vzniká alkoxylový radikál. Další reakci mastné kyseliny s peroxylovým radikálem vzniká hydroperoxid mastné kyseliny a reakcí s alkoxylovým radikálem vzniká hydroxykyselina. Časový průběh reakce je na počátku charakteristický malou rychlostí. Postupně se hromadí hydroperoxydy, které vyvolávají tvorbu dalších radikálů, a rychlost s rostoucí koncentrací peroxidů roste. S ubýváním reaktivních skupin se reakce zpomaluje a dochází k rozkladu hydroperoxidů. Následně množství hydroxyperoxidů v systému klesá. Za vyšších teplot se hydroperoxydy nehromadí, protože se při cca 150 °C rozkládají (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

#### **3.1.2.2 Sekundární reakční produkty**

Sekundární reakční produkty se dají podle typu reakce rozdělit do tří skupin. Jsou to reakce, při kterých nedochází ke změně atomů uhlíků v molekule a vznikají cyklické peroxidy a endoperoxidy, epoxykyseliny, hydroxykyseliny a oxokyseliny. Dalšími reakcemi, které mohou probíhat, se molekula štěpí a vznikají kratší řetězce, např. aldehydy, uhlovodíky nebo oxokyseliny. Třetím typem reakcí jsou polymerační reakce, při kterých se počet uhlíků v molekule zvyšuje (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### **3.1.3 Inhibitory oxidace**

Velíšek a Hajšlová (2009a) označují za inhibitory oxidace takové látky, které nějakým mechanismem snižují rychlost oxidace. Patří mezi ně antioxidanty, synergisty, chelátové látky a sloučeniny, rozkládající hydroxyperoxydy neradikálovou cestou a také látky, které snižují reakční rychlost rozkladu hydroxyperoxidů, čímž brzdí tvorbu volných radikálů. Pospíšil

(1968) ve své publikaci popisuje inhibici antioxidantů takto: oxidační řetězce jsou přerušovány antioxidanty za předpokladu, že koncentrace v systému je dostačující (přesahuje kritickou koncentraci) na přerušení všech oxidačních řetězců, které se tvoří v průběhu iniciace. Koncentrace radikálů v reakční směsi dosahuje stacionární fáze a zároveň se nepatrně snižuje koncentrace antioxidantu až na kritickou mez. Dále je přerušováno méně oxidačních řetězců a reakce se začne urychlovat. Snížení obsahu antioxidantu v reakční směsi v důsledku spotřeby v průběhu oxidace se projeví i změnou rychlosti absorpce kyslíku.

### **3.1.4 Metody stanovení stability tuků**

Metody ke stanovení oxidovatelnosti tuků se dle Davídka a kol. (1981) dělí takto:

- **Stanovení peroxidového čísla**

Hydroperoxydy nenasycených lipidů uvolní v kyselém prostředí z jodidu jod, který se stanovuje titračně. Metoda je vhodná pro oxidované tuky s výjimkou tuků oxidovaných při vysoké teplotě.

- **Stanovení benzidinového a p-anisidinového čísla**

Benzidin a p-anisidin reagují s 2-alkenaly a jinými aldehydy přítomnými v oxidovaných tucích za vzniku žlutě zbarveného kondenzačního produktu. Metoda je vhodná pro posouzení stupně oxidace tuků s nízkým peroxidovým číslem.

- **Stanovení 2-thiobarbiturového čísla**

Kyselina 2-thiobarbiturová reaguje s malondialdehydem za tvorby červeně zbarveného kondenzačního produktu. Metoda je vhodná ke stanovení počátečního stupně žluknutí, pokud jsou obsaženy polenové mastné kyseliny.

- **Stanovení obsahu polymerů v tucích HPLC chromatografií**

Větší molekuly oligomerní mastné kyseliny nebo její estery se eluují z HPLC kolony rychleji než příslušné polymery. Průběh dělení se zaznamenává vhodným detektorem a množství polymerů se odečte z kalibrační křivky. Metoda je vhodná pro tuky zahříváné na vyšší teplotu, zvláště pro tuky používané na smažení.

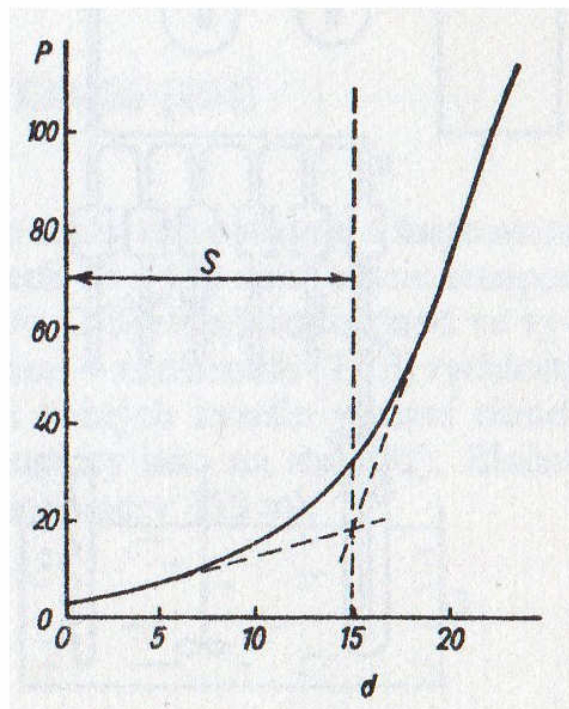
- **Stanovení stability tuku proti autooxidaci metodou aktivního kyslíku**

Tuk zahříváný na konstantní teplotu se oxiduje proudem vzduchu a stanoví se doba potřebná k dosažení určitého stupně oxidace. Používá se především ke stanovení účinnosti inhibitorů oxidace.

- **Stanovení stability tuků proti autooxidaci podle Schaala**

Tuk se skladuje při zvýšené teplotě a stanoví se délka indukční periody, která je měřítkem stability tuku při skladování. Metoda je vhodná pro jedlé tuky a oleje neobsahující vodu nebo jiné nelipidické složky.

Do kádinky 150 ml se navažuje 22 – 25 g tuku s přesností na tři desetinná místa. Kádinky se umístí do skříňového termostatu vyhřívaného na 60 °C. Ve vhodných časových intervalech se stanovuje stupeň autooxidace, nejjednodušeji ze změn hmotnosti. Délka indukční periody se určí graficky, jak je znázorněno na obrázku 2.



Obrázek 2 Stanovení délky indukční periody při stanovení stability tuku proti autooxidaci Schaalovým testem, (Davídek a kol., 1981); P – přírůstek peroxidového čísla, d – doba skladování tuku ve dnech, S – stabilita tuku hodnocena délkou indukční periody

- **Indukční perioda (IP)** - Pokorný et. al. (2001) ji definují jako periodu, během které dochází v tucích k malým autooxidačním změnám. Na konci IP stoupá rozvoj autooxidačních reakcí. IP je citlivá již k malým koncentracím složek, které ji zkracují nebo prodlužují.
- **Protekční faktor (PF)** - je charakterizován jako efektivita antioxidantů, zvyšuje se s koncentrací antioxidantů. Čím vyšší je PF, tím vyšší je i antioxidační kapacita. Charakter závislosti PF na koncentraci je silně ovlivňován typem inhibičního systému, stejně jako oxidačními podmínkami. PF se dá vyjádřit dvěma způsoby:

$$PF = \frac{IP_{inh}}{IP_0} \quad \text{nebo} \quad PF = \frac{IP_{inh} - IP_0}{IP_0}$$

$IP_{inh}$  = IP vzorku obsahující inhibitor

$IP_0$  = IP kontrolního vzorku tuku bez přidaného antioxidantu

## 3.2 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky, které prodlužují údržnost potravin a chrání je před znehodnocením způsobeným oxidací potravin. Projevem této oxidace je žluknutí tuků a dalších snadno oxidovatelných složek potravin. Jsou vyvolávány chemické změny, které negativně ovlivňují výživovou, hygienicko-toxikologickou a senzorickou hodnotu (Velíšek a Hajšlová, 2009b). Dle Smirnoffa (2005) jsou to molekuly, které v nízkých koncentracích, ve srovnání s oxidovatelným substrátem, výrazně oddálí či zabrání oxidaci tohoto substrátu. Další možnou definicí může být formulace Pokorného (2005), který antioxidanty charakterizuje jako substance, které zpomalují nebo předchází žluknutí tuků, nebo dalším projevům oxidace, jako je změna chuti a zápachu. Suhaj (2005) antioxidanty označil za široce užívané přídatné látky do tuků, olejů a při zpracování potravin.

### 3.2.1 Mechanismus účinku

Antioxidanty se mohou v reakci zapojovat několika mechanismy. Velíšek a Hajšlová (2009b) tyto mechanismy účinku rozdělují takto:

- Antioxidanty, které reagují s volnými radikály – jsou nazývány jako primární antioxidanty a řadí se mezi ně všechny povolené látky používané jako antioxidanty v potravinářství
- Antioxidanty, které redukují vzniklé hydroperoxy – nazývány také jako sekundární antioxidanty, které se přirozeně vyskytují ve sloučeninách, avšak jako antioxidanty se nepoužívají
- Antioxidanty, které váží do komplexu katalyticky působící kovy
- Antioxidanty, které eliminují přítomný kyslík.

Mechanismus a účinnost antioxidačního působení jsou ovlivněny přítomností reaktivních produktů a jejich účinnost je obecně vyšší, když jsou přidány před rozvinutím vlastní oxidační reakce (Pospíšil, 1968). Rangarsson a Labuza (1997) uvádí, že antioxidanty jsou méně aktivní při zvýšené teplotě než při pokojové.



## 3.2.2 Rozdělení antioxidantů

### 3.2.2.1 Přírodní antioxidanty

Vlastnosti antioxidantů má řada rostlinných potravinových materiálů. Jsou to především byliny a koření, jako např. rozmarýna, šalvěj, oregano, tymián a mnoho dalších. Složení těchto antioxidantů však není konstantní, jsou méně účinné a také dražší než syntetické antioxidanty. Jako aditiva jsou z této skupiny povoleny pouze tokoferoly, které se dnes již také získávají syntézami.

Tato skupina se dále dá dělit na:

- Jednoduché fenoly – mají antioxidační a antimikrobiální účinky a vyskytují se jako složky kouře, tedy se používají při uzení potravin
- Fenolové kyseliny a jejich deriváty – vykazují účinky primárních antioxidantů a jsou běžnou součástí rostlinných materiálů i udicího kouře
- Ligniny – jejich účinky jsou antioxidační, antikarcinogenní a fytoestrogenní
- Kurkuminoidy – do této skupiny patří například kurkumovník dlouhý, nebo zázvor lékařský
- Terpenoidy – tato skupina se označuje za neaktivnější přírodní antioxidanty s protizánětlivými účinky. Vyskytují se hlavně v bylinách čeledi *Lamiaceae*, do které patří například tymián, šalvěj, rozmarýna. V čerstvém koření je jejich zastoupení 1 až 2 %
- Flavonoidy – vykazují účinky primárních antioxidantů (Velíšek a Hajšlová, 2009b).

### 3.2.2.2 Syntetické antioxidanty

Syntetickými, neboli uměle vyrobenými antioxidanty, jsou:

- BHA – butylhydroxyanisol, je to antioxidant účinný především na ochranu tuků, které obsahují mastné kyseliny s kratšími řetězci. BHA je synergický s BHT a galláty.
- BHT – butylhydroxytoulén, je jako antioxidant živočišných tuků účinnější než BHA.
- TBHQ – 2-terc-butylhydrochinon, se považuje za nejúčinnější antioxidant tuků, které jsou určeny ke smažení.
- Galláty – jsou vhodné ke stabilizaci živočišných, bezvodých tuků, ale ne těch, které jsou určeny ke smažení (Velíšek a Hajšlová, 2009b).

### 3.2.3 Fenoly

Rostlinné fenoly jsou charakterizovány jako aromatické metabolity, které mají navíc jednu kyselou fenolovou hydroxylovou skupinu. Strukturně se vyskytují od relativně jednoduchých fenolů, jako je např. salicylová kyselina, až ke složitým polymerům, jako např. suberin a lignin. Jsou výbornými antioxidanty díky schopnosti darovat elektron z kyselé fenolové hydroxylové skupiny (Smirnoff, 2005).

Pospíšil (1968) fenoly řadí mezi nejpočetnější i nejvýznamnější antioxidanty. Pro jejich velké množství modifikací chemické struktury a současně pro dostupnost vhodných surovin splňují předpoklady pro získání látek s žádanými specifickými vlastnostmi. Nesubstituovaný fenol je však prakticky neúčinný inhibitor oxidace.

Velíšek a Hajšlová (2009b) uvádí, že fenoly jsou součástí prakticky všech potravin. Jsou skupinou látek, které se uplatňují jako vonné látky, chuťové látky, přírodní barviva, obranné látky rostlin, přírodní antioxidanty a také jako přirozeně toxické složky potravin. Jako antioxidanty se běžně vyskytují v některých druzích koření, zejména z čeledi *Lamiaceae*, kde se nejhojněji vyskytuje thymol a karvakrol. Zheng and Wang (2001) doplňují, že bohatým zdrojem antioxidantů těchto fenolických sloučenin jsou jak čerstvé tak i sušené byliny.

Mechanismus působení thymolu a karvakrolu popisuje Yanishlieva (1999). Jako medium bylo použito slunečnicového oleje a sádla. Thymol byl označen jako lepší antioxidant v triacylglycerolu slunečnicového oleje než v triacylglycerolu vepřového sádla. Thymol také celkově vyšel jako lepší antioxidant lipidů než karvakrol. Je to způsobeno větší prostorovou překážkou fenolické skupiny thymolu než karvakrolu.

### 3.2.4 Použití antioxidantů dle legislativy

V České republice je dovoleno přidávat do potravin jen takové antioxidanty, které povoluje vyhláška č. 4/2008 Sb., ze dne 3. ledna 2008. Vyhláška stanovuje druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin. Seznam povolených antioxidantů a jejich limity jsou vydány v příloze č. 7 k této vyhlášce. Např. pro tuky a oleje pro smažení, sádlo, lůj a rybí tuk je nejvyšší povolené množství gallátů a BHA 200 mg/kg a 100 mg/kg BHT. Seznam povolených antioxidantů do lipidů v ČR je znázorněn v tabulce č. 1.

**Tabulka 1 Povolené antioxidanty v ČR, Vyhláška č. 4/2008Sb. Příloha 7**

| Číslo E | Název   |
|---------|---|
| E 304   | Estery mastných kyselin (z jedlých tuků) a askorbovou kyselinou |
| E 306   | Přírodní extrakt s vysokým obsahem tokoferolů                   |
| E 307   | Tokoferol   |
| E 308   | Tokoferol   |
| E 309   | Tokoferol   |
| E 310   | Propyl-gallát   |
| E 311   | Oktyl-gallát  |
| E 312   | dodecyl-gallát  |
| E 315   | erythorbová (isoaskorbová) kyselina                             |
| E 316   | natrium-erythorbát (isoaskorban sodný)                          |
| E 320   | butylhydroxyanisol (BHA)  |
| E 321   | butylhydroxytoulén (BHT)  |

Tabulka č. 2 znázorňuje antioxidanty, které jsou používány především ke stabilizaci tuků a olejů a jejich nejvyšší přípustná množství.

**Tabulka 2 Antioxidanty a jejich nejvyšší povolené množství, Vyhláška 4/2008 Sb., Příloha č. 7**

| č. E  | antioxidant                            | potravina  | NPM mg/kg   |
|-------|--|--|---|
| E 310 | Propylgalát                            | Tuky a oleje pro výrobu  | 200   |
| E 311 | Oktylgalát                             | tepelně opracovaných   | Galáty, TBHQ  |
| E 312 | Dodecylgalát                           | potravin   | a BHA jednotlivě  |
| E 319 | Terciární butyl-<br>hydrochinon (TBHQ) | Oleje a tuky na smažení,<br>kromě oleje z olivových                        | nebo v kombinaci  |
| E 320 | Butylhydroxyanisol<br>(BHA)            | výlisků  | Vyjádřeno na tuk  |
|       |  | Sádlo; rybí tuk; hovězí lůj;<br>drůbeží tuk; skopový lůj                   | 100<br>BHA<br>Vyjádřeno na tuk  |
| E 392 | Rozmarýnové extrakty                   | Hovězí a ovčí lůj; drůbeží<br>a vepřový tuk                                | 50<br>Součet karnosolu<br>a karnosolové<br>kyseliny<br>Vyjádřeno na tuk |
|       |  | Tuky a oleje pro<br>profesionální výrobu<br>tepelně ošetřených<br>potravin |   |
|       |  | Fritovací oleje a tuky,<br>kromě olivového oleje a<br>oleje z výlisků oliv |   |

### 3.3 Dobromysl obecná (oregano obecné)

Druh: dobromysl obecná *Origanum vulgare*

Čeleď: hluchavkovité *Lamiaceae*

#### 3.3.1 Výskyt a popis

Dobromysl obecná u nás roste ve volné přírodě (Bühningová, 2010). Small (2006) uvádí, že dobromysl obecná roste divoce na Azorách, na ostrově Madeira, na Kanárských ostrovech, v západní a centrální Asii, na Tchajwanu, severní Americe a po celé Evropě.

