

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Změny lipidů při zpracování a skladování potravin z hlediska  
jejich nutriční a senzorické jakosti**

.....  
doktorská disertační práce

Autor: **Ing. Josef Soukup**  
Školitel: **prof. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.**  
Konzultant: **Ing. Monika Sabolová, Ph.D.**

**Praha 2023**



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou disertační práci „Změny lipidů při zpracování a skladování potravin z hlediska jejich nutriční a senzorické jakosti“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího disertační práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené disertační práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 27. února 2023

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval paní prof. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za její odorné vedení, cenné rady, vstřícnost při konzultacích a ochotu a trpělivost při zpracovávání této disertační práce. Dále bych rád poděkoval své školitelce Ing. Monice Sabolové, Ph.D. za její pomoc v průběhu celého studia a cenné rady, které mi při zpracovávání článků i této disertační práce dala. V neposlední řadě bych rád poděkoval paní Ing. Kristině Bryanové, Ing. Anetě Venclové, Ing. Anetě Blažkové, Ing. Michaele Krlínové, Ing. Kshitizu Pokhrelovi, Ing. Petře Škvorové a Ing. Tomáši Kouřimskému za pomoc při analýzách praktické části práce. Stejně tak celé Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů (FAPPZ) a Katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky (KMVD), na které jsem měl tu možnost působit. A nakonec také panu doc. Ing. Janu Pánkovi, Csc. za konzultaci při tvorbě disertační práce (a článků), podnětné oponentuře pro katedrové kolo obhajoby disertační práce a paní prof. Ing. Janě Hajšlové, Csc. za vřelý přijetí a proaktivní přístup při spolupráci na výzkumu na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze (VŠCHT, Ústav analýzy potravin a výživy).

Speciálně bych rád poděkoval celé své rodině a přítelkyni, kteří při mně po celou dobu studia stáli a podporovali mě.

## Abstrakt

V posledních desetiletích došlo z důvodu změny stravovacích návyků a globalizaci trhu s potravinami k výrazné změně v užívání různých druhů tuků a olejů. Oleje bývají ve srovnání s tuky náchylnější k oxidaci, která patří mezi hlavní reakce vedoucí k degradaci lipidů. Práce je zaměřena jak na tuky a oleje nejčastěji používané v teplé či studené kuchyni (řepkový, slunečnicový a rýžový olej a vepřové sádlo), tak i na ty, které se pro své pozitivní účinky a důležitou roli ve fyziologii člověka, často používají jako doplňky stravy, ale snadněji podléhají zkáze (rybí oleje a krillový olej).

Obsah tuku ve zkoumaných smažených potravinách byl stanoven pomocí Soxhletovy metody. Obsah sušiny a popela byl stanoven gravimetricky. Oxidační stabilita lipidů během jejich smažení i skladování byla sledována pomocí Schaalova testu. Dále byly hodnoceny peroxidové číslo, číslo kyselosti, změny barvy spektrofotometricky, profil mastných kyselin pomocí plynové chromatografie. V experimentu zaměřeném na změny smažicího média v závislosti na barvě dužniny byl stanoven obsah tokolů (HPLC-FLD) a ve spolupráci s VŠCHT v Praze byly analyzovány celkové MCPD po hydrolyze (GC-MS/MS), polymerní TAG (HPSEC-RID) a provedena metabolická analýza (U-HPLC-HRMS/MS).

Z první části výzkumu vyplývá, že stabilita rostlinných olejů při skladování klesala s rostoucím podílem polyenových mastných kyselin. V našem druhém experimentu bylo zjištěno, že smažení významně neovlivnilo obsah tuku v rybích prstech a bramborových kroketách. Rýžový olej vykazoval nejvyšší oxidační stabilitu při opakovaném smažení, a proto byl považován za nejlepší smažicí médium mezi testovanými oleji, zatímco méně nasycený slunečnicový olej vykazoval nejnižší stabilitu. Ve třetí části výzkumu hranolky z fialových odrůd brambor byly respondenty uvedeny jako nejméně vyhovující. Nicméně fialové odrůdy brambor inhibovaly oxidaci smažicího média více než odrůdy se žlutými hlízami. Obsah tokolů ve smažicím médiu klesal s každým dalším smažením. Nejvyšší byl obsah  $\alpha$ - tokoferolu. Vliv smažicího média se projevil na obsahu MCPD esterů a polymerních triacylglycerolů. Necílovou analýzou došlo ke shlukování vzorků lipidů po smažení dle barvy hlízy brambor použitých pro přípravu hranolků. Byly předběžně určeny dva markery pro rozlišení vzorků ze skupiny fenolových sloučenin. V posledním experimentu bylo prokázáno, že rybí oleje s vyšším zastoupením n-3 PUFA podléhaly mnohem rychleji oxidačnímu žluknutí. U olejů s nižším množstvím n-3 PUFA a s přísadkou antioxidantů došlo ke zpomalení oxidačního procesu.

## Abstract

In recent decades, due to changes in eating habits and the globalization of the food market, there has been a significant change in the use of various types of fats and oils. Compared to fats, oils tend to be more susceptible to oxidation, which is one of the main reactions leading to lipid degradation. The work is focused both on fats and oils most often used in hot or cold kitchen (rapeseed, sunflower and rice oil and lard), as well as on those which, due to their positive effects and important role in human physiology, are often used as food supplements, but are more easily rancid (fish oils and krill oil).

The fat content was determined using the Soxhlet method. The dry matter and ash content were determined gravimetrically. Oxidative stability of lipids was monitored using the Schaal test. The peroxide value, acid value, colour changes spectrophotometrically, fatty acid profile using gas chromatography were also evaluated. In the third experiment, the tocol content was determined (HPLC-FLD). In cooperation with UCT in Prague, total MCPD after hydrolysis (GC-MS/MS), polymeric TAG (HPSEC-RID) were analysed, and metabolomic analysis (U-HPLC-HRMS/MS) was carried on.

The first part of the research shows that the stability of vegetable oils during their storage decreased with an increasing proportion of polyunsaturated fatty acids. In our second experiment, it was found that frying did not significantly affect the fat content of fish fingers and potato croquettes. Rice oil showed the highest oxidative stability during repeated frying and was therefore considered the best frying medium among the tested oils, while the less saturated sunflower oil showed the lowest stability. In the third part of the research, French fries from purple varieties of potatoes were evaluated as the least satisfactory by the respondents. However, purple potato varieties inhibited the oxidation of the frying medium more than varieties with yellow tubers. The content of tocopherols in the frying medium decreased with each subsequent frying. The content of  $\alpha$ -tocopherol was the highest. The effect of the frying medium was seen from the content of MCPD esters and polymeric triacylglycerols. Non-targeted analysis resulted in the clustering of lipid samples after frying according to the colour of the potato tubers used for the preparation of French fries. Two markers from the group of phenolic compounds were preliminarily determined for distinguishing the samples. In the last experiment, it was shown that fish oils with a higher proportion of n-3 PUFAs undergone oxidative rancidity much faster than other samples. The oxidation process slowed down in oils with a lower amount of n-3 PUFA and with the addition of antioxidants.