Tato bylina má řadu odolných variet a kultivarů, které se mezi sebou liší vzrůstem, od 20 centimetrů do 1 metru, odolností proti slunci a různou ozdobností a barevností květů. Využití těchto variet a kultivarů je stejné, jako u základního druhu dobromysly obecné (Vermeulen, 2004). Lodyhy dosahují výšky kolem 50 centimetrů. Má tmavě zelené listy, které jsou až 4 centimetry velké a kvete od června drobnými, světle růžovými až fialovými kvítky (Bühningová, 2010).

#### 3.3.2 Využití a účinky

Dobromysl obecná je dle Vermeulena (2004) v jižní Evropě jedním z nejdůležitějších kuchyňských koření. Její listy mají pikantní chuť, která se především cení v rajčatových salátech, na pizzách a v omáčkách na těstoviny. Farrell (1985) uvádí, že k okoření pořádné porce většinou stačí docela malé množství dobromysli. Listy se rozdrť a do jídla se přidávají těsně před dokončením protože dobromysl by neměla být vystavena vysokým teplotám při vaření déle než 10 minut .

Díky obsahu éterických olejů má schopnost učinit obzvláště tučná jídla stravitelnějšími a chutnějšími. Podporuje trávení, uvolňuje křeče a přináší celkové uklidnění. Pomáhá při zažívacích potížích provázených křečovými stavy a průjmy. Ničí choroboplodné zárodky, rozpouští hleny a působí potopudně – používá se též při léčbě nachlazení (Bühningová, 2010). Vermeulen (2004) dále tuto bylinu považuje za povzbuzující a posilující s protizánětlivými účinky. Small (2006) dodává, že obsažené silice zabraňují růstu a množení plísní a bakterií v potravinách.

### **3.3.3 Obsahové látky**

Hlavními látkami, které jsou obsažené v dobromysli jsou éterické oleje, složené z thymolu, karvakrolu a 1,8-cineolu, hořčiny, třísloviny a flavonoidy (Bühřingová, 2010). Gerhardt (1990) obsah silic v oreganu popisuje mezi 0,15 - 0,4 %. Složení těchto silic je znázorněno v tabulce č. 3, kde je srovnáno se složkami silice, které uvádí Velíšek a Hajšlová (2009b). Pro typickou oreganovou chuť je dle Smalla (2006) klíčový vysoký obsah karvakrolu v silici.

Tabulka 3 Složení *O. vulgare* a *O. vulgare ssp. hirtum*, dle různých autorů

| Složení dle Gerhardta<br>(1990)<br><i>Oreganum vulgare</i> | Složení dle Velíška a<br>Hajšlové (2009b)<br><i>Oreganum vulgare</i> | Složení dle Adama<br>(1998)<br><i>Oreganum vulgare ssp.</i><br><i>hirtum</i> |
|--|--|--|
| thymol   | thymol   | thymol   |
| karvakrol  | karvakrol  | karvakrol  |
| limonem  | -  | limonen  |
| terpin-4-ol  |  | terpin-4-ol  |
| B-pinen  | $\beta$ -pinen   | $\beta$ -pinen   |
| -  | -  | $\alpha$ -pinen  |
| terpinen   |  | $\alpha$ i $\gamma$ -terpinen  |
| koryafylen   | -  | -  |
| sabinin  | -  | -  |
| $\beta$ -bisabolen   | -  | -  |
| p-cymen  | p-cymen  | p-cymen  |
| -  | -  | p-cymen-8-ol   |
| -  | -  | (E a Z) $\beta$ -ocimen  |
| -  | karvakrylether   | -  |
| -  | linalool   | linalool   |
| -  | borhyl acetát  | -  |
| -  | kafr   | -  |
| -  | -  | $\alpha$ -thujen   |
| -  | -  | sabinen  |
| -  | -  | trans i cis –sabinen<br>hydrát   |
| -  | -  | myrcen   |
| -  | -  | $\alpha$ -phellandren  |
| -  | -  | 1,8-cineol   |
| -  | -  | isoborneol   |
| -  | -  | $\beta$ -caryophyllen  |
| -  | -  | $\alpha$ -humulen  |

### 3.3.4 Antioxidanty a jejich aktivita

Zheng and Wang (2001) ve své práci porovnávají antioxidační vlastnosti u různých bylin. Oregano obecné označil jako mimořádně bohatý antioxidant jak v čerstvé tak i v sušené formě, viz tabulka č. 4.

Tabulka 4 Porovnání čerstvého a sušeného *O. vulgare* (Zheng and Wang, 2001)

| <i>Oreganum vulgare</i> | Fenolické látky (mg/100 g) |
|-------------------------|----------------------------|
| Čerstvé                 | 1406                       |
| Sušené                  | 2221                       |

Abdalla (1999) sledoval antioxidační aktivitu několika bylin ve slunečnicovém oleji a v jeho 20% vodní emulzi při 60 °C. Z jeho výsledků je patrné, že oregano bylo účinnější v samotném oleji než v jeho vodné emulzi.

Pokorný et. al. (2001) ve svých výsledcích udává porovnání relativní antioxidační účinnosti několika bylin v sádle. Největší účinnost uvádí u rozmarýny, dále šalvěže, oregana, muškátového oříšku a tymiánu. Antioxidační účinnost oregana v olejovo-vodné emulzi byla na posledním místě.

Shan (2005) stanovoval nejvyšší antioxidační aktivitu u hřebíčku, skořice a oregana.

## 3.4 Řecké oregano

Druh: řecké oregano      *Origanum heracleoticum*  
   *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*  
Čeleď: hluchavkovité      *Lamiaceae*

### 3.4.1 Výskyt a popis

Oregano řecké v divoké formě můžeme nalézt ve východním Středozeří, zejména na Balkánském poloostrově a v Turecku. Ve velkém se pěstuje v Řecku a je známé hlavně vysokým obsahem silic. Oreganu řeckému se daří v bohatších půdách oproti ostatním druhům oregana. Ekonomicky se jedná o nejvýznamnější druh oregana na amerických trzích, vyrobí se zde 7,8 tun silice ročně (Small, 2006).



### 3.4.2 Využití a účinky

Využití a účinky *O. heracleoticum* jsou podobné jako u *O. vulgare*. Je více ceněno pro vyšší obsah silice.

### 3.4.3 Obsahové látky

Pro tento poddruh oregana je typický nejvyšší obsah silic. Obsahuje 60 – 80 % karvakrolu v silici (Small, 2006). Adam (1998) uvádí obsah thymolu 45,22 % a karvakrolu 33,05 %. Další složení silice již bylo uvedeno v tabulce č. 3, kde lze zároveň porovnat složení řeckého oregana s oreganem obecným. Procentuelní zastoupení esenciálních olejů uvádí Dzamic (2008), Adam (1999) a Tsimogiannis et. al. (2006) různě. Sloučeniny, které uvádí všichni tři autoři jsou v tabulce č. 5. Celé spektrum látek uváděné Adamem (1999) je v příloze č. 2.

**Tabulka 5 Hlavní obsahové látky *O. vulgare* ssp. *hirtum***

| Obsah v % dle různých autorů | Dzamic (2008) | Adam (1999) | Tsimogiannis (2006) |
|------------------------------|---------------|-------------|---------------------|
| thymol                       | 14,84         | 45,22       | 1,24                |
| karvakrol                    | 65,25         | 33,05       | 42,53               |
| $\alpha$ -thujen             | 1,45          | 0,04        | 0,13                |
| $\beta$ -myrcen              | 0,58          | 0,12        | 0,67                |
| $\alpha$ -phellandren        | 0,34          | 0,06        | 0,1                 |
| p-cymen                      | 1,88          | 7,35        | 5,91                |
| $\gamma$ -terpinen           | 0,65          | 5,54        | 1,64                |
| terpinen-4-ol                | 0,58          | 0,03        | 1,17                |

## 3.5 Živočišné tuky

### 3.5.1 Složení

Lipidy se obecně dělí do tří hlavních skupin:

1. Homolipidy – jsou to sloučeniny mastných kyselin a alkoholů
2. Heterolipidy – sloučeniny mastných kyselin, alkoholů a dalších kovalentně vázaných sloučenin
3. Komplexní lipidy – obsahují homolipidy i heterolipidy a kromě kovalentních vazeb se uplatňují i některé vazby fyzikální, jako např. vodíkové můstky a hydrofobní interakce (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

Jako základní jednotku lipidů lze považovat mastné kyseliny a další složení bude znázorňováno zastoupením těmito kyselinami. V živočišných i rostlinných tucích se vyskytují volné mastné kyseliny vzniklé hydrolysou lipidů katalytickým působením hydrolas jen v malém množství. Přehled hlavních mastných kyselin ve vepřovém sádle, které je pro tuto práci stěžejní, je uveden v tabulce č.6 (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

**Tabulka 6 Mastné kyseliny ve vepřovém sádle a jejich bod tání (Velíšek a Hajšlová, 2009a)**

| MK             | Procentuelní podíl | Bod tání (°C) |
|----------------|--------------------|---------------|
| laurová        | stopy              | 44,2          |
| myristová      | 0,5 - 2,5          | 54,1          |
| palmitová      | 20 - 32            | 62,7          |
| palmitoolejová | 1,7 - 5,0          | -             |
| stearová       | 5 - 24             | 69,6          |
| olejová        | 35 - 62            | 16            |
| linolová       | 3 - 16             | -             |
| linoleová      | < 1,5              | 28,5          |
| arachová       | < 1,0              | 75,4          |
| eikosenová     | < 1,0              | -             |

### 3.5.2 Stanovení profilu mastných kyselin

Nejpoužívanější metodou ke stanovení profilu mastných kyselin je plynová chromatografie.

- **Plynová chromatografie**

Principem metody je převod mastné kyseliny nebo esteru glycerolu na methylestery, které se rozdělí pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem. Jednotlivé složky se identifikují na základě elučních (retenčních) časů. Z plochy zón (píků) se vypočítá poměrné zastoupení jednotlivých kyselin ve směsi v relativních procentech. Součet všech ploch píků na chromatogramu odpovídá 100 % složek

Tato metoda je vhodná pro běžné tuky a oleje. V přítomnosti oxidovaných mastných kyselin, hydroxykyselin, epoxykyselin, cyklických kyselin a vosků může dát méně přesné výsledky.

Příprava methylesteru je možná s použitím fluoridu boritého jako katalyzátoru. Ke kvantitativnímu vyhodnocení je možno použít vnitřní standard. Rozdíl mezi dvěma souběžnými měřeními by neměl být u hlavních složek vyšší než 3 % relativní a 1 % absolutní.

- **Stanovení konjugovaných mastných kyselin**

Mastné kyseliny a jejich estery s konjugovanými vazbami absorbují při 223 nm nebo při 268 nm. Záhřevem v alkalickém prostředí přecházejí polyenové mastné kyseliny v konjugované izomery a dají se takto stanovit. Dnes je toto stanovení nahrazeno plynovou chromatografií (Davídek a kol., 1981).

### 3.5.3 Získávání živočišných tuků

Živočišné tuky se získávají působením horké vody, páry nebo tradičním způsobem škvařením. Škvařené tuky mají charakteristickou chuť způsobenou pyrolytickými produkty bílkovin obsažených v tukové tkáni, naopak tuky získané horkou vodou jsou bez vůně a chuti (Velíšek a Hajšlová, 2009a).

### 3.5.4 Antioxidanty v živočišných tucích

Živočišné tuky, stejně jako i rostlinné oleje, mohou obsahovat přírodní antioxidanty. Jak uvádí Pospíšil (1968), tyto antioxidanty poskytují určitou ochranu před oxidací vzdušným kyslíkem. V průběhu technického zpracování se část těchto látek rozkládá a v mnoha případech se po zpracování tuku vhodné antioxidanty přidávají. Požadavky na přidané

antioxidanty jsou: rozpustnost v daném systému, neovlivňování chutě nebo vzhledu výrobku a splnění požadavků ekonomických a legislativních.

### **3.5.5 Změny při smažení**

Během smažení, jak uvádí Velíšek a Hajšlová (2009a), je tuk vystavován vysokým teplotám kolem 150 – 200 °C. Smažení lze rozdělit na smažení v tenké vrstvě cca do 50 mm a ve vrstvě vysoké, nad 55 mm, kdy je potravina v tuku ponořena. Ve druhém způsobu smažení, označovaném také jako fritování, se po vložení potraviny odpařuje voda, tím se tuk ochlazuje a v následujících minutách se teplota opět zvyšuje. V tukové lázni probíhá během smažení několik procesů. Hlavními procesy jsou procesy hydrolytické, které vznikají působením horké vodní páry odpařené z potraviny a horkého tuku. Vzniklé mastné kyseliny se z části absorbují do potraviny a z části unikají do ovzduší. Dalšími procesy jsou oxidační procesy, kdy rychlost závisí na obsahu rozpuštěného kyslíku v tuku. Zpočátku je tato rychlost vysoká, avšak během smažení se kyslík spotřebovává a reakce se zpomaluje. Pokud smažicí medium začne pěnit, mezi vzduchem a tukem se zvětší styčná plocha a rychlost difuze se zvýší. Procesy, při nichž také vznikají sensoricky výrazně aktivní látky jsou procesy pyrolytické a dalšími procesy, které probíhají během smažení jsou polymerační procesy.

Pokorný et. al. (2001) uvádí, že ve smažicích olejích musí být obsaženy především netěkavé antioxidanty, které vydrží vysoké teploty a neuniknou s tvořící se párou.

Houhoula et. al. (2004) ve své práci popisují účinky čerstvého oregana a oregánového extraktu při smažení bramborových hranolků v oleji z bavlníkových semen. Měření ukazují, že přídavek čerstvého oregana i oregánového extraktu snižují míru výskytu konjugovaných dienu, polárních sloučenin, polymerizovaných triacylglycerolů, dimerových triacylglycerolů a p-anisidinového čísla u smaženého oleje, zatímco hydrolytické sloučeniny zůstaly beze změny. Největší snížení výskytu bylo zpozorováno u polymerizovaných a dimerových triacylglycerolů. Výsledkem bylo prokazatelné udržení kvality oleje i po opakovaném smažení jak s přídávkem extraktu tak s čerstvým organem oproti kontrolnímu smažení bez přídávku antioxidantu.

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Smažení bramborových hranolků

#### 4.1.1 Materiál

- Brambory
  - brambory konzumní pozdní
  - odrůda Laura
  - varný typ B-C
  - výrobce ZD Dřísy
  - baleno 13. 9. 2011
  - balení po 10 kg
- Sádlo
  - balené vepřové škvařené sádlo
  - výrobce Zřud – Masokombinát Písek CZ, a.s.
  - země původu Česká republika
  - hmotnost  $(250 \pm 9)$  g
  - minimální trvanlivost do 31. 12. 2011
  - skladujte při teplotě  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $+7\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Byliny
  - sušené byliny
  - oregano řecké (*Origanum heracleoticum*)
  - dobromysl obecná (*Origanum vulgare*)

#### 4.1.2 Přístroje

- Fritovací hrnce
  - Friteuse 2801, FR 400
  - Ufesa, FR 1511
- Váhy
  - Shinko Denshi AJ – 2200 CE
  - max. 2200 g, min. 0,5 g
  - e 0,1 g, d = 0,01 g
- Analytické váhy
  - A&D ER – 180 A
  - max. 180 g, d = 0,1 mg

#### 4.1.3 Pracovní postup

Pro získání materiálu, sádla, pro další postup, bylo prováděno smažení ve třech sériích: bez bylin, s přídavkem oregana řeckého a s přídavkem dobromysli obecné. Ve fritéze

bylo rozpuštěno 2,5 kg sádla, tj. 10 kostek po 250 g a dle série přidáno příslušného materiálu v množství 10 g bylin na 1 kg sádla. Pro naše množství sádla odpovídala dávka bylin 25 g. Každá série podstoupila smažení deseti dávek bramborových hranolků a odebrání dvou paralelních vzorků po každém ze smažení. Bramborové hranolky byly loupány a krájeny ručně z odrůdy Laura. Jedna smažicí dávka byla  $500 \pm 0,5$  g. Smažení probíhalo při 160 °C po dobu cca 15 minut. Při ponoru bramborových hranolek se smažicí tuk ochladil na cca 130 °C, na původní teplotu stoupl po cca 7 minutách. Po odebrání dvou paralelních vzorků sádla pro Schaaluv test (2 x 25 g) a esterifikaci (2 x 0,5 g) bylo sádlo ve fritéze přeneseno do chladicího zařízení. Při teplotě +6 °C bylo chlazeno až na teplotu cca 20 °C (po cca 3 hodinách), poté následovalo opětovné zahřátí a další smažení. Za jeden den byly provedeny dvě smažení. Do dalšího dne bylo sádlo uchováno při +6 °C.