1	Literární přehled .....	5
1.1	Změny lipidů během smažení .....	5
1.1.1	Smažení ve vysoké vrstvě .....	5
1.1.2	Oxidační, hydrolytické a další změny lipidů během smažení .....	7
1.1.2.1	Hydrolytické reakce olejů a tuků .....	7
1.1.2.2	Oxidace oleje .....	8
1.1.2.3	Polymerace oleje .....	11
1.1.3	Změny doprovodných látek lipidů během smažení .....	14
1.1.3.1	Fytosteroly a jejich oxidační produkty .....	15
1.1.4	Změny nutriční jakosti potravin během jejich smažení .....	17
1.1.4.1	Změny tuků .....	17
1.1.4.2	Změny bílkovin .....	17
1.1.4.3	Změny sacharidů .....	18
1.1.4.4	Změny vitaminů .....	18
1.1.4.5	Změny minerálních látek .....	20
1.1.5	Změny sensorické jakosti potravin během jejich smažení .....	21
1.1.5.1	Chut', vůně a barva .....	21
1.1.5.2	Textura .....	22
1.1.6	Změny hygienické jakosti potravin během jejich smažení .....	22
1.2	Interakce smažené potraviny a smažicího média .....	25
1.2.1	Faktory ovlivňující kvalitu oleje během smažení ve vysoké vrstvě .....	25
1.2.1.1	Doba a teplota smažení .....	25
1.2.1.2	Vliv složení smažené potraviny .....	26
1.2.1.3	Kvalita smažicího média .....	27
1.2.1.4	Doplňování oleje .....	28
1.2.1.5	Typ fritézy .....	28
1.3	Využití přírodních antioxidantů při smažení potravin .....	29
1.3.1	Mechanismus inhibice oxidace lipidů biologicky aktivními látkami z přírodních zdrojů antioxidantů .....	29
1.3.2	Použití přírodních antioxidantů pro smažení a skladování .....	29
1.3.2.1	Tokoferoly .....	30
1.3.2.2	Karotenoidy .....	31
1.3.2.3	Askorbová kyselina a její deriváty .....	32
1.3.2.4	Lignanové sloučeniny .....	32
1.3.3	Vliv aplikace přírodních antioxidantů na nutriční a sensorické změny smažené potraviny i média .....	33
1.4	Polynenasycené esenciální mastné kyseliny .....	34

1.4.1	Zástupci PUFA s dlouhým řetězcem a jejich význam ve výživě.....	34
1.4.2	Zdroje LC n–3 PUFA.....	35
1.4.2.1	Kvalita doplňků stravy a její hodnocení.....	36
1.4.3	Změny LC n–3 PUFA během jejich skladování.....	37
2	Cíle a hypotézy.....	39
2.1	Dílčí cíle práce.....	39
2.2	Hypotézy.....	39
3	Materiál a metody.....	40
3.1	Experiment I: Vliv profilu mastných kyselin na stabilitu netradičních a tradičních rostlinných olejů.....	40
3.1.1	Příprava vzorku.....	40
3.1.2	Zrychlený oxidační Schaalův test.....	40
3.1.3	Stanovení peroxidového čísla (PČ) a čísla kyselosti (ČK).....	40
3.1.4	Stanovení profilu mastných kyselin plynovou chromatografií.....	41
3.1.5	Statistické vyhodnocení.....	41
3.2	Experiment II: Vliv typu oleje na smažení na jeho stabilitu a složení smažené potraviny....	41
3.2.1	Příprava vzorku.....	41
3.2.2	Analýza sušiny a popelovin.....	42
3.2.3	Analýza obsahu tuku.....	42
3.2.4	Zrychlený oxidační Schaalův test.....	42
3.2.5	Spektrofotometrie.....	42
3.2.6	Statistická analýza.....	43
3.2.7	Stanovení profilu mastných kyselin plynovou chromatografií.....	43
3.3	Experiment III: Vliv barevných odrůd brambor na stabilitu smažicího média a složení potraviny.....	43
3.3.1	Experiment IIIa: Vliv odrůdy brambor na žluknutí smažicího média.....	43
3.3.1.1	Senzorické hodnocení.....	44
3.3.1.2	Zrychlený oxidační Schaalův test.....	44
3.3.2	Experiment IIIb: Vliv barevných odrůd brambor na stabilitu smažicího média.....	45
3.3.2.1	Zrychlený oxidační Schaalův test.....	45
3.3.2.2	Stanovení peroxidového čísla (PČ) a čísla kyselosti (ČK).....	45
3.3.2.3	Stanovení tokolů.....	46
3.3.2.4	Stanovení celkového MCPD po hydrolýze (GC-MS/MS).....	46
3.3.2.5	Stanovení polymerních TAG (HPSEC-RID).....	46
3.3.2.6	Metabolomická analýza (U-HPLC-HRMS/MS).....	46
3.3.2.7	Zpracování dat.....	47
3.4	Experiment IV: Nutriční hodnota a oxidační stabilita rybích olejů a doplňků stravy obsahujících n-3 PUFA.....	48