## **4.2 Esterifikace mastných kyselin**

### **4.2.1 Materiál**

- K esterifikaci bylo použito vepřové sádlo, které jsme odebrali v jednotlivých sériích po každém smažení dávky hranolků

### **4.2.2 Chemikálie**

- Methanol (Scharlan)
- 0,25M hydroxid draselný v methanolu p.a. (Lachema)
- n-heptan (Merck)
- nesyčený roztok chloridu sodného p.a. (Penta)
- síran sodný bezvodný čistý (Lachema)

### **4.2.3 Přístroje**

- Analytické váhy - A&D ER – 180 A  
- max. 180 g, d = 0,1 mg
- Varné hnízdo
- Mraznička Zanussi

### **4.2.4 Pracovní postup**

Do 50 ml zábrusové baňky s kulatým dnem bylo na analytických vahách naváženo 0,5 g sádla po smažení, vždy dva paralelní vzorky. Ke vzorku bylo přidáno 5 ml methanolu

a 0,5 ml 0,25 M hydroxidu draselného v methanolu. Po přidání varného kamínku byla směs zahřívána ve varném hnízdě pod zpětným chladičem. Dokud nedošlo k vymizení mastných kapiček na dně baňky, bylo přidáváno po 1 ml 0,25M KOH v methanolu a dále zahříváno. Celkem byl KOH v methanolu přidán 3x po 5 minutách zahřívání. Samotná esterifikace trvala cca 25 minut. Po skončení varu bylo skrz ústí zpětného chladiče přidáno 5 ml n-heptanu. Směs byla promíchána, po sundání z chladicí aparatury doplněna roztokem chloridu sodného tak, aby hladina dosáhla hrdla baňky. Po oddělení horní heptanové fáze byla tato vrstva odsáta do vialky, kam byl přidán bezvodý síran sodný pro případné vysušení vzorku. Vialky byly uchovány v mrazničce až do doby, kdy byla provedena plynová chromatografie.

### 4.3 Stanovení stability tuků proti autooxidaci podle Schaala

#### 4.3.1 Materiály

- vepřové sádlo, které jsme odebrali v jednotlivých sériích po každém smažení dávky hranolků
- nesmažené vepřové sádlo - viz kapitola 4.1.1.
- nesmažené vepřové sádlo s přidáním sušených bylin *Origanum vulgare* a *Origanum heracleoticum*

#### 4.3.2 Přístroje

- Termostat POL - EKO APARATURA ST
- Sušárna KEBO GRAVE, typ U 30
- Analytické váhy - A&D ER – 180 A  
- max. 180 g, d = 0,1 mg

#### 4.3.3 Pracovní postup

Do kádinek bylo na analytických vahách navažováno 25 g sádla s přesností na čtyři desetinná místa. Od každého vzorku byly naváženy vždy dva paralelní vzorky. Prvním vzorkem bylo sádlo bez smažení a bez přídavku bylin, tzv. kontrola. Dalšími nesmaženými vzorky bylo sádlo s přídavkem 0,4 g *Origanum vulgare* a s přídavkem 0,4 g *Origanum heracleoticum*. Zbytek vzorků bylo odebíráno vždy po jednotlivých smaženích příslušných variant. Byliny přidávané ke smažení byly před vážením do kádinek scezeny. Po navážení byly kádinky umístěny do termostatu vyhřátého na teplotu 60 °C ±1 °C. Kontrolní vážení bylo prováděno 2x týdně v období od 19. 9. 2011 do 14. 2. 2012. V průběhu pokusu bylo

nutno kádinky přesunout z termostatu, který se porouchal, do sušárny, kde byly nastaveny stejné podmínky jako v termostatu. Vzorky byly přesunuty 28.11.2011 a setrvaly v sušárně až do konce pokusu.

Dále byla vypočítána relativní změna hmotnosti podle vzorce:

$$\frac{m_x - m_p}{m_p}$$

$m_x$  je hmotnost sádla a případně přidaných bylin v jednotlivých dnech vážení

$m_p$  je hmotnost bylin a případně přidaných bylin v první den vážení.

Ze získaných hodnot relativní změny hmotnosti byl sestaven graf v závislosti na počtu dnů, kdy byl vzorek uchovávan v termostatu. Z grafu byla odečtena indukční perioda a dále vypočítán protekční faktor, podle vzorce:

$$PF = \frac{IP_{inh}}{IP_0}$$

## **4.4 Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie**

### **4.4.1 Materiály**

- heptanová fáze oddělená ze vzorku po esterifikaci

### **4.4.2 Chemikálie**

- n-heptan

### **4.4.3 Přístroje**

- Mraznička Zanussi
- GC Aglient Technologies 7890 A

### **4.4.4 Pracovní postup**

Analýza probíhala na plynovém chromatografu s použitím kolony GC – Rt 2560 s rozměry 100 m x 0,25 mm x 0,2 μm. Teplota nástřiku vzorku byla 250 °C stejně jako teplota detektoru. Teplotní program byl nastaven na 100 °C s výdrží po dobu 4 minut. Dále teplota vzrůstala o 3 °C za minutu až do teploty 240 °C s výdrží po dobu 10 minut. Jako nosný plyn bylo použito helium, jehož průtok byl nastaven na 1 ml/ min. Celá metoda trvala po dobu 70 minut. Před měřením samotného vzorku byla propláchnuta mikrostříkačka n–heptanem



a první měřený vzorek byl samotný n–heptan, druhým vzorkem byl standard. Další vzorky již byly námi měřené vzorky.

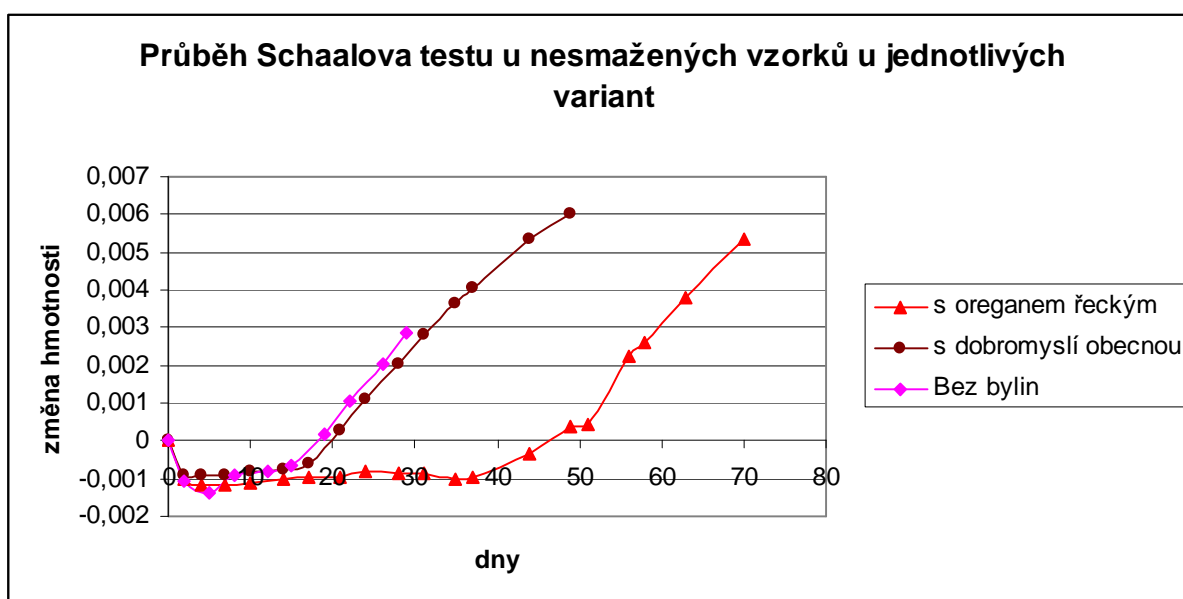
Po skončení analýzy bylo zastoupení jednotlivých mastných kyselin vyhodnoceno metodou vnitřní normalizace.

## 5 Výsledky

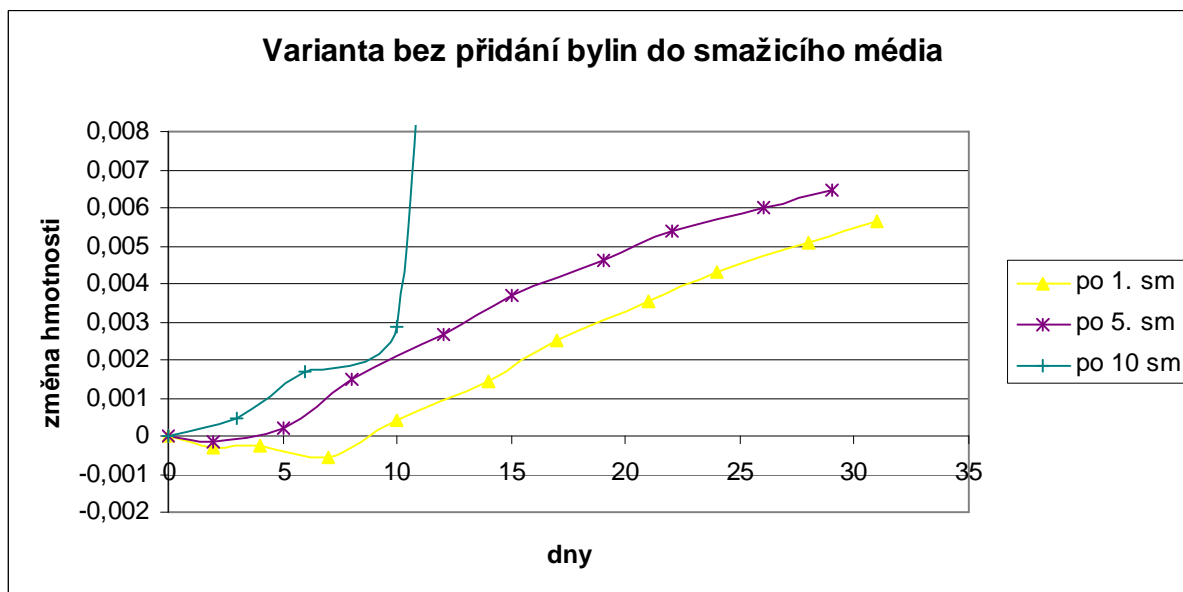
### 5.1 Výsledky stanovení stability tuků proti autooxidaci podle Schaala

Vzorky sádla byly uchovávány při teplotě 60 °C a pravidelné vážení vzorků probíhalo celkově 127 dnů. Změny hmotnosti byly znázorněny graficky. Graf č. 1 znázorňuje rozdíl průběhů Schaalova testu u vzorků sádla, které nebyly smaženy. Průběhy Schaalova testu u vzorků jednotlivých variant, které podléhaly opakovanému smažení jsou znázorněny v grafech 2, 3 a 4.

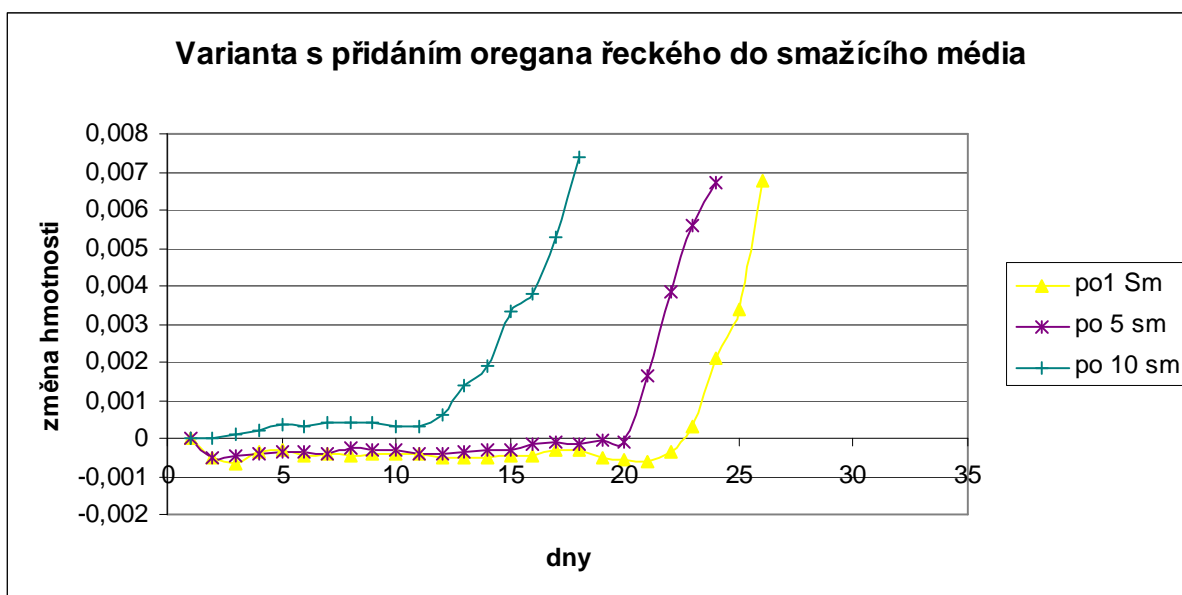
Graf 1 Průběh Schaalova testu u nesmažených vzorků u jednotlivých variant



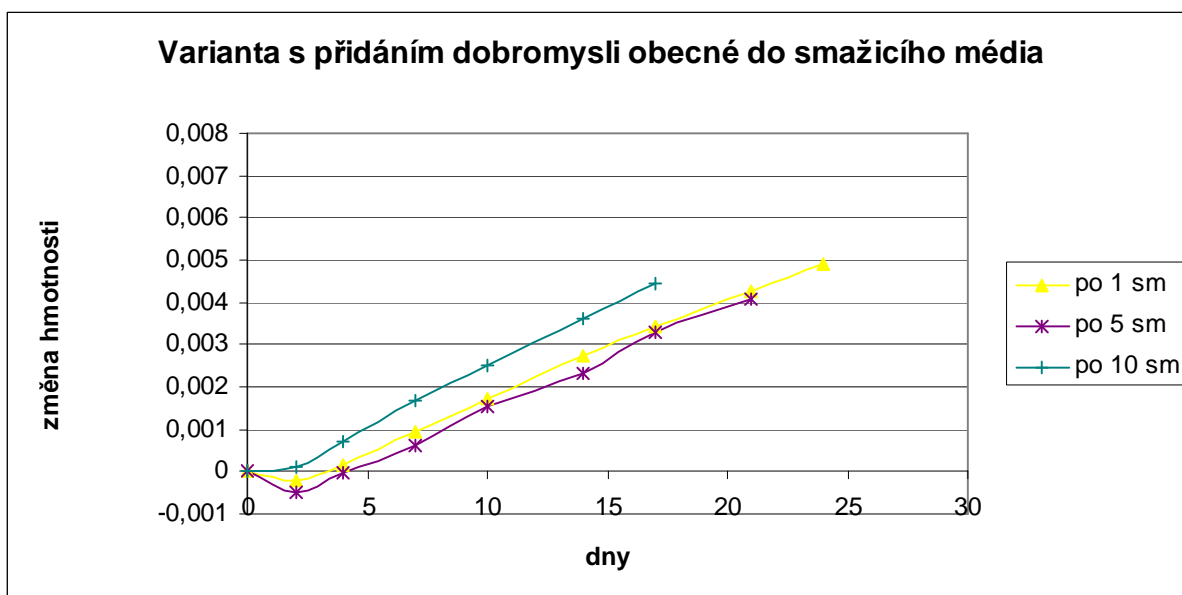
Graf 2 Průběh Schaalova testu u varianty bez přídavku bylin, po 1., 5., 10. smažení



**Graf 3 Průběh Schaalova testu u varianty s přidavkem oregana řeckého, po 1., 5., 10. smažení**



**Graf 4 Průběh Schaalova testu u varianty s přidavkem dobromysly obecné, po 1., 5., 10. smažení**



Z jednotlivých grafů pro každé smažení byla odečtena indukční perioda každého vzorku. Paralelní vzorky byly pomocí vzorců v excelu zprůměrnovány a podle vzorce z kapitoly 4. 3. 3. byl z průměrných hodnot IP vypočten protekční faktor, viz tabulka číslo 7. V tabulce č. 8 jsou znázorněny též údaje pro nesmažené vzorky. Protekční faktor je vždy vztažen k nesmaženému vzorku sádla bez přidání bylin.

**Tabulka 7 Přehled IP a PF jednotlivých vzorků po jednotlivých smaženích**

|  | počet<br>smažení | IP<br>vzorek A | IP<br>vzorek B | IP<br>průměr | PF   |
|--|------------------|----------------|----------------|--------------|------|
| Varianta bez bylin                     | 1                | 8              | 8              | 8            | 0,52 |
|  | 2                | 8              | 8              | 8            | 0,52 |
|  | 3                | 5              | 6              | 5,5          | 0,35 |
|  | 4                | 5              | 5              | 5            | 0,32 |
|  | 5                | 4              | 4              | 4            | 0,26 |
|  | 6                | 4              | 3              | 3,5          | 0,23 |
|  | 7                | 3              | 2              | 2,5          | 0,16 |
|  | 8                | 3              | 3              | 3            | 0,19 |
|  | 9                | 2              | 3              | 2,5          | 0,16 |
|  | 10               | 2              | 2              | 2            | 0,13 |
| Varianta s přísávkem oregana řeckého   | 1                | 90             | 90             | 90           | 5,81 |
|  | 2                | 90             | 92             | 91           | 5,87 |
|  | 3                | 79             | 80             | 79,5         | 5,13 |
|  | 4                | 77             | 79             | 78           | 5,03 |
|  | 5                | 73             | 75             | 74           | 4,77 |
|  | 6                | 70             | 70             | 70           | 4,52 |
|  | 7                | 65             | - *            | 65           | 4,19 |
|  | 8                | 49             | 49             | 49           | 3,16 |
|  | 9                | 44             | 43             | 43,5         | 2,81 |
|  | 10               | 43             | 41             | 42           | 2,71 |
| Varianta s přísávkem dobromysli obecné | 1                | 3              | 4              | 3,5          | 0,23 |
|  | 2                | 4              | 3              | 3,5          | 0,23 |
|  | 3                | 4              | 4              | 4            | 0,26 |
|  | 4                | 4              | 4              | 4            | 0,26 |
|  | 5                | 4              | 4              | 4            | 0,26 |
|  | 6                | 4              | 6              | 5            | 0,32 |
|  | 7                | 5              | 6              | 5,5          | 0,35 |
|  | 8                | 4              | 4              | 4            | 0,26 |
|  | 9                | 3              | 3              | 3            | 0,19 |
|  | 10               | 3              | 3              | 3            | 0,19 |

\* hodnota byla vyřazena pro odlehlost

**Tabulka 8 Přehled IP a PF jednotlivých vzorků bez smažení**

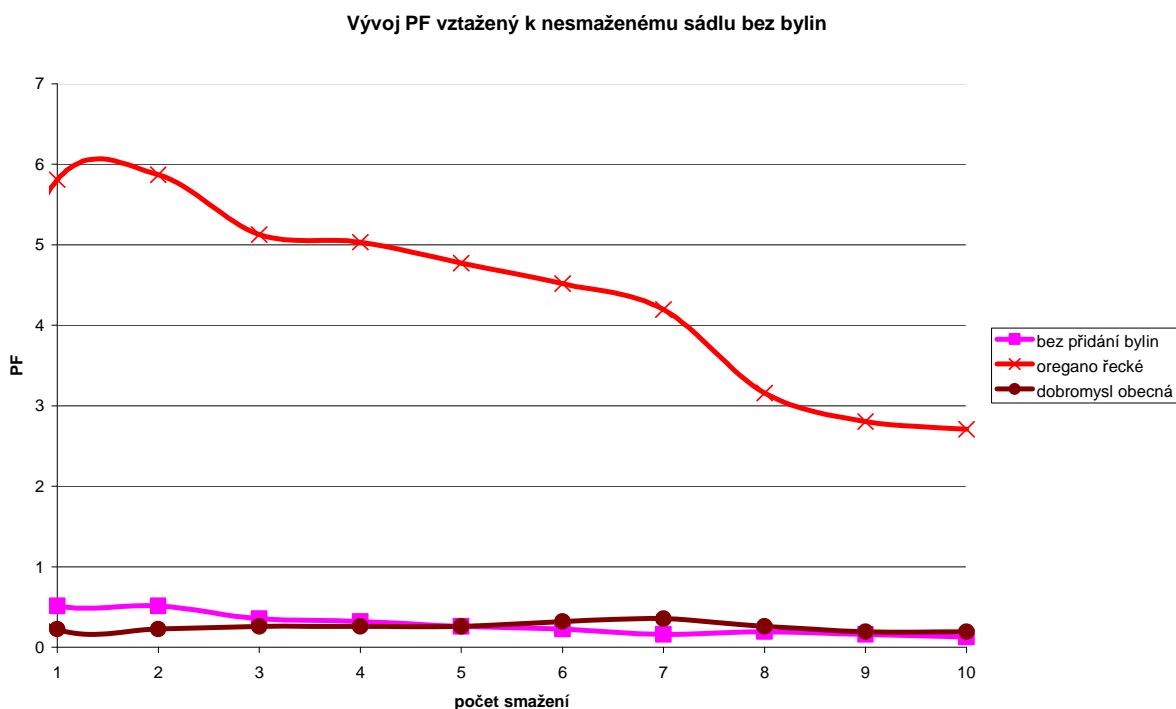
|   | IP<br>vzorek A | IP<br>vzorek B | IP<br>průměr | PF   |
|---|----------------|----------------|--------------|------|
| Varianta bez přidání<br>bylin             | 15             | 16             | 15,5         | 1    |
| Varianta s přídavkem<br>oregana řeckého   | 51             | 41             | 46           | 2,97 |
| Varianta s přídavkem<br>dobromysli obecné | 17             | 17             | 17           | 1,10 |

Oregano řecké přidané do smažicího média vykazuje jednoznačně nejdelší indukční periodu ze všech variant a to až 91 dní. Porovnání vývoje protekčních faktorů, tedy antioxidační efektivity, je znázorněno v grafu č. 5. PF je největší u varianty s přídavkem oregana řeckého. Varianty bez bylin a s dobromyslí obecnou měly podobný vývoj PF. V grafu č. 6 jsou křivkami PF proloženy lineární spojnice trendů a jsou zde znázorněny rovnice regrese a vypočtena hodnota spolehlivosti  $R^2$ , neboli také koeficient determinace. Hodnota spolehlivosti udává, jak je rozptyl hodnot závislé proměnné veličiny Y vysvětlen změnami hodnot nezávisle proměnné veličiny X. Koeficient nabývá hodnot od 0 do 1 a čím je vyšší, tím je nalezený model kvalitnější. Pro větší přehlednost jsou tyto hodnoty i v tabulce č.9.

**Tabulka 9 Přehled rovnic regrese a hodnot spolehlivosti  $R^2$  u jednotlivých variant**

|                                  | Rovnice regrese          | Hodnota spolehlivosti $R^2$ |
|----------------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| Bez přidání bylin                | $y = - 0,0657x + 0,6774$ | 0,7338                      |
| S přídavkem oregana<br>řeckého   | $y = - 0,2164x + 5,3519$ | 0,3663                      |
| S přídavkem dobromysli<br>obecné | $y = - 0,039x + 0,5264$  | 0,2504                      |

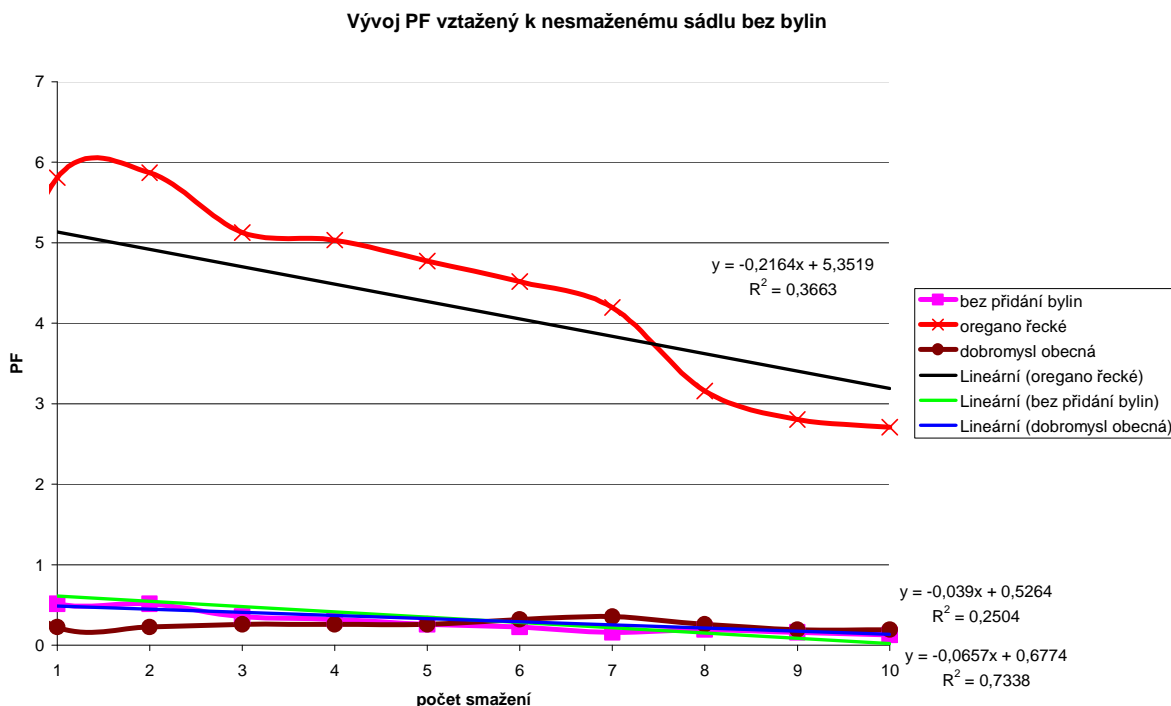
Graf 5 Vývoj PF jednotlivých variant, vztažené k nesmaženému sádlu bez bylin



V grafu č. 5 je vyjádřena změna antioxidační efektivity všech variant během smažení k hodnotě PF nesmaženého sádlu bez bylin, tedy k hodnotě jedna.

- Po prvním smažení u varianty bez přidání bylin klesá PF o polovinu. Po 3. smažení až k 10. smažení se hodnota PF pohybuje na hodnotě  $\frac{3}{4}$ .
- U varianty s přidáním dobromysli obecné je vývoj PF podobný jako u varianty bez bylin. Pokles PF je již po 1. smažení na cca  $\frac{1}{4}$ , pak se mírně zvedá. Po 7. smažení se zvýší na  $\frac{1}{2}$ , dále ale klesá opět na cca  $\frac{1}{4}$ .
- U varianty s přidáním oregana řeckého je výrazný nárůst PF. Po 1. a 2. smažení dosahuje téměř šesti násobku. Po 3. – 5. smažení PF klesá na cca pětinašobek, po 7. a 8. smažení na trojnásobek a po 9. a 10. smažení ještě mírně poklesne.

**Graf 6 Vývoj PF jednotlivých variant proložena spojnicemi trendů, hodnoty lineárních regresních koeficientů**



Průkaznost rozdílů mezi jednotlivými variantami byla počítána v excelu pomocí dvouvýběrového t-testu. Přehled porovnávaných variant a jejich průkaznost je znázorněna v tabulce č.10.

**Tabulka 10 Průkaznost rozdílů jednotlivých variant s 95 % spolehlivostí**

| Porovnávané varianty                     | Ne/průkaznost rozdílů s 95 % spolehlivostí |
|--|--|
| Bez přidání bylin x s oreganem řeckým    | Průkazný rozdíl                            |
| Bez přidání bylin x s dobromyslí obecnou | Neprůkazný rozdíl                          |
| S oreganem řeckým x s dobromyslí obecnou | Průkazný rozdíl                            |

## 5.2 Výsledky měření profilu mastných kyselin plynovou chromatografií

Z detekovaných mastných kyselin se v největším množství vyskytovaly kyseliny olejová, palmitová a stearová. Dále to byly kyseliny linolová, myristová, palmitoolejová, arachová, eikosanová, eikosadienová a trikosanová. Další z kyselin se u většiny vzorků vyskytovaly pod hranicí meze detekce. Byly to kyseliny margarová, cis margarová,

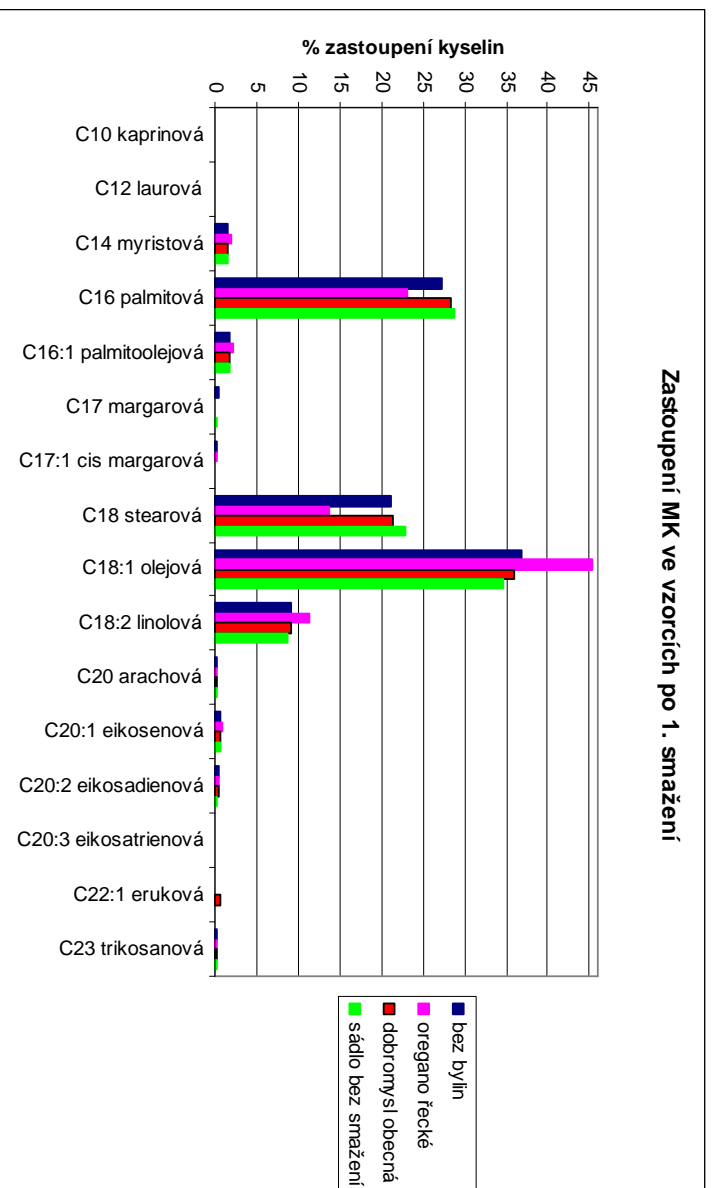
kaprinová, laurová, eikosatrienová a eruková. Přesné zastoupení jednotlivých mastných kyselin znázorňuje tabulka č. 12. Obrazové vyjádření zastoupení jednotlivých kyselin v jednotlivých variantách se vzrůstajícím počtem smažení znázorňují grafy č. 7 - 11.