3.4.1	Analyzované doplňky stravy .....	48
3.4.1.1	Reflex Nutrition Omega 3 .....	48
3.4.1.2	Reflex Nutrition Krill Oil .....	49
3.4.1.3	Health Institute Opti Omega-3 orange .....	49
3.4.1.4	Zinzino BalanceOil+ .....	50
3.4.1.5	Möller´s rybí olej z tresčích jater .....	51
3.4.2	Zrychlený oxidační Schaalův test .....	52
3.4.3	Analýza sušiny .....	52
3.4.4	Stanovení profilu mastných kyselin v rybích olejích .....	52
4	Výsledky a diskuse .....	53
4.1	Experiment I: Vliv profilu mastných kyselin na stabilitu netradičních a tradičních rostlinných olejů .....	53
4.1.1	Stanovení oxidační stability .....	53
4.2	Experiment II: Vliv typu oleje na smažení na jeho stabilitu a složení smažené potraviny ....	58
4.2.1	Sušina, popel a obsah tuku .....	58
4.2.2	Vliv smažení na oxidační stabilitu oleje .....	60
4.2.3	Vliv smažení na barvu oleje .....	64
4.2.4	Nutriční význam .....	67
4.3	Experiment III: Vliv barvy brambor na stabilitu smažicího média a složení potraviny .....	68
4.3.1	Experiment IIIa: Vliv odrůdy brambor na žluknutí smažicího média.....	68
4.3.1.1	Zrychlený oxidační Schaalův test .....	68
4.3.1.2	Senzorické hodnocení hranolek .....	70
4.3.1.3	Statistické vyhodnocení.....	71
4.3.2	Experiment IIIb: Vliv barevných odrůd brambor na stabilitu smažicího média.....	75
4.3.2.1	Zrychlený oxidační Schaalův test .....	75
4.3.2.2	Peroxidové číslo (PČ) a číslo kyselosti (ČK) .....	78
4.3.2.3	Obsah tokolů.....	83
4.3.2.4	Stanovení celkového MCPD po hydrolýze (GC-MS/MS) .....	87
4.3.2.5	Stanovení polymerních TAG (HPSEC-RID).....	88
4.3.2.6	Metabolomická analýza (U-HPLC-HRMS/MS).....	89
4.4	Experiment IV: Nutriční hodnota a oxidační stabilita rybích olejů a doplňků stravy obsahujících n-3 PUFA .....	93
4.4.1	Stanovení profilu mastných kyselin pomocí plynové chromatografie.....	93
4.4.2	Stanovení obsahu sušiny .....	96
4.4.3	Stanovení oxidační stability Schaalovým testem.....	96
5	Závěry a doporučení pro využití poznatků v praxi pro další rozvoj vědního oboru .....	103
6	Seznam použité literatury .....	106

7	Přílohy .....	123
---	---------------	-----

## Úvod

V posledních desetiletích došlo z důvodu změny stravovacích návyků a globalizaci trhu s potravinami k výrazné změně v užívání různých druhů tuků a olejů. Lipidy v nich podléhají nutričně i sensoricky významných změnám jak při tepelné úpravě, tak při skladování. U olejů a tuků na tepelnou úpravu je důležité nejen jejich stabilita při tepelné úpravě a skladování, ale také to, jaké množství jich zkonzumujeme spolu se smaženou potravinou. U olejů a tuků s vysokým obsahem n-3 PUFA, které se kvůli jejich nedostatku v běžné stravě často využívají jako doplňky stravy, je důležité zejména jejich oxidační stabilita v průběhu zpracování a skladování.

Rostlinné oleje jsou ve srovnání s živočišnými tuky více používané vzhledem k jejich obvykle vysokému obsahu mono- a polyenových mastných kyselin. Právě tyto skupiny mastných kyselin jsou náchylnější k oxidaci, která patří mezi hlavní reakce vedoucí k degradaci lipidů. Oxidační stabilita olejů a tuků je důležitým kritériem kvality pro potravinářský průmysl (Muik et al. 2005). Navíc, oxidací lipidů nevzniká pouze žluklá chuť, ale může zároveň dojít ke snížení nutriční kvality a zdravotní nezávadnosti tvorbou oxidačních produktů, které mohou hrát roli v urychleném stárnutí lidského organismu a rozvoji některých onemocnění, např. kardiovaskulárních, nádorových a mnoha dalších (Nair et al. 1986; Esterbauer 1993; Staprans et al. 1996; Kähkönen et al. 1999; Dobarganes & Márquez-Ruiz 2003; Kampa et al. 2007; Tsikas 2017; Khor et al. 2019; Sottero et al. 2019).

# 1 Literární přehled

## 1.1 Změny lipidů během smažení

Existují dva hlavní způsoby smažení potravin – smažení ve vysoké vrstvě (ang. deep frying) a smažení v nízké vrstvě nejčastěji na pávni (angl. shallow frying). Hlavní rozdíl mezi smažením ve vysoké a nízké vrstvě je ten, že smažení ve vysoké vrstvě zahrnuje úplné ponoření pokrmu do oleje na smažení, zatímco při smažení v nízké vrstvě jsou některé části potravin nad povrchem oleje na smažení (Bognár 1998). Z toho důvodu se mohou lišit chemické změny, ke kterým dochází ve smaženém pokrmu i ve smažicím médiu.

### 1.1.1 Smažení ve vysoké vrstvě

Smažení ve vysoké vrstvě (fritování) je jednou z nejstarších a nejoblíbenějších metod přípravy pokrmů. Smažené pokrmy mají žádoucí chuť, barvu a křupavou strukturu, a to je činí pro spotřebitele velmi atraktivními. Smažení je proces ponoření jídla do horkého oleje (či tuku) kontaktem mezi olejem, vzduchem a potravinou při vysoké teplotě mezi 150 a 190 °C. Reakce probíhající mezi těmito složkami vytváří požadovanou a jedinečnou sensorickou kvalitu smažené potravin. Smažicí olej funguje jako teplonosné médium a přispívá k textuře a chuti smaženého jídla (Choe & Min 2007; Ziaiiifar 2008).

Smažení ve vysoké vrstvě tuku či oleje vede k tvorbě žádoucích i nežádoucích chuťových sloučenin, mění stabilitu a kvalitu chuti, barvu a strukturu smažených potravin a jejich nutriční kvalitu (Choe & Min, 2007; Ziaiiifar 2008). Potraviny smažené při optimální teplotě a po optimální dobu mají zlatavě hnědou barvu, jsou dostatečně tepelně upravené, křupavé a absorbují optimální množství oleje. Nicméně, nedosmažené potraviny a potraviny smažené na nižší teplotu, nebo po kratší dobu, než by měla být, mají bílou nebo nahnědlou barvu na okraji a mají uprostřed neželatinovaný nebo částečně želatinovaný škrob. Nedosmažené potraviny pak nemají žádoucí smaženou chuť, dobrou barvu a křupavou strukturu. Přesmažené potraviny, nebo potraviny smažené při vyšší teplotě a delší dobu, než je optimální doba smažení, mají naopak ztmavlý a ztvrdlý povrch a působí mastným dojmem v důsledku nadměrné absorpce oleje (Choe & Min 2007).