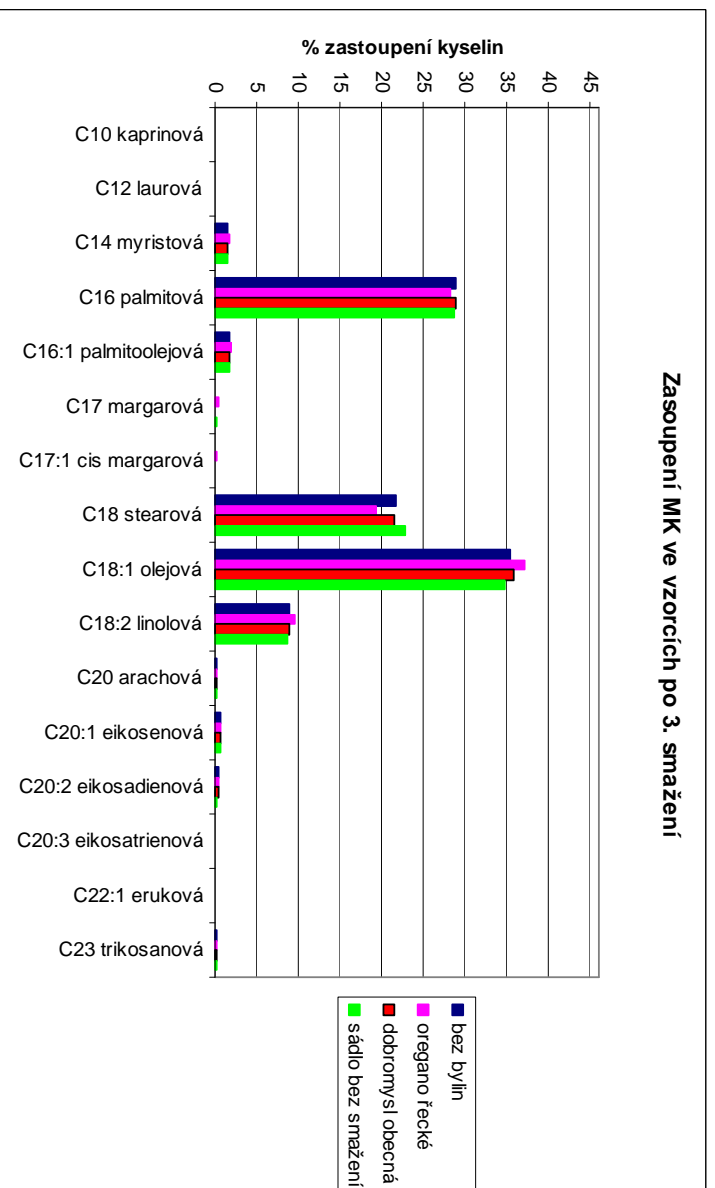
Tabulka 11 Procentuelní zastoupení MK u jednotlivých variant

| varianta bez bylin                   | C10<br>kaprinová | C12<br>laurová | C14<br>myrist-ová | C16<br>palmit-ová | C16:1<br>palmitolejová | C17<br>margarová | C17:1<br>cis margarová | C18<br>stearová | C18:1<br>olejová | C18:2<br>linolová | C20<br>arachová | C20:1<br>eikosenová | C20:2<br>eikosadienová | C20:3<br>eikosatrienová | C22:1<br>eruková | C23<br>trikosanová |
|--------------------------------------|------------------|----------------|-------------------|-------------------|------------------------|------------------|------------------------|-----------------|------------------|-------------------|-----------------|---------------------|------------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| po 1. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,55              | 27,3              | 1,7                    | 0,35             | 0,2                    | 21,15           | 36,95            | 9,05              | 0,25            | 0,65                | 0,4                    | <0,1                    | <0,1             | 0,15               |
| po 3. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,55              | 28,8              | 1,7                    | <0,1             | <0,1                   | 21,7            | 35,45            | 8,85              | 0,3             | 0,65                | 0,35                   | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| po 5. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,5               | 28,9              | 1,75                   | <0,1             | <0,1                   | 22,35           | 34,85            | 8,7               | 0,3             | 0,6                 | 0,3                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| po 8. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,55              | 28,85             | 1,8                    | <0,1             | <0,1                   | 21,7            | 35,45            | 8,8               | 0,3             | 0,6                 | 0,3                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| po 10. smažení                       | <0,1             | <0,1           | 1,55              | 28,55             | 1,75                   | <0,1             | <0,1                   | 21,95           | 35,65            | 8,65              | 0,3             | 0,6                 | 0,3                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| <b>varianta s oreganem řeckým</b>    |                  |                |                   |                   |                        |                  |                        |                 |                  |                   |                 |                     |                        |                         |                  |                    |
| po 1. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,9               | 23,15             | 2,25                   | 0,05             | 0,25                   | 13,65           | 45,3             | 11,4              | 0,2             | 0,85                | 0,4                    | <0,1                    | <0,1             | 0,25               |
| po 3. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,65              | 28,15             | 1,85                   | 0,35             | 0,3                    | 19,3            | 37,15            | 9,45              | 0,3             | 0,65                | 0,4                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| po 5. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,4               | 28,75             | 1,65                   | 0,1              | 0,1                    | 24,5            | 33,65            | 8,25              | 0,3             | 0,55                | 0,3                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| po 8. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,35              | 30,4              | 1,6                    | <0,1             | 0,1                    | 23,35           | 33,45            | 8,05              | 0,3             | 0,55                | 0,3                    | <0,1                    | <0,1             | 0,15               |
| po 10. smažení                       | <0,1             | <0,1           | 1,5               | 29                | 1,7                    | 0,3              | 0,2                    | 22,35           | 34,85            | 8,45              | 0,3             | 0,65                | 0,3                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| <b>varianta s dobromyslí obecnou</b> |                  |                |                   |                   |                        |                  |                        |                 |                  |                   |                 |                     |                        |                         |                  |                    |
| po 1. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,55              | 28,45             | 1,8                    | <0,1             | 0,1                    | 21,35           | 35,95            | 9,05              | 0,3             | 0,6                 | 0,4                    | <0,1                    | 0,75             | 0,2                |
| po 3. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,6               | 28,8              | 1,7                    | 0,1              | 0,1                    | 21,4            | 35,8             | 8,9               | 0,3             | 0,6                 | 0,4                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| po 5. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,55              | 28,75             | 1,7                    | <0,1             | 0,2                    | 21              | 36,1             | 8,9               | 0,3             | 0,7                 | 0,4                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| po 8. smažení                        | <0,1             | <0,1           | 1,5               | 28,5              | 1,7                    | <0,1             | <0,1                   | 21,95           | 35,8             | 8,7               | 0,3             | 0,6                 | 0,4                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |
| po 10. smažení                       | <0,1             | <0,1           | 1,4               | 29,15             | 1,65                   | 0,2              | <0,1                   | 22,7            | 34,8             | 8,3               | 0,3             | 0,6                 | 0,3                    | <0,1                    | <0,1             | 0,1                |
| <b>sádlo bez smažení</b>             |                  |                |                   |                   |                        |                  |                        |                 |                  |                   |                 |                     |                        |                         |                  |                    |
|                                      | <0,1             | <0,1           | 1,5               | 28,7              | 1,7                    | 0,3              | <0,1                   | 22,8            | 34,7             | 8,65              | 0,3             | 0,6                 | 0,3                    | <0,1                    | <0,1             | 0,2                |

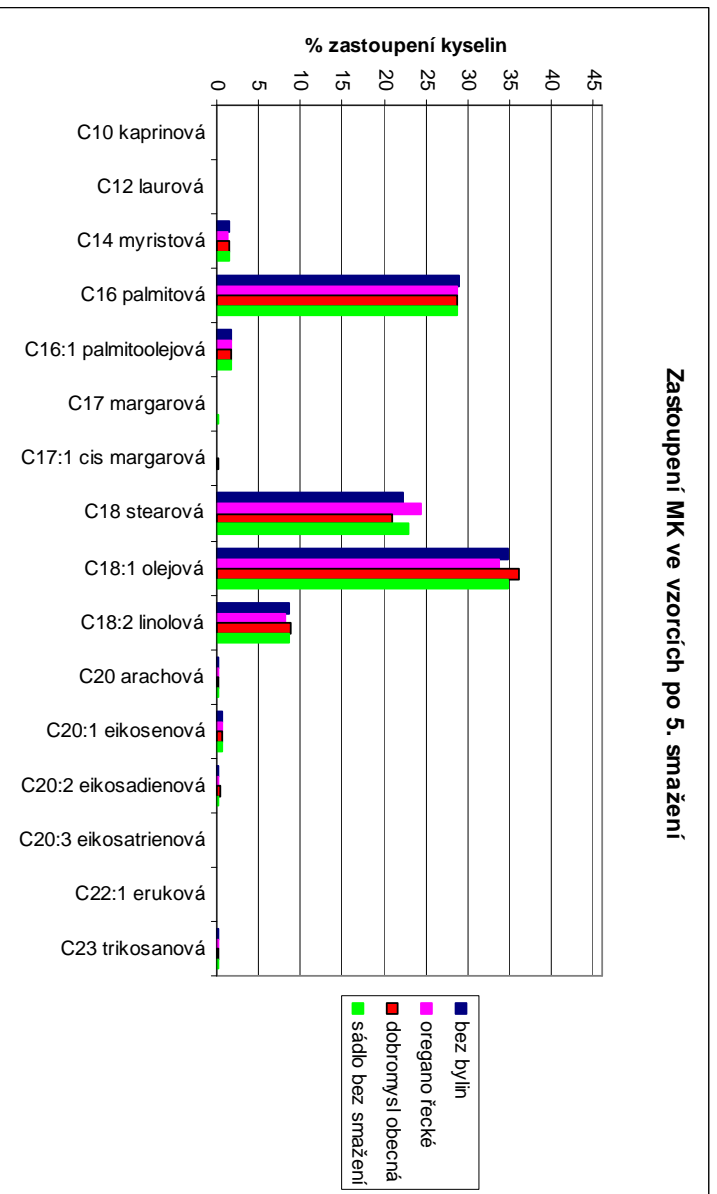
Graf 7 Zastoupení MK u jednotlivých variant po 1. smažení



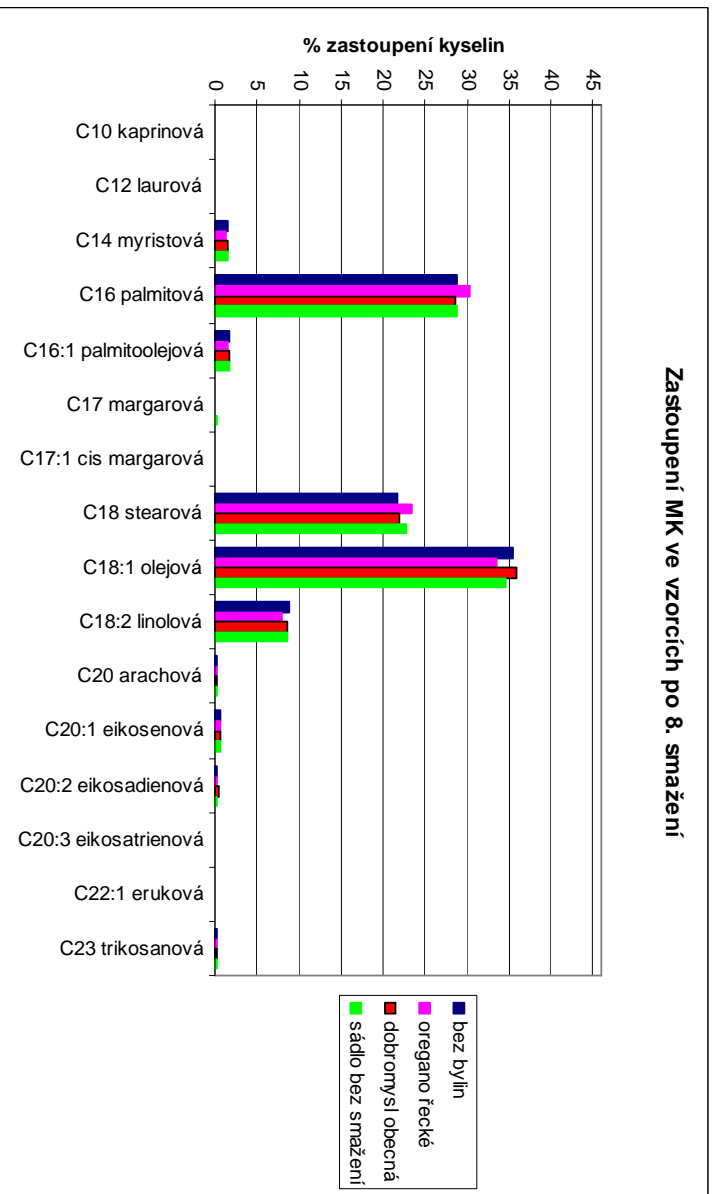
Graf 8 Zastoupení MK u jednotlivých variant po 3. smažení



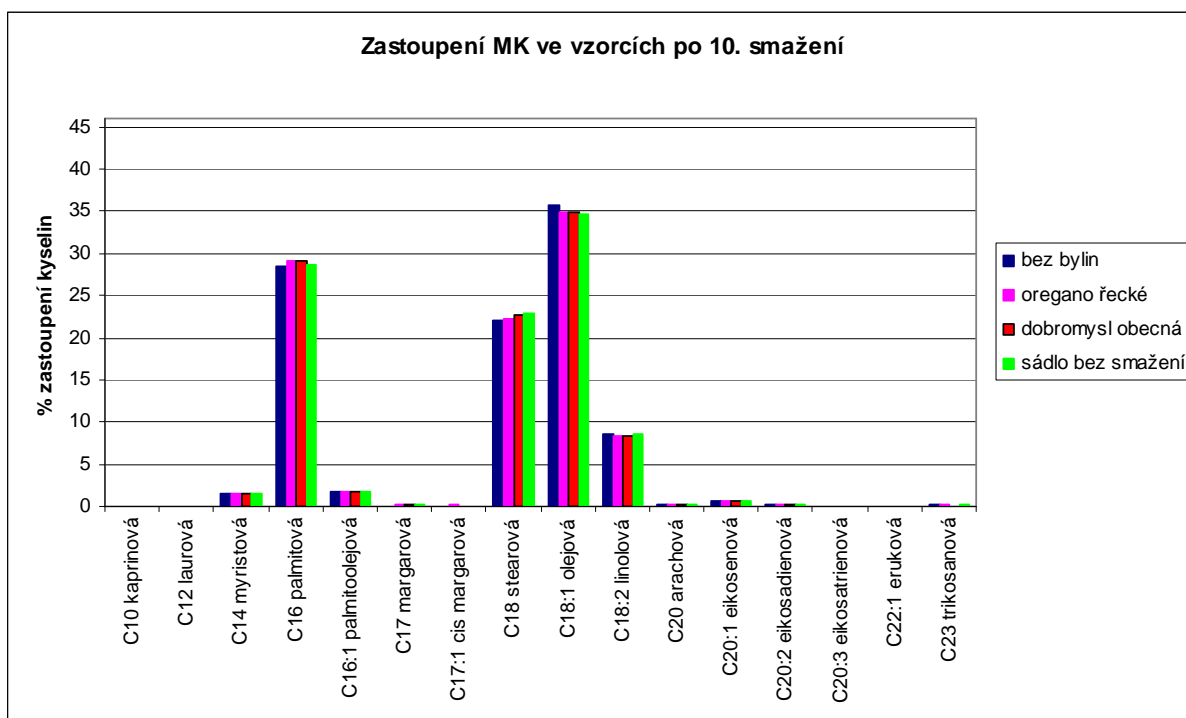
**Graf 9 Zastoupení MK u jednotlivých variant po 5. smažení**



**Graf 10 Zastoupení MK u jednotlivých variant po 8. smažení**

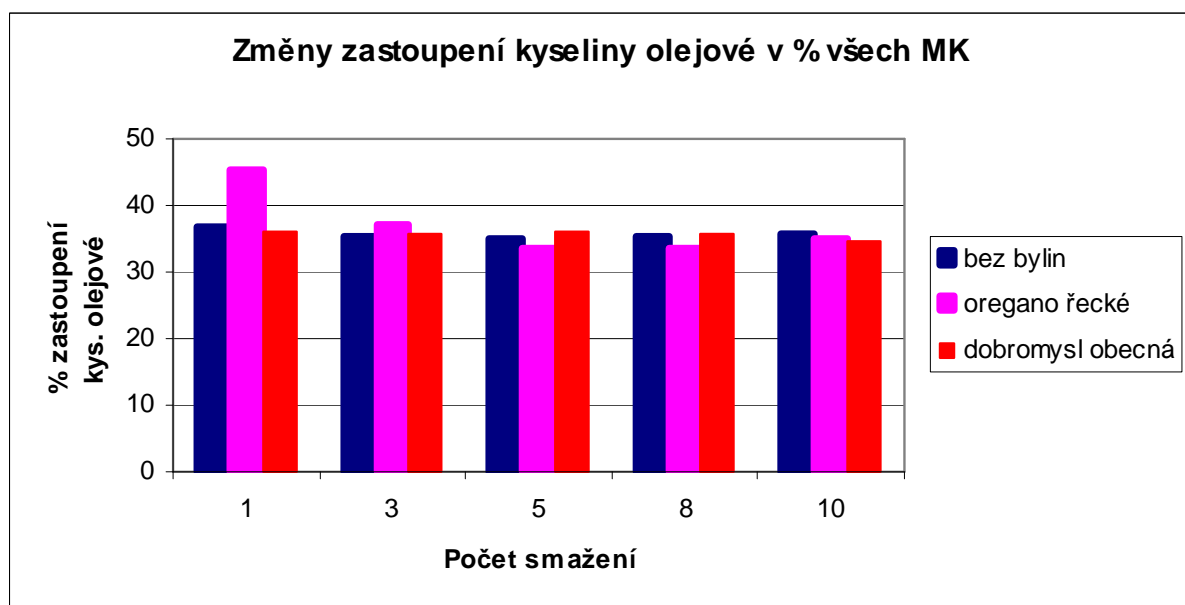


Graf 11 Zastoupení MK u jednotlivých variant po 10. smažení

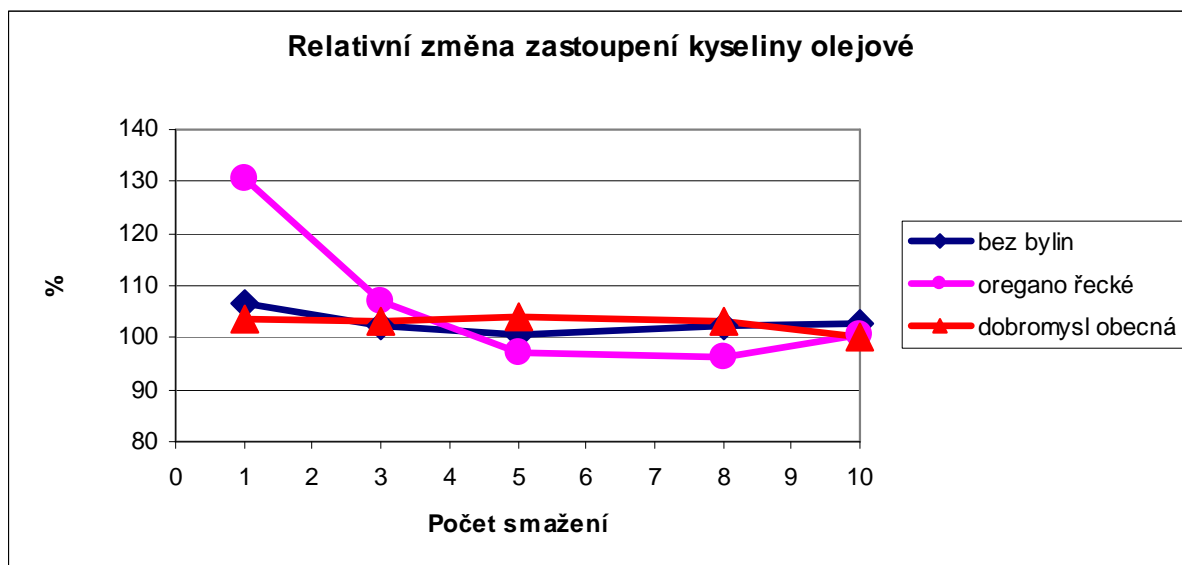


Mastné kyseliny s největšími procenty zastoupení, tedy kyseliny palmitová, stearová, olejová a linolová, a jejich změny zastoupení s rostoucím počtem smažení je možné porovnat v grafech č. 12 – 19. Jejich změna je vyjádřena v procentech všech mastných kyselin a v relativních změnách vůči sádlu bez smažení (100 %).

Graf 12 Změny zastoupení kyseliny olejové v % všech MK

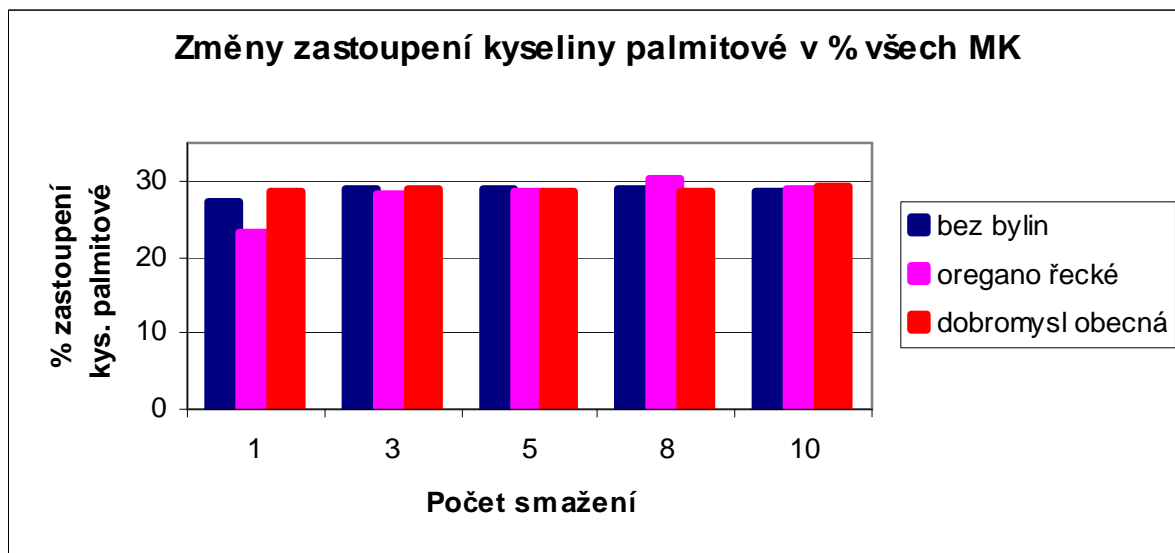


**Graf 13 Relativní změna zastoupení kyseliny olejové (100 % = sádlo bez smažení)**

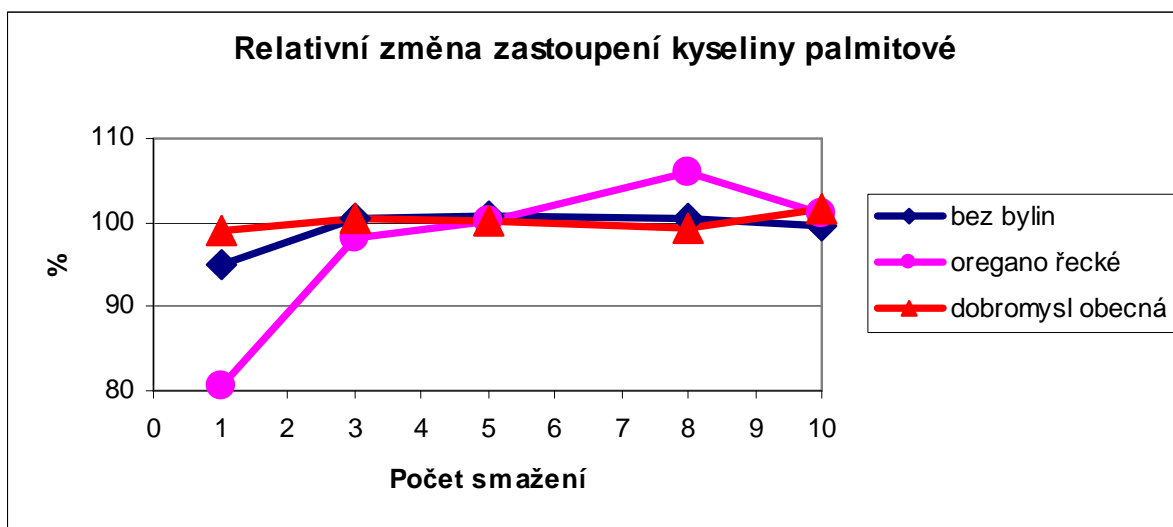


Zastoupení kyseliny olejové v % všech MK v průběhu smažení je v rozmezí 33 až 46 %. Kolísání hodnot u všech třech variant při vzrůstajícím počtu smažení je v rozmezí  $\pm 10\%$ , jen u varianty s přidáním oregana řeckého je po prvním smažení patrný zvýšený obsah kyseliny olejové o 30 % oproti sádlu bez smažení.

**Graf 14 Změny zastoupení kyseliny palmitové v % všech MK**

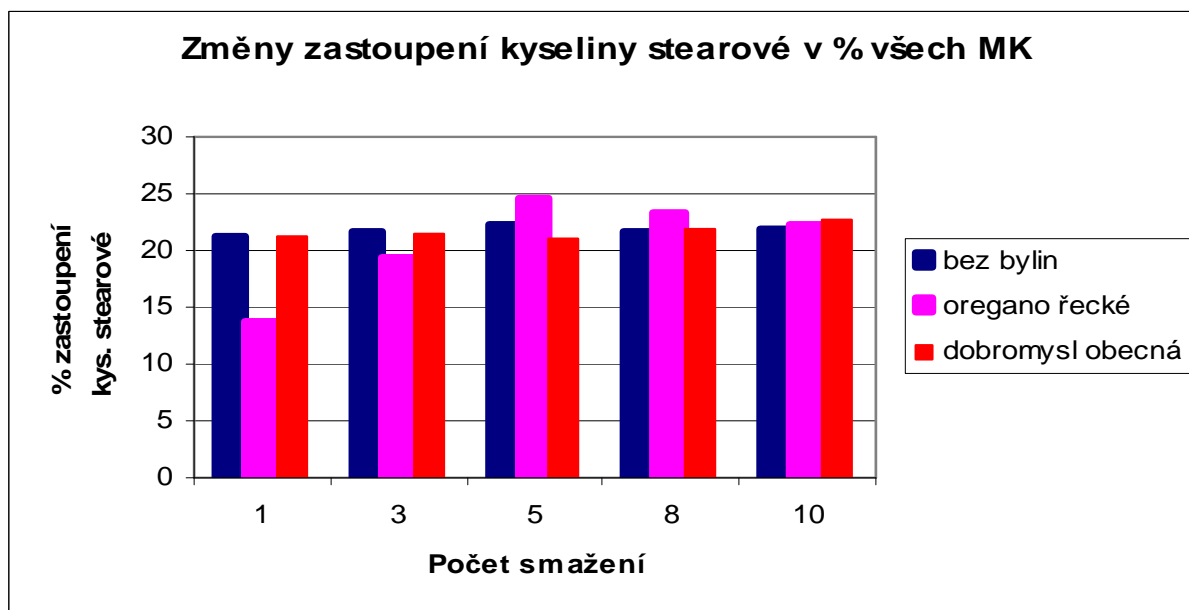


**Graf 15 Relativní změna zastoupení kyseliny palmitové (100 % = sádlo bez smažení)**

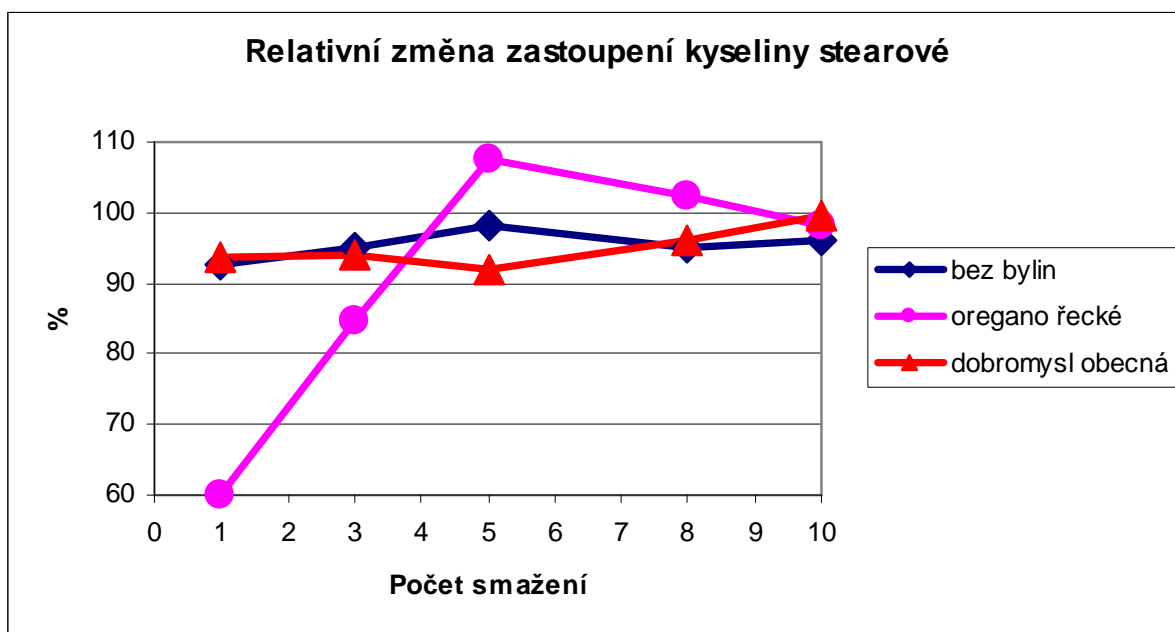


Zastoupení kyseliny palmitové v % všech MK v průběhu smažení je v rozmezí 23 až 29 %. Kolísání hodnot u všech variant při vzrůstajícím počtu smažení je v rozmezí  $\pm 10$  %, jen u varianty s přidáním oregana řeckého je po prvním smažení patrný snížený obsah kyseliny palmitové o 20 % oproti sádlu bez smažení.

**Graf 16 Změny zastoupení kyseliny stearové v % všech MK**

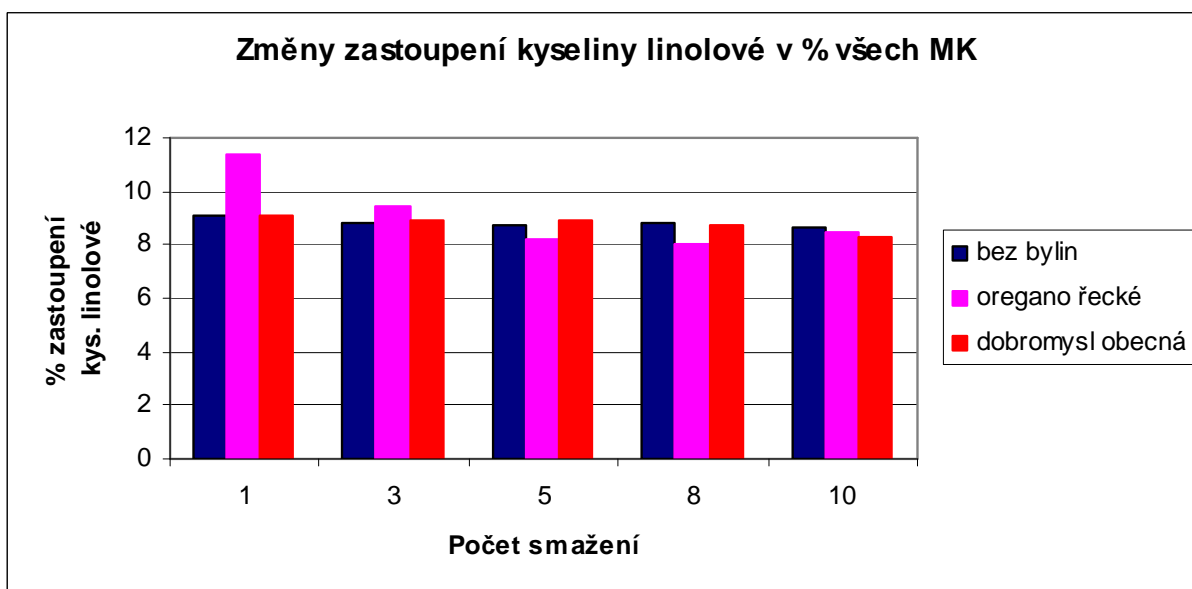


**Graf 17 Relativní změna zastoupení kyseliny stearové (100 % = sádlo bez smažení)**



Zastoupení kyseliny stearové v % všech MK v průběhu smažení je v rozmezí 13 až 23 %. Kolísání hodnot u všech variant při vzrůstajícím počtu smažení je v rozmezí  $\pm 10$  %, jen u varianty s přidáním oregana řeckého je po prvním smažení patrný zvýšený obsah kyseliny stearové o 40 % oproti sádlu bez smažení.

**Graf 18 Změny zastoupení kyseliny linolové v % všech MK**



**Graf 19 Relativní změna zastoupení kyseliny linolové (100 % = sádlo bez smažení)**



Zastoupení kyseliny linolové v % všech MK v průběhu smažení je v rozmezí 8 až 12 %. Kolísání hodnot u všech variant při vzrůstajícím počtu smažení je v rozmezí  $\pm 10$  %, jen u varianty s přidáním oregana řeckého je po prvním smažení patrný zvýšený obsah kyseliny linolové o cca 30 % oproti sádlu bez smažení.

Grafy vývoje mastných kyselin, které měly menší procentuální zastoupení, jsou k nahlédnutí jako příloha č.4. Kolísání během smažení u těchto kyselin je následující:

- Kyselina myristová - Kolísání hodnot u všech variant při vzrůstajícím počtu smažení je v rozmezí  $\pm 10$  %, jen u varianty s přidáním oregana řeckého je po prvním smažení patrný zvýšený obsah této kyseliny o cca 29 % oproti sádlu bez smažení.
- Kyselina palmitoolejová - Kolísání hodnot u všech variant při vzrůstajícím počtu smažení je v rozmezí  $\pm 10$  %, jen u varianty s přidáním oregana řeckého je po prvním smažení patrný zvýšený obsah této kyseliny o cca 32 % oproti sádlu bez smažení.
- Kyselina arachová - Kolísání hodnot u všech variant při vzrůstajícím počtu smažení je nulové, jen u varianty s přidáním oregana řeckého je po prvním smažení patrný snížený obsah této kyseliny o 15 % a u varianty bez přidání bylin je patrný snížený obsah po 1. smažení o 35 % oproti sádlu bez smažení.
- Kyselina eikosenová - Kolísání hodnot u všech variant při vzrůstajícím počtu smažení je v rozmezí  $\pm 10$  %, jen u varianty s přidáním oregana řeckého je po prvním smažení patrný zvýšený obsah této kyseliny o 40 % a u varianty s přidáním dobromysli obecné



je po 5. smažení patrný zvýšený obsah této kyseliny o cca 18 % oproti sádlu bez smažení.