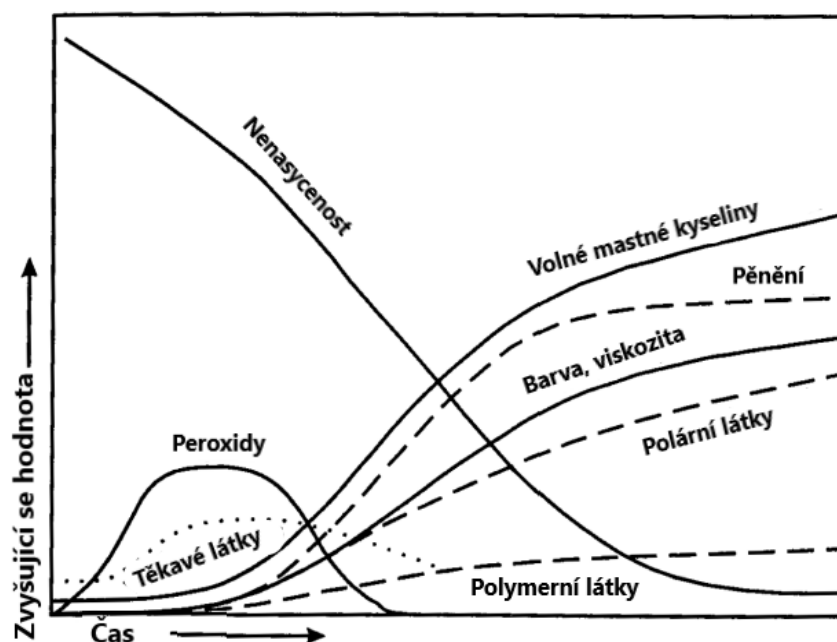
Doba smažení, povrch potravin, obsah vody v potravinách, typ strouhanky či těsta a druh oleje ovlivňují množství absorbovaného oleje do potravin (Moreira et al. 1997). Absorbovaný olej má tendenci se během smažení (ve většině případů) akumulovat na povrchu smaženého

jídla a během chlazení se přesouvá do vnitřku potravin (Moreira et al. 1997; Vitrac et al. 2000; Ziaifar 2008). Názory na reakční mechanismy zahrnující absorpci oleje při chlazení usmažených potravin jsou v literatuře poměrně rozporuplné. Vitrac et al. (2000) poukázali na to, že během smažení byl uvnitř potraviny přetlak 45 kPa, který zabraňoval migraci oleje dovnitř potraviny. Během období chlazení smažené potraviny však tento mechanismus již neovlivňoval pronikání oleje do potraviny. Kromě toho může rychlý pokles teploty v kůrce způsobit okamžitou kondenzaci páry, která je zodpovědná za pokles tlaku. Zatímco Vitrac et al. (2000) uvedli, že vakuový efekt v důsledku kondenzace páry je nejdůležitější silou působící na absorpci oleje v porézních médiích, Moreira et al. (1997) uvádí, že hlavním faktorem ovlivňujícím absorpci oleje je kapilární tlak. Autoři experimentálně prokázali, že tortilla chipsy absorbovaly většinu oleje během prvních 20 s chlazení, kdy je vnitřní teplota chipsů vyšší než teplota kondenzace vody. Toto pozorování vede k závěru, že absorpce oleje během chlazení usmažené potraviny probíhá spíše kapilární silou než kondenzací par. Pokud je veškerý olej ulpělý na potravine absorbován v rané fázi chlazení, může pouze kapilární tlak vysvětlit absorpci oleje. Na druhou stranu, pokud je olej absorbován nepřetržitě, i když teplota produktu klesá pod teplotu kondenzace par, pak jak vakuový efekt, tak kapilární tlak hrají při absorpci oleje svou roli (Ziaifar 2008).

Olej během tepelného zpracování podléhá řadě reakcí jako jsou hydrolýza, oxidace či polymerace, což vede ke zvýšení obsahu celkových polárních sloučenin (TPC) a vzniku polymerních sloučenin, které mají často vyšší molekulovou hmotnost a vyšší polaritu než původní nezměněné triacylglyceroly (TAG). Tyto polární frakce lze z oleje izolovat. Celkový obsah polymerních triacylglycerolů (PTG) je považován za nejspolehlivější index kvality oleje (Feng et al. 2016). Vzorokly oleje mající podobný obsah TPC mohou vykazovat různé distribuce PTG. Kromě toho palmolein přirozeně obsahuje vyšší množství diacylglycerolů (DAG), což v důsledku vede k vyšší hodnotě TPC v čerstvém palmoleinu ve srovnání s jinými druhy oleje. Proto je důležité porozumět i vlivu každé sloučeniny PTG k celkové změně oleje vystaveného vysokým teplotám. Oxidované sloučeniny mohou být přítomny ve stovkách nebo dokonce tisících kombinací v závislosti na acylových skupinách mastných kyselin, které esterifikují molekulu glycerolu na TAG. Proto je kvantitativní stanovení každé konkrétní sloučeniny relativně obtížné (Khor et al. 2019).

Většina těkavých sloučenin se během smažení odpařuje do atmosféry a zbývající těkavé sloučeniny v oleji podléhají dalším chemickým reakcím nebo jsou absorbovány ve smažených

potravinách. Netěkavé sloučeniny pak mohou měnit fyzikální a chemické vlastnosti oleje i potraviny. Tyto sloučeniny ovlivňují například kvalitu chuti a také texturu smažených potravin. Smažení ve vysoké vrstvě oleje snižuje obsah nenasycených mastných kyselin v oleji, mění barvu a zvyšuje pění, viskozitu, hustotu, měrné teplo a obsah volných mastných kyselin, polárních látek a polymerních sloučenin (obrázek 1). Teplota a čas smažení, použitý tuk či olej, antioxidanty a typ fritézy ovlivňují rozsah hydrolyzy, oxidace a polymerace tuku či oleje během smažení (Choe & Min 2007; Ziaifar 2008).



**Obrázek 1:** Fyzikální a chemické změny v oleji v průběhu smažení ve vysoké vrstvě (upraveno podle Choe & Min 2007)

## 1.1.2 Oxidační, hydrolytické a další změny lipidů během smažení

### 1.1.2.1 Hydrolytické reakce olejů a tuků

Když se jídlo smaží v rozpáleném oleji, voda přítomná ve smažené potravine vytváří páru, která se odpařuje a vede k bublání/pění. Voda, pára a kyslík iniciují chemické reakce v oleji na smažení a smaženém jídle. Voda jako slabý nukleofil, štěpí esterovou vazbu triacylglycerolů za vzniku di- a mono-acylglycerolů, glycerolu a volných mastných kyselin. Obsah volných mastných kyselin v oleji na smažení se zvyšuje s počtem fritování (Chung et al. 2006). Hodnota obsahu volných mastných kyselin se používá ke sledování kvality oleje na smažení. Hydrolyza probíhá snáze v oleji obsahujícím mastné kyseliny s krátkým řetězcem a nenasycené než v oleji

s obsahem mastných kyselin s dlouhým řetězcem a nasycených, protože mastné kyseliny s krátkým řetězcem a nenasycené jsou rozpustnější ve vodě (Nawar 1969).