- Kyselina eikosadienová – U varianty s přidáním oregana řeckého je patrný zvýšený obsah této kyseliny o 30 % po 1. a 3. smažení, u varianty s přidáním dobromysli obecné je patrný také zvýšený obsah o 30 % a to u vzorků po 1. až 8. smažení, u varianty bez přidání bylin byl patrný zvýšený obsah této kyseliny po 1. smažení o 30 % a po 3. smažení o 15 % oproti sádlu bez smažení. V ostatních případech byla změna nulová.
- Kyselina trikosanová - U varianty s přidáním oregana řeckého je patrný zvýšený obsah této kyseliny o 25 % po 1. smažení a snížený o 25 % po 8. smažení, u varianty s přidáním dobromysli obecné je patrný snížený obsah o 50 % u vzorku po 10. smažení, u varianty bez přidání bylin byl patrný snížený obsah této kyseliny po 1. smažení o cca 25 % oproti sádlu bez smažení. V ostatních případech byla změna nulová.

## 6 Diskuse

### 6.1 Stanovení stability tuků proti autooxidaci podle Schaal

#### 6.1.1 Antioxidační aktivita bylin při skladování

Nesmažené vzorky sádla bez přidání bylin, s přidáním oregana řeckého a s přidavkem dobromysli obecné a vývoj průběhů Schaalových testů u těchto variant je znázorněn v grafu č. 1. Nejdelší indukční perioda byla pozorována u vzorku sádla s přidavkem oregana řeckého, kde vykazovala 46 dnů. U varianty s přidavkem dobromysli obecné byla IP 17 dnů a u vzorku sádla bez přidavku bylin byla IP 15,5 dne. Vyplývá tedy, že přidavek bylin do sádla prodlužuje dobu skladovatelnosti oproti sádlu bez přidavku bylin a to tak, že s přidavkem oregana řeckého o 30,5 dní a s přidavkem dobromysli obecné o 1,5 dne.

Těmto výsledkům koresponduje i vypočítaný protekční faktor, který udává největší antioxidační efektivitu vzorku sádla s přidáním oregana řeckého, a to 2,97. U vzorku sádla s přidáním dobromysli obecné je PF 1,1, tedy jen o jednu desetinu vyšší oproti sádlu bez přidavku bylin.

Průkaznost rozdílů PF u jednotlivých variant je znázorněn v tabulce č. 10. Bylo počítáno s hodnotami PF jako s celkem, počet smažení zohledňován nebyl. Výsledky udávají průkaznost s 95 % pravděpodobností mezi variantami bez přidání bylin a s přidáním oregana řeckého a mezi variantami s přidáním dobromysli obecné a s přidáním oregana řeckého. Průkaznost rozdílů PF mezi variantami bez přidání bylin a s přidáním dobromysli obecné nebyla zjištěna.

#### 6.1.2 Antioxidační aktivita bylin při smažení

Vzorky sádla, které podléhaly smažení a jejich průběhy Schaalových testů jsou znázorněn v grafech č. 2 – 4. Je z nich patrné, že přidavek oregana řeckého do smažicího média prodlužuje indukční periodu a to i se vzrůstajícím počtem smažení. Ovšem čím více smažení vzorek sádla podléhal, tím více se IP zkracovala.

- U varianty bez přidání bylin do smažicího média byla IP po prvním smažení 8 dní a po 10 smažení jen 2 dny. Tento úbytek antioxidační aktivity sádla je patrný i z čísel protekčního faktoru, kde PF po 1. smažení byl 0,52 a po 10. smažení 0,13.

- U varianty s přidáním oregana řeckého do smažicího média byla IP po prvním smažení 90 dnů a po 10 smažení 42 dnů. Tento úbytek antioxidační aktivity oregana řeckého je patrný i z čísel protekčního faktoru, kde PF po 1. smažení byl 5,81 a po 10. smažení 2,71.
- U varianty s přidáním dobromysli obecné do smažicího média byla IP po prvním smažení 3,5 dne a po 10 smažení 3 dny. Tento poměrně malý úbytek antioxidační aktivity oregana řeckého je patrný i z čísel protekčního faktoru, kde PF po 1. smažení byl 0,23 a po 10. smažení 0,19.

### **6.1.3 Porovnání antioxidační aktivity bylin při skladování a při smažení**

Indukční perioda u varianty bez přidání bylin do smažicího média se po prvním smažení (IP = 8 dnů) oproti nesmaženému vzorku sádla z téže varianty (IP = 15,5 dne) snížila téměř o polovinu. S přibývajícím počtem smažení se tato IP dále snižovala až k již zmiňované hodnotě po 10. smažení 2 dnům. Kvalita tuku byla snížena skokově na polovinu tím, že tuk podléhal smažení a dále se jeho kvalita snižovala postupně s přibývajícím počtem smažení.

Indukční perioda u varianty s přidáním oregana řeckého do smažicího média se po prvním smažení (IP = 90 dnů) oproti nesmaženému vzorku sádla z téže varianty (IP = 46 dnů) dvojnásobně zvýšila. S přibývajícím počtem smažení se tato IP dále snižovala až k již zmiňované hodnotě po 10. smažení 42 dnům. Je tedy patrný vyšší antioxidační účinek této byliny po prvních osmi smažení, než při skladování. Pak se IP snížila pod hranici 46 dnů, kterou vykazoval vzorek této varianty bez smažení. Tato bylina se jeví být velice vhodná k přidávání do smažicího média, protože prodlužuje dobu, po kterou v tuku neprobíhají autooxidační změny.

Indukční perioda u varianty s přidáním dobromysli obecné do smažicího média se po prvním smažení (IP = 3,5 dne) oproti nesmaženému vzorku sádla z téže varianty (IP = 17 dnů) snížila téměř pětkrát. S přibývajícím počtem smažení se tato IP až k 8. smažení mírně zvyšovala a pak se přiblížila k hodnotě, kterou vykazovala IP po prvním smažení. Lze tedy říci, že přídavek dobromysli obecné do smažicího média sníží dobu skladovatelnosti vzorků sádla ihned po prvním smažení a pak se již IP mnoho nemění. Podle mého názoru tato bylina není příliš vhodná k přidávání do smažicího média, protože snižuje kvalitu tuku již od začátku smažení.

## 6.2 Profil mastných kyselin určených pomocí plynové chromatografie

Největší změny v zastoupení jednotlivých mastných kyselin oproti vzorku sádla bez smažení proběhly u všech variant po 1. smažení. Se vzrůstajícím počtem smažení se rozdíl v % zastoupení MK jednotlivých variant snižovaly a po 10 smažení byly minimální.

Varianta s největší změnou v % zastoupení MK byla varianta s přidavkem oregana řeckého do smažicího média. U majoritně zastoupených MK se tyto změny nejvíce projevovaly u kyseliny olejové. Oregano řecké způsobilo relativní nárůst této kyseliny po 1. a 3. smažení, po 5. – 10. smažení je patrný úbytek této kyseliny. Změny v % zastoupení MK u kyselin vyskytujících se ve vzorku sádla pod 3 % mohou být způsobeny chybami měření, nikoli působením jednotlivých bylin, či opakovaným smažením.

Z grafů 13, 15, 17 a 19 jsou patrné největší odchylky % zastoupení MK vůči vzorku sádla bez smažení u varianty s přidavkem oregana řeckého a to vždy po 1. smažení. U kyselin olejové a linolové byl zaznamenán relativní nárůst obsahu těchto kyselin a u kyselin palmitové a stearové naopak úbytek.

## 7 Závěr

Tato diplomová práce se zabývala inhibicí oxidaci škvařeného vepřového sádla během smažení za přidání přírodních antioxidantů, a to sušených bylin *Origanum vulgare* a *Origanum heracleoticum*.

Vepřové sádlo bylo smaženo vždy za stejných podmínek ve třech variantách: bez přidání bylin, s přidáním oregana řeckého (*Origanum heracleoticum*) a s přidáním dobromysli obecné (*Origanum vulgare*).

Pomocí Schaalova testu byla zjišťována antioxidační aktivita bylin při skladování u nesmažených vzorků a u vzorků podléhajícím smažení. Byl zjištěn průkazný rozdíl mezi variantami s přidáním oregana řeckého a bez přidání bylin a mezi variantami s přidáním oregana řeckého a s přidáním dobromysli obecné. Mezi variantami bez přidání bylin a s přidáním dobromysli obecné průkaznost rozdílu prokázána nebyla. Největší antioxidační schopnost byla zjištěna u varianty s přidáním oregana řeckého do smažicího média. Prodlužuje dobu skladovatelnosti tuku u nesmaženého vzorku, ale i u vzorků, které podléhaly smažení. U smažených vzorků byla dokonce prokázána vyšší antioxidační účinnost této byliny než u nesmaženého vzorku. Varianta s přidáním dobromysli obecné do smažicího média byla vyhodnocena jako nevhodná k přidávání do smažicího média. Již po prvním smažení zkracovala dobu skladovatelnosti tuku oproti smaženému vzorku tuku bez přidání bylin.

Dále byl měřen profil mastných kyselin a jeho změny se vzrůstajícím počtem smažení u jednotlivých variant. Největší vliv na změnu majoritních mastných kyselin mělo *Origanum heracleoticum* po 1. smažení ve srovnání s provedenou kontrolou, vzorkem sádla bez smažení a bez přidání bylin. Největší změny v procentuelním zastoupení se projevovaly u kyseliny olejové.

## 8 Seznam literatury

- Abdalla, A. E., Rozen, J.P. 1999. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chemistry*. 64 (3). 323 – 329.
- Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1988. Qualitative and quantitative composition of essential oils obtained from *O. vulgare* subsp. *Hirtum*. *Journal of agricultural and food chemistry*. 46 (5). 1739 – 1745.
- Bühring, U. 2010. Léčivé rostliny: obsahové látky, zpracování, základní recepty. Knižní klub. Praha. 360 s. ISBN: 978-80-242-274-9.
- Davídek, J. 1981. Laboratorní příručka analýzy potravin. SNTL. Praha. 720 s. ISBN: 04-814-81.
- Dzamic, A., Sokovic, M., Ristic, M. S., Grujic – Janovic, S., Vukojevic, J., Marin, P. D. 2008. Chemical composition and antifungal activity of *Origanum heracleoticum* essential oil. *Chemistry of natural compounds*. 44 (5). 659 – 660.
- Farrell, K. T. 1985. Spices, condiments, and seasonings. AVI Publishing Company. Westport. p. 415. ISBN: 0-87055-464-6.
- Gerhardt, U. 1990. Gewürze in der Lebensmittelindustrie: Eigenschaften - Technologien – Verwendung. Behr. Hamburg. 390 s. ISBN: 3-925673-82-2.
- Houhoula, D. P., Oreopoulou, V., Tzia, C. 2004. Antioxidant efficiency of oregano in frying and storage of fried products. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 106. 746 – 751.
- Pokorný, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. 2001. Antioxidants in food. Woodhead publishing limited. Cambridge. p. 380. ISBN: 1-85573-463-X.
- Pospíšil, J. 1968. Antioxidanty. Academia. Praha. 274 s. ISBN: 21-129-68.
- Rangarsson, J. O., Labuza, T. P., 1977. Accelerated shelf life testing for oxidative rancidity in foods – a review. *Food Chemistry*. 2 (4). 291 – 308.
- Shan, B., Cai, Y. Z., Sun, M., Corke, H. 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (20). 7749-7759.

- Small, E. 2006. Velká kniha koření, bylin a aromatických rostlin. Volvox Globator. Praha. 1021 s. ISBN: 80-7207-462-8.
- Smirnoff, N. 2005. Antioxidants and reactive oxygen species in plants. 1. vyd. Blackwell Pub., Oxford, p. 302. ISBN: 1-4051-2529-2.
- Suhaj, M. 2005. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. Journal of food composition and analysis. 19 (6 – 7). 531 – 537.
- Tsimogiannis, D., Stavrakaki, M., Oreopoulou, V. 2006. Isolation and characterisation of antioxidant components from oregano (*Origanum heracleoticum*). International Journal of food science and technology. 41. 39 – 48.
- Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009a. Chemie potravin 1. Osis. Tábor. 602 s. ISBN: 978-80-86659-15-2.
- Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009b. Chemie potravin 2. Osis. Tábor. 644 s. ISBN: 978-80-86659-16-9.
- Vermeulen, N. 2004. Encyklopedie bylin a koření. 2. vyd. Rebo Productions CZ s.r.o. Praha. 319 s. ISBN: 80-72-34-169-3.
- Vyhláška č. 4/2008Sb. ze dne 3. ledna 2008, kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H., Raneva, V. G. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacol in two lipids systems. Food Chemistry. 64. 59 – 66.
- Zheng, Z. L., Wang, K.Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of agricultural and food chemistry. 49. 5165 – 5170.

## 9 Samostatné přílohy

### Příloha 1 Složení *Origanum heracleoticum*, (Dzamic, 2008)

TABLE 1. Chemical Composition (Expressed as %) of *Origanum heracleoticum* Essential Oil

| Component              | KI   | %    | Component              | KI   | %            |
|------------------------|------|------|------------------------|------|--------------|
| $\alpha$ -Thujene      | 931  | 1.45 | Terpinen-4-ol          | 1177 | 0.58         |
| Octen-3-ol             | 978  | 0.57 | $\alpha$ -Terpineol    | 1189 | 0.18         |
| $\beta$ -Myrcene       | 991  | 0.58 | Carvacrol methyl ether | 1244 | 0.24         |
| $\alpha$ -Phellandrene | 1005 | 0.34 | Thymol                 | 1290 | <b>14.84</b> |
| $\alpha$ -Terpinene    | 1017 | 1.23 | Carvacrol              | 1299 | <b>65.25</b> |
| <i>p</i> -Cymene       | 1025 | 1.88 | Isocaryophyllene       | 1404 | 1.45         |
| $\beta$ -Phellandrene  | 1030 | 4.36 | $\alpha$ -Humulene     | 1454 | 0.24         |
| $\gamma$ -Terpinene    | 1060 | 0.65 | Germacrene D           | 1480 | 0.07         |
| $\alpha$ -Terpinolene  | 1089 | 0.23 | $\beta$ -Bisabolene    | 1506 | 0.52         |
| Linalool               | 1098 | 0.63 | $\delta$ -Cadinene     | 1523 | 0.20         |
| $\alpha$ -Thujone      | 1102 | 0.61 | Caryophyllene oxide    | 1583 | 0.08         |
| Camphor                | 1146 | 0.44 | Total                  |      | 97.16        |
| Borneol                | 1165 | 0.45 |                        |      |              |



**Příloha 2 Složení *Origanum vulgare*, ssp. *Hirtum*, (Adam, 1998)**

| Složení dle Adama (1998) %<br><i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>Hirtum</i> |       |
|--|-------|
| thymol   | 45,22 |
| karvakol   | 33,05 |
| limonen  | 1,21  |
| Terpin-4-ol  | 0,03  |
| $\beta$ -pinen   | 0,98  |
| $\alpha$ -pinen  | 0,65  |
| $\alpha$ -terpinen   | 1,63  |
| $\gamma$ -terpinen   | 5,54  |
| p-cymen  | 7,35  |
| p-cymen-8-ol   | 0,50  |
| (E a Z) $\beta$ -ocimen  | 0,20  |
| linalool   | 0,18  |
| $\alpha$ -thujen   | 0,04  |
| sabinen  | 0,11  |
| trans i cis –sabinen hydrát  | 0,91  |
| myrcen   | 0,12  |
| $\alpha$ -phellandren  | 0,06  |
| 1,8-cineol   | 0,21  |
| isoborneol   | 0,06  |
| $\beta$ -caryophyllen  | 0,97  |
| $\alpha$ -humulen  | 0,20  |
| spathulenol  | 0,13  |
| (Z) $\beta$ - ocimen   | 0,16  |
| (E) $\beta$ - ocimen   | 0,04  |
| terpinolen   | 0,05  |