Čím větší množství vody, tím rychleji tuk či olej hydrolyzuje (Dana et al. 2003) a zároveň voda vede k rychlejší hydrolyze než pára (Houhoula et al. 2003). Častá výměna oleje na smažení za čerstvý zpomaluje jeho hydrolyzu (Romero et al. 1998). Na druhou stranu, doba smažení nemá na hydrolyzu tuku či oleje vliv (Naz et al. 2005).

Volné mastné kyseliny a jejich oxidované sloučeniny způsobují pachut' a činí olej nevhodný pro smažení. Di- a monoacylglyceroly, glycerol a volné mastné kyseliny urychlují další hydrolytické reakce v oleji (Frega et al. 1999). Glycerol se odpařuje při 150 °C a zbývající glycerol v oleji podporuje produkci volných mastných kyselin hydrolyzou (Naz et al. 2005). Stevenson et al. (1984) uvádí, že maximální obsah volných mastných kyselin pro olej na smažení by měl být 0,05 % až 0,08 %.

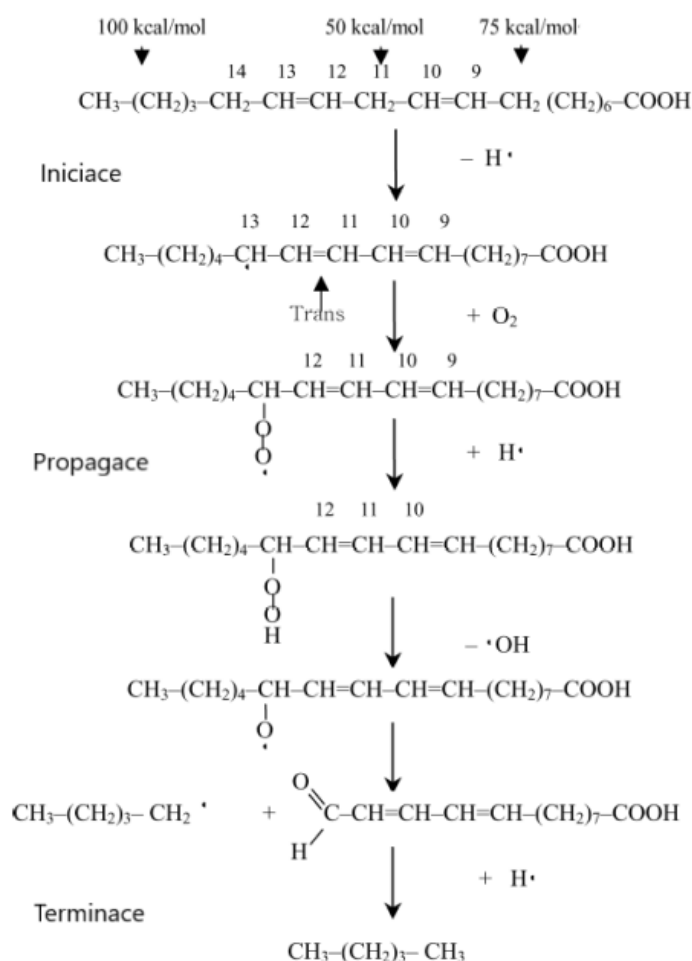
### **1.1.2.2 Oxidace oleje**

Oxidace lipidů v potravinách představuje složitý řetězec reakcí, které nejprve vede k primárním produktům (peroxidům, respektive hydroperoxidům), které, jakmile jsou vystaveny prodlouženým oxidačním podmínkám, vedou k produktům sekundární oxidace, což jsou aldehydy, ketony, epoxidy, hydroxy sloučeniny, oligomery a polymery (Barriuso et al. 2013).

Byly popsány různé cesty oxidace lipidů: radikálový mechanismus neboli autoxidace, singletovým kyslíkem zprostředkovaný mechanismus neboli fotooxidace a také enzymatická oxidace, která je katalyzována lipoxygenázami. Tento přehled se zaměřuje na neenzymatické cesty, auto- a fotooxidaci, které vedou ke vzniku stejných nebo podobných peroxidů, lišících se občas polohou, a tudíž prostorovým uspořádáním (stereoizomerie). Autoxidace vyžaduje počáteční aktivační energii pro odstranění atomu vodíku, je tedy podpořena vysokými teplotami a přítomností dvojných vazeb. Fotooxidaci spouští vysoce reaktivní singletové formy kyslíku, které vznikají excitací tripletového molekulárního kyslíku, za působení světla a přítomnosti fotosenzibilizátorů (Choe & Min 2006; Barriuso et al. 2013).

Chemický mechanismus tepelné (termální) oxidace je v zásadě stejný jako mechanismus autoxidace. U tepelné oxidace je však rychlejší než u autoxidace. Mechanismus tepelné oxidace

zahrnuje iniciaci (zahájení reakce), propagaci (pokračování) a terminaci (ukončení reakce), jak je uvedeno na obrázku 2 (Choe & Min 2007).



**Obrázek 2:** Iniciace, propagace a terminace při tepelné oxidaci oleje (upraveno podle Choe & Min 2007)

Kyslík při smažení ve vysoké vrstvě reaguje s olejem (Peers & Swoboda 1982; Houhoula et al. 2003). Olej v neradikálovém singletovém stavu nereaguje s dvouatomovým kyslíkem v tripletovém stavu kvůli spinové bariéře. Běžný atmosférický kyslík je dvouatomová sloučenina. Olej by měl být v radikálovém stavu, aby reagoval s reaktivní formou kyslíku a proběhla oxidační reakce. Vodík s nejslabší vazbou na uhlíku oleje bude odštěpen nejdříve, aby se stal radikálem. Například energie potřebná k rozbití vazby uhlík–vodík na 11. uhlíku linolové kyseliny je 209 kJ/mol. Dvojně vazby na uhlíku 9 a 12 oslabují vazbu uhlík–vodík na 11. uhlíku odebráním elektronů. Vazba uhlík–vodík na uhlíku 8 nebo 11, což je  $\alpha$ -poloha k dvojně vazbě olejové kyseliny, je asi 314 kJ/mol. Aktivační energie vazby uhlík–vodík na nasyceném uhlíku bez dvojně vazby vedle je přibližně 418 kJ/mol. Různé síly uhlovodíkových



vazeb vysvětlují rozdílné rychlosti oxidace mastných kyselin stearové, olejové, linolové a linolové během tepelné oxidace nebo autoxidace. Nejslabší vazba uhlík–vodík linolové kyseliny je ta na 11. uhlíku a vodík na uhlíku 11 bude tedy odstraněn nejdříve za vzniku radikálu na uhlíku 11 (obrázek 2). Radikál na uhlíku 11 se přeskupí za vzniku konjugovaného pentadienyly na uhlíku 9 nebo uhlíku 13 s *trans* dvojnou vazbou, jak je znázorněno na obrázku 2 (Choe & Min 2007).

Teplo, světlo, kovy a reaktivní formy kyslíku usnadňují tvorbu radikálů v oleji. Polyvalentní kovy, jako je  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Cu}^{2+}$ , odstraňují vodíkové protony z oleje za vzniku alkylových radikálů oxidačně-redukčním mechanismem i při nízkých teplotách. Místo tvorby radikálů u nasycených mastných kyselinách se liší od nenasyčených mastných kyselin olejové nebo linolové. Alkylový radikál nasycených mastných kyselin se tvoří v  $\alpha$  poloze karboxylové skupiny mající schopnost odebírat elektrony. Tvorba alkylového radikálu z molekuly oleje odstraněním vodíku se nazývá iniciační krok v oxidační reakci oleje. Alkylový radikál může také reagovat s alkylovými radikály, alkoxylovými radikály a peroxylovými radikály za vzniku dimerů a polymerů (Choe & Min 2007; Ziaifar 2008).

Alkylové radikály s redukčním potenciálem 600 mV reagují rychle s biradikálem tripletového kyslíku a produkují peroxylové radikály rychlostí  $10^9/\text{M}\cdot\text{s}$ . Peroxylový radikál s redukčním potenciálem 1000 mV odebírá vodík z olejové kyseliny a linolové kyseliny a produkuje hydroperoxid rychlostí přibližně  $1 \times 10^0/\text{M}\cdot\text{s}$  a  $1 \times 10^0/\text{M}\cdot\text{s}$ . Peroxylový radikál odebírá vodíkový atom z jiné molekuly oleje a tvoří nový hydroperoxid a další alkylový radikál. Tato reakce se nazývá radikálová řetězová reakce v potravinách, a její první krok je označován jako propagace. Peroxylové radikály také reagují s dalšími radikály rychlostí asi  $1,1 \times 10^6/\text{M}\cdot\text{s}$  za vzniku dimerů nebo polymerů (Choe & Min 2006). Řetězové reakce volných alkylových radikálů a peroxylových radikálů urychlují oxidaci oleje (Choe & Min 2007).

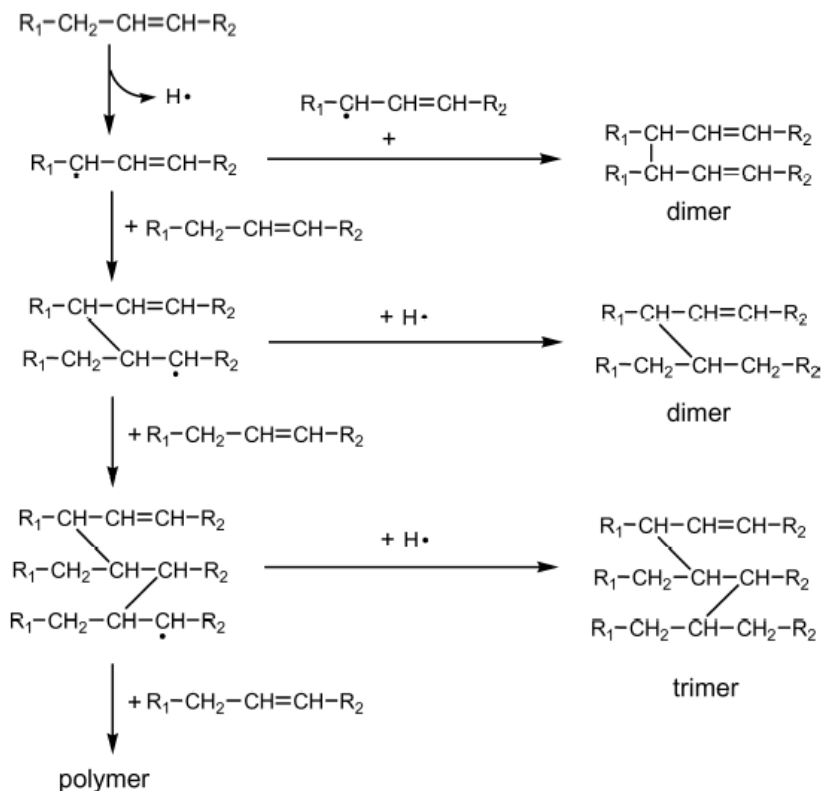
Síla vazby kyslík–kyslík v hydroperoxidu R-O-O-H je přibližně 184 kcal/mol, což je relativně slabá kovalentní vazba. Hydroperoxydy nejsou obecně stabilní v průběhu smažení ve vysoké vrstvě tuku či oleje (Nawar 1984). Rozkládají se na alkoxylové a hydroxylové radikály homolýzou peroxidové vazby. Hydroperoxid se rozloží a vytvoří oxy- a hydroxylové radikály. Alkoxylový radikál reaguje s jinými alkoxylovými radikály nebo se rozkládá a tvoří neradikálové produkty. Tvorba neradikálových těkavých a netěkavých sloučenin na konci oxidace se nazývá terminace (Choe & Min 2007), jak je znázorněno na obrázku 2.

Většina těkavých látek je z fritovacího oleje během smažení ve vysoké vrstvě odstraněna párou. Přidání vody do smažicího systému snižuje obsah těkavých sloučenin v oleji (Wu & Chen 1992). Množství těkavých sloučenin přítomných v oleji se velmi liší v závislosti na druhu oleje, potravině a podmínkách smažení. Ztráta těkavých sloučenin z oleje na smažení je důsledkem kombinace odpařování a také rozkladu a reakce těkavých sloučenin s dalšími složkami potravin (Nawar 1984). Těkavé sloučeniny v oleji na smažení podléhají dalším reakcím, jako je např. oxidace, dimerizace a polymerace. Těkavé sloučeniny významně přispívají ke kvalitě chuti oleje na smažení a smaženého jídla. Rychlost oxidačních degradačních reakcí se zvyšuje se zvyšující se koncentrací kyslíku a volných radikálů (Paul et al. 1997). Na začátku smažení je množství mono- a diacylglycerolů malé. Vysoké mezifázové napětí ve fritovacím systému rozbíjí bublinky páry a vytváří na povrchu oleje „pokrývku“. Tato vrstva z páry snižuje kontakt mezi olejem a kyslíkem a snižuje tak oxidaci oleje (Choe & Min 2007).