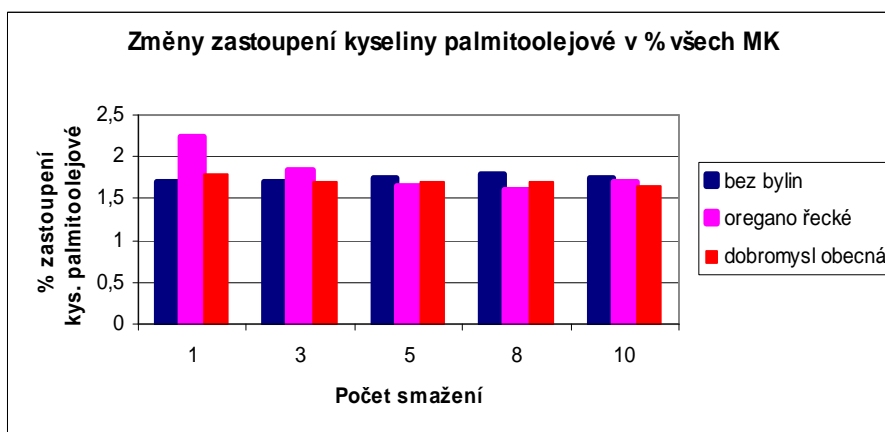
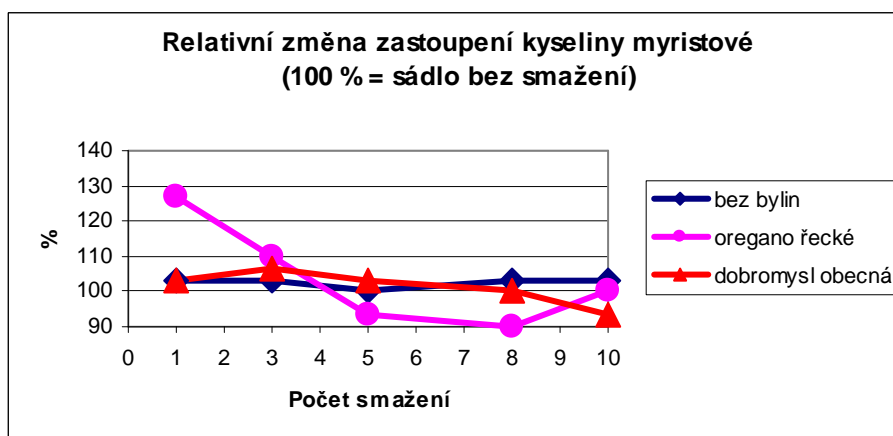
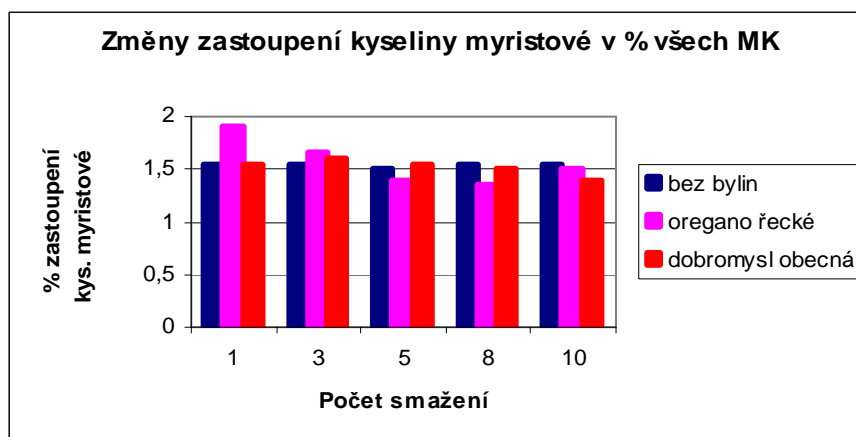
**Příloha 3 Složení *Origanum heracleoticum*, (Tsimogiannis, 2006)**

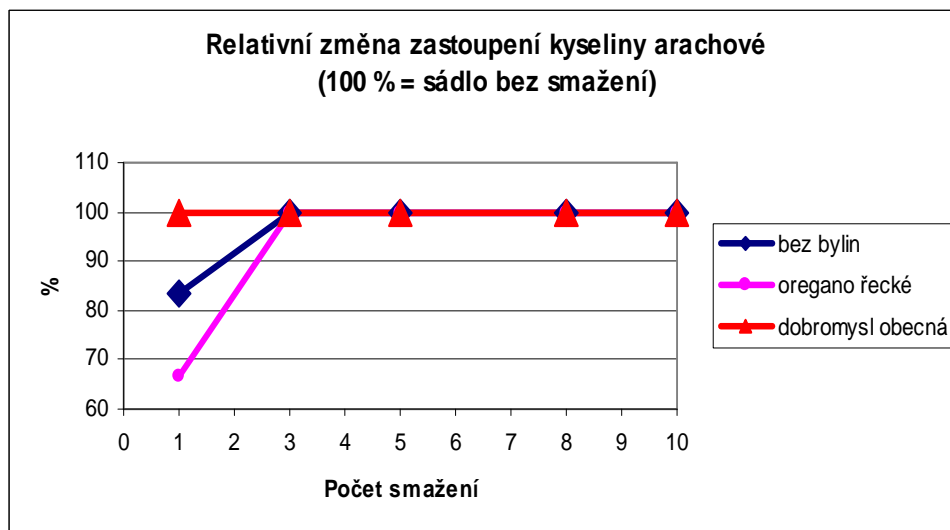
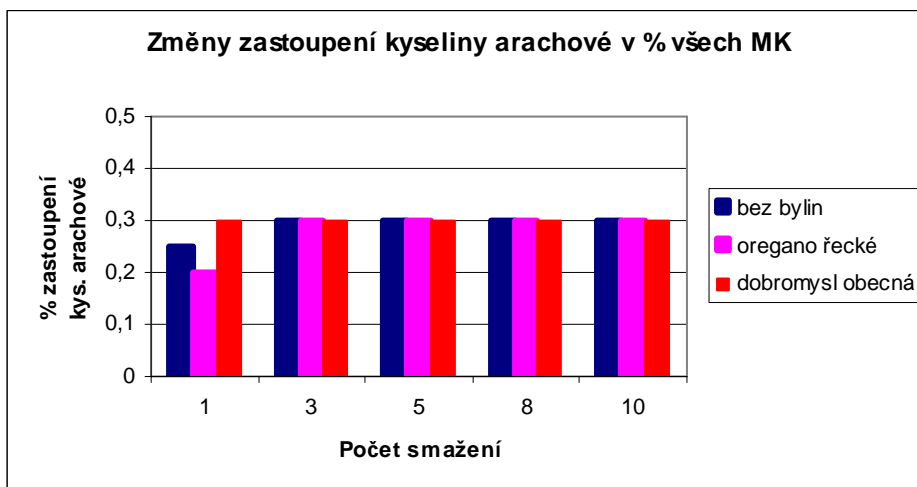
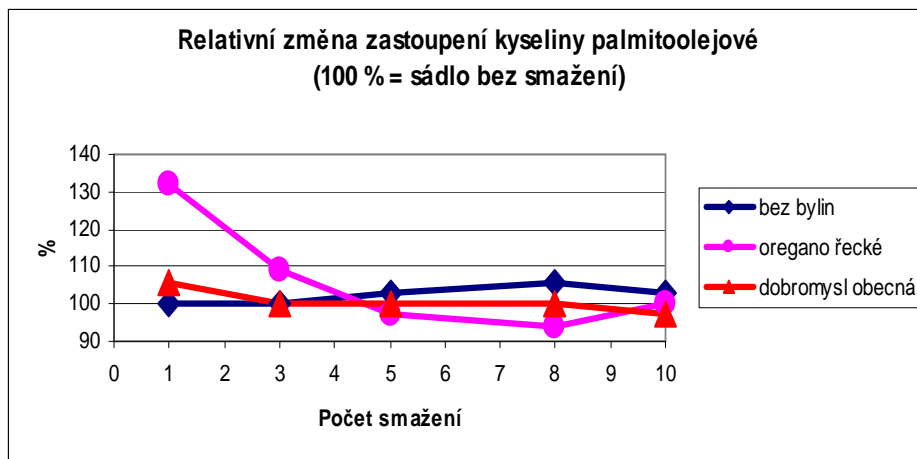
**Table 2** The (*P*) extract compounds of *Origanum heracleoticum* as identified by GC–MS analysis

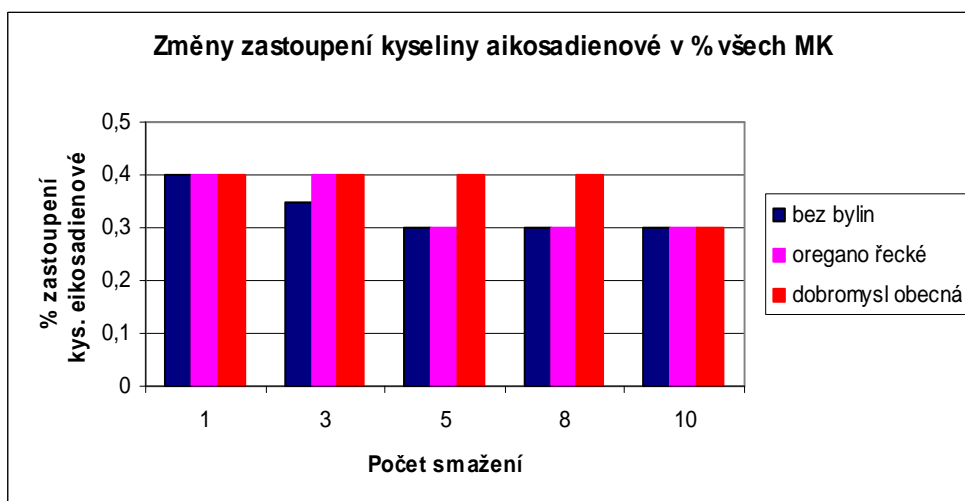
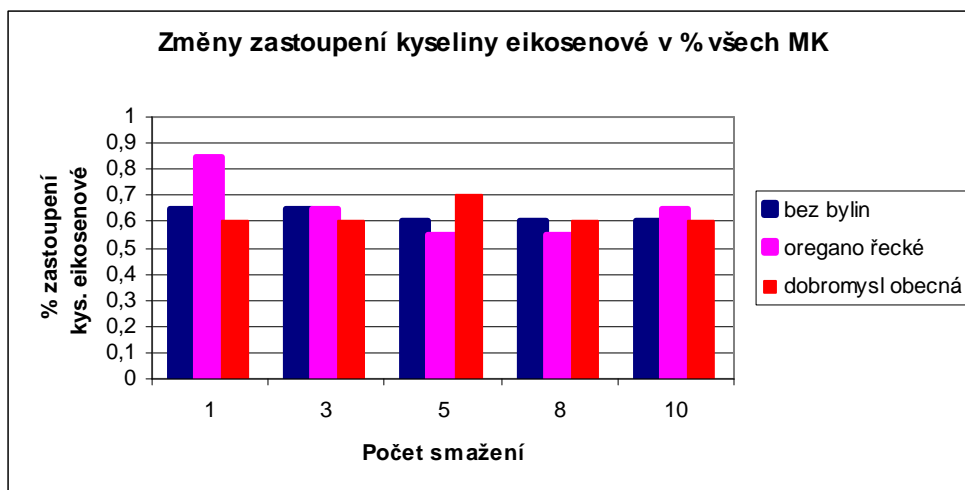
| Retention time (min)    | Compound                       | A <sub>i</sub> <sup>a</sup> (%) |
|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Petroleum ether extract |                                |                                 |
| 7.74                    | α-Thujene                      | 0.13                            |
| 7.86                    | α-Pinene                       | 0.30                            |
| 8.02                    | Camphene                       | 0.17                            |
| 8.26                    | Myrcene                        | 0.67                            |
| 8.50                    | α-Phellandrene                 | 0.10                            |
| 8.62                    | <i>p</i> -Cymene               | 5.91                            |
| 8.96                    | γ-Terpinene                    | 1.64                            |
| 9.04                    | <i>trans</i> -Sabinene hydrate | 0.74                            |
| 9.24                    | Terpinolene                    | 0.17                            |
| 9.31                    | <i>cis</i> -Sabinene hydrate   | 0.87                            |
| 9.93                    | Borneol                        | 2.51                            |
| 9.99                    | Terpinen-4-ol                  | 1.17                            |
| 10.46                   | Linalyl acetate                | 2.74                            |
| 10.67                   | Thymol                         | 1.24                            |
| 10.76                   | Carvacrol                      | 42.53                           |
| 11.28                   | Carvacryl acetate              | 0.33                            |
| 11.66                   | α-Cubebene                     | 0.27                            |
| 12.01                   | β-Caryophyllene                | 1.44                            |
| 12.14                   | Aromadendrene                  | 0.74                            |
| 12.38                   | β-Bisabolene                   | 4.48                            |
| 12.46                   | Leden                          | 0.43                            |
| 12.49                   | β-Sesquiphellandrene           | 0.10                            |
| 12.53                   | β-Cadinene                     | 0.70                            |
| 12.96                   | (+)-Spathulenol                | 0.13                            |
| 13.04                   | Caryophyllene oxide            | 1.37                            |

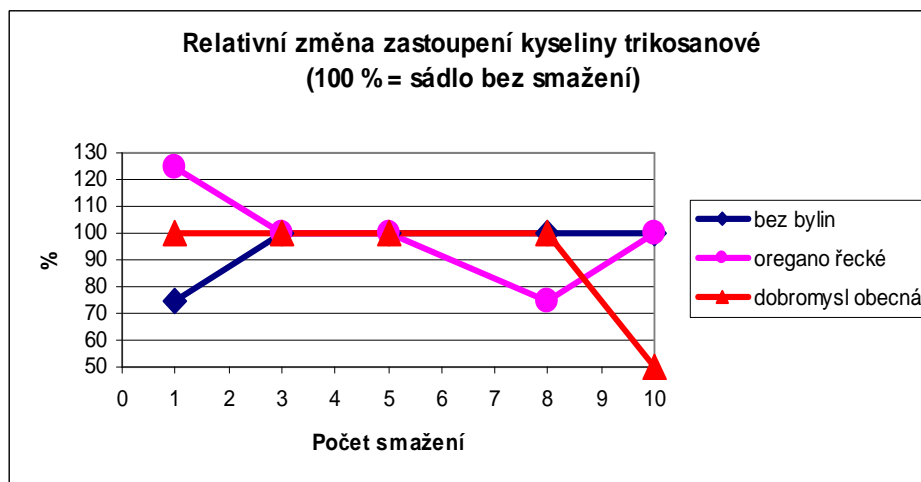
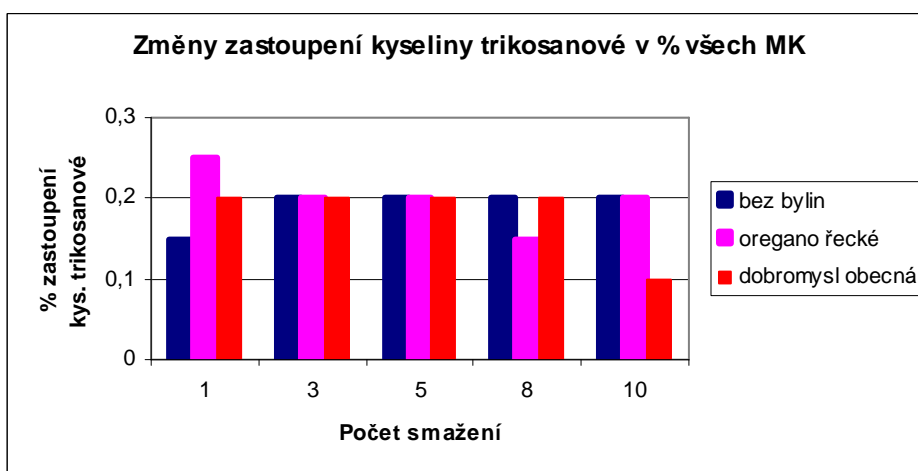
<sup>a</sup>A<sub>i</sub> = The area percentage of each compound as determined by the ChemStation Integrator.

Příloha 4 Přehled grafů mastných kyselin, které se ve vzorcích vyskytovaly po 3 %









## 10 Seznam příloh

|   |    |
|---|----|
| Příloha 1 Složení <i>Origanum heracleoticum</i> , (Dzamic, 2008) .....                  | 49 |
| Příloha 2 Složení <i>Origanum vulgare</i> , ssp. <i>Hirtum</i> , (Adam, 1998) .....     | 50 |
| Příloha 3 Složení <i>Origanum heracleoticum</i> , (Tsimogiannis, 2006) .....            | 51 |
| Příloha 4 Přehled grafů mastných kyselin, které se ve vzorcích vyskytovaly po 3 % ..... | 52 |