### 1.1.2.3 Polymerace oleje

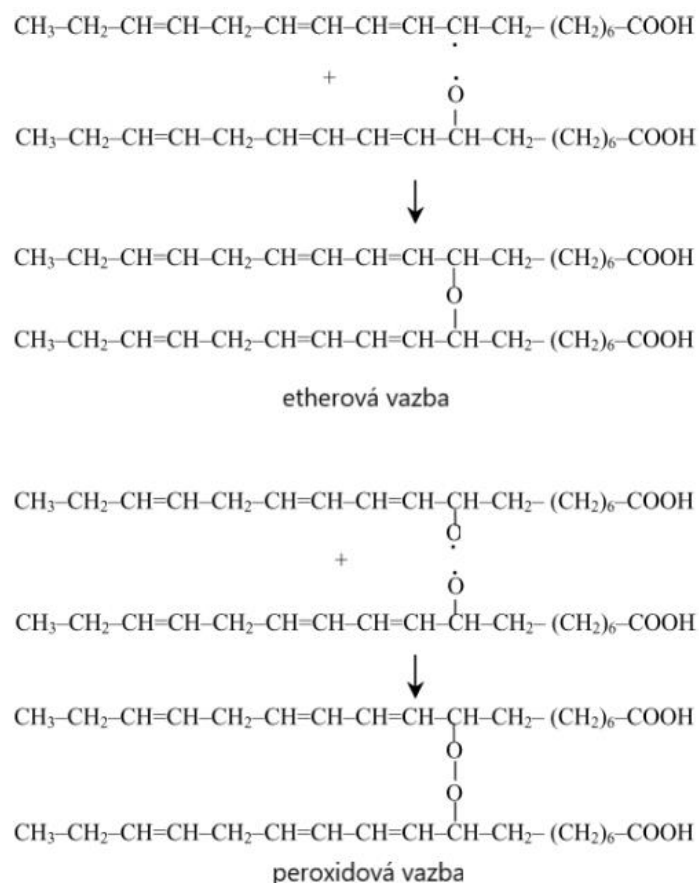
Těkavé sloučeniny jsou extrémně důležité pro chuťové vlastnosti oleje na smažení a smaženého jídla, ale jejich obsah je malý (v řádech ppm) (Nawar 1984). Hlavní produkty rozkladu oleje na smažení jsou netěkavé polární sloučeniny a dimery a polymery triacylglycerolů. Množství cyklických sloučenin jsou relativně malá ve srovnání s netěkavými polárními sloučeninami, dimery a polymery (Sánchez-Muniz et al. 1993; Dobarganes et al. 2000). Dimery a polymery jsou velké molekuly s molekulou hmotnostní v rozmezí 692 až 1600 Daltonů a jsou tvořeny kombinací vazeb -C-C-, -C-O-C- a -C-O-O-C- (Stevenson et al. 1984). Dimery a polymery mají hydroperoxidové, epoxidové, hydroxylové a karbonylové skupiny a -C-O-C- a -C-O-O-C- vazby (Christopoulou & Perkins 1989).

Dimery nebo polymery jsou buď acyklické nebo cyklické v závislosti na reakčním procesu a druhu mastných kyselin, z kterých se olej skládá (Sánchez-Muniz et al. 1993, Tompkins & Perkins 2000). Dimerizace a polymerace v průběhu smažení ve vysoké vrstvě jsou radikálové reakce. Alkylové radikály se tvoří přednostně na methylenových uhlících v pozici  $\alpha$  k dvojným vazbám. Dimery jsou tvořeny reakcemi allylových radikálů pomocí C-C vazby. Tvorba acyklických polymerů z olejové kyseliny během zahřívání je znázorněna na obrázku 3 (Choe & Min 2007).



**Obrázek 3:** Tvorba acyklického polymeru z olejové kyseliny během smažení ve vysoké vrstvě (Choe & Min 2007)

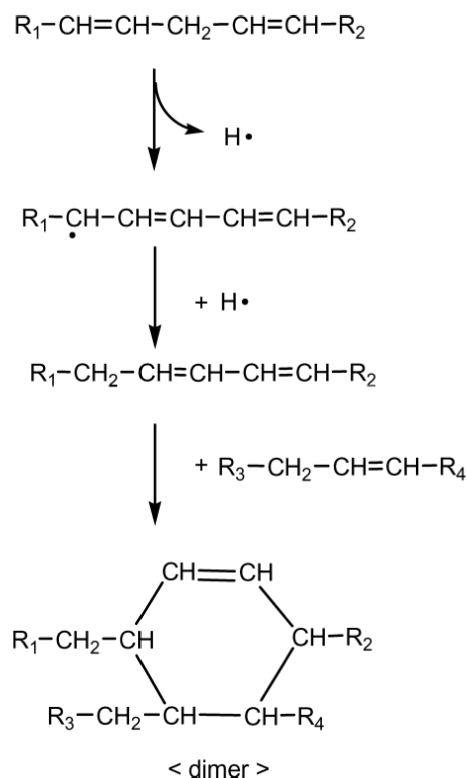
Triacylglyceroly reagují s kyslíkem a produkují alkyhydroperoxy (ROOH) nebo dialkylperoxy (ROOR). Snadno se rozkládají na alkoxylové a peroxylové radikály štěpením RO-OH a ROO-R. Alkoxylové radikály mohou získat vodík z molekuly oleje za vzniku hydroxy sloučenin nebo se kombinovat s jinými alkylovými radikály za vzniku oxydimerů. Peroxylové radikály se mohou kombinovat s alkylovými radikály a vytvářet peroxy dimery (obrázek 4).



**Obrázek 4:** Tvorba etherových nebo peroxidových vazebných polymerů během smažení (upraveno podle Choe et Min, 2007)

Tvorba dimerů a polymerů závisí na typu oleje, teplotě smažení a počtu fritování. Se zvyšujícím se počtem smažení a zvyšující se teplotou se množství polymerů zvyšuje (Sánchez-Muniz et al. 1993; Choe & Min 2007). Olej s vysokým obsahem linolové kyseliny podléhá během smažení ve vysoké vrstvě snadněji polymeraci než olej s vysokým obsahem olejové kyseliny (Tompkins & Perkins 2000; Bastida & Sánchez-Muniz 2001).

Cyklické polymery se vytváří uvnitř nebo mezi triacylglyceroly radikálovými reakcemi a Diels-Alderovou reakcí (obrázek 5). Tvorba cyklických sloučenin v oleji na smažení závisí na stupni nenasycenosti a teplotě smažení. Tvorba cyklických monomerů a polymerů se zvyšuje se zvyšujícím se obsahem linolenové kyseliny (Rojo & Perkins 1987; Tompkins & Perkins 2000). Tvorba cyklických monomerů je zanedbatelná, dokud obsah linolenové kyseliny nepřesáhne asi 20 % (což reálně připadá v úvahu pouze u lněného oleje, který se pro smažení ale nepoužívá). Cyklické sloučeniny se ve významné míře netvoří, dokud teplota oleje nedosáhne 200 °C až 300 °C (Christopoulou & Perkins 1989; Choe & Min 2007).



**Obrázek 5:** Tvorba cyklické sloučeniny z kyseliny linolové reakcí Diels-Alder při hlubokém smažení (Choe & Min 2007)

Polymery vznikající při smažení ve vysoké vrstvě jsou bohaté na kyslík. Oxidované polymerní sloučeniny urychlují další degradaci oleje, zvyšují viskozitu oleje (Tseng et al. 1996), snižují přenos tepla, a během smažení ve vysoké vrstvě vedou k pění a vytváří nežádoucí barvu smaženého produktu. Větší množství polymerů v oleji vede také k větší absorpci oleje do smažených potravin (Choe & Min 2007).

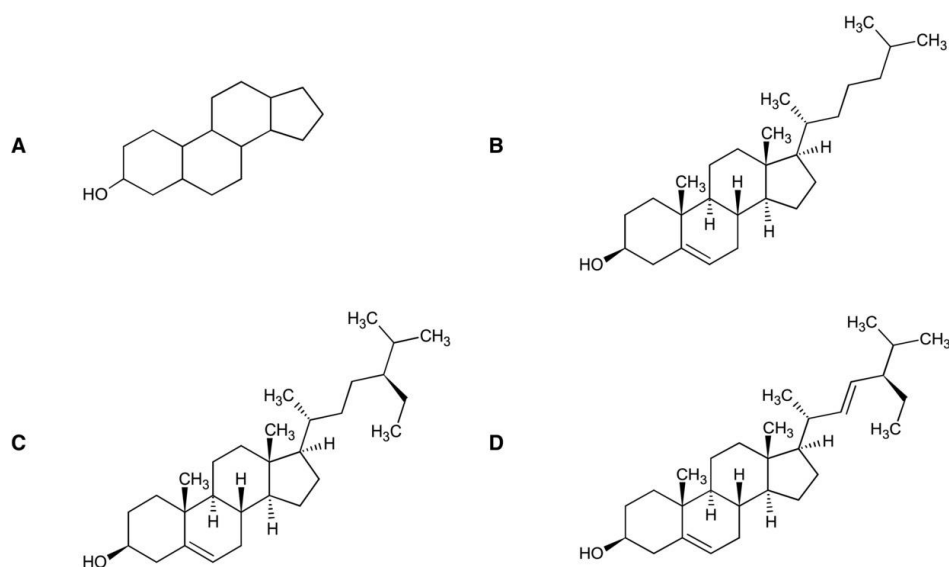
Polymery jsou vysoce konjugované dieny a vytvářejí hnědé zbytky (podobné pryskyřici) po stranách fritézy, kde olej a kovy přichází do styku s atmosférickým kyslíkem (Moreira et al. 1997).

### 1.1.3 Změny doprovodných látek lipidů během smažení

Konzumenti potravin byli po léta varováni, že dieta bohatá na cholesterol může způsobit aterosklerózu. Je také dobře známo, že konzumace velkého množství fytosterolů snižuje koncentraci lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL) v krvi (LDL jsou považovány za klíčový rizikový faktor rozvoje kardiovaskulárních chorob). Žádné vědecké důkazy však jednoznačně neprokázaly přímou souvislost mezi množstvím konzumovaného cholesterolu a hladinou LDL

v krvi. Na druhé straně se ukazuje, že koncentrace produktů oxidace cholesterolu (oxysterolů) má například významný vliv na vznik aterosklerotických lézí (plaků). Fytosteroly (jako sitosterol nebo kampesterol) snižují hladinu LDL v krvi, ale na druhou stranu jsou produkty jejich oxidace toxické (Brzeska et al. 2016).

Steroly (také steroidní alkoholy) patří mezi steroidy. Atom uhlíku ve 3. poloze 4kruhového steroidního jádra je v nich substituován hydroxylovou skupinou a postranní řetězec je připojen na C17 (obrázek 6). Steroly jsou lipofilní. Mohou být rozděleny na fytosteroly (rostlinného původu), zoosteroly (živočišného původu), mycoosteroly (houbového původu) a syntetické steroly.



**Obrázek 6:** Kostra sterolu (A), strukturní vzorec cholesterolu (B),  $\beta$ -sitosterolu (C) a stigmasterolu (D) (Brzeska et al. 2016)

### 1.1.3.1 Fytosteroly a jejich oxidační produkty

Mezi nejvýznamnější fytosteroly patří  $\beta$ -sitosterol (obrázek 6C), stigmasterol (obrázek 6D), kampesterol a brassikasterol. Lze je nalézt v mnoha druzích ovoce, zeleniny, ořechů, zrn a rostlinných olejů – jak v rostlinných buňkách, tak v cytoplazmatických membránách (Brzeska et al. 2016).

Průměrná spotřeba fytosterolů v západních zemích je asi 250 mg na den (Hovenkamp et al. 2008). Fytosteroly inhibují v lidském střevě absorpci cholesterolu a snižují hladiny cholesterolu v krevním séru, protože struktura molekul fytosterolu je velmi podobná cholesterolu. Příjem 2 g fytosterolů denně snižuje u lidí hladinu lipoproteinů s nízkou hustotou

(LDL) o 10 % a snižuje riziko aterosklerózy (De Jong et al. 2003; Katan et al. 2003; Otaegui–Arrazola et al. 2010). Na druhou stranu oxyfytosteroly, produkty oxidace fytosterolů, jsou toxické látky snadno absorbovatelné lidským organismem (Adcox et al. 2001).

Všechny steroly mají ve svých jádrech nenasycenou dvojnou vazbu mezi C5 a C6, takže jsou náchylné k oxidaci. Molekuly fytosterolů se liší od molekul cholesterolu v postranních řetězcích: jsou přítomny (u některých fytosterolů) další substituce v blízkosti C24 a dvojná vazba mezi C22 a C23 (obrázek 6). Obecně oxidací sterolů vznikají takzvané sterolové oxidační produkty (SOP) nebo oxysteroly (OS). Oxidací cholesterolu vznikají produkty oxidace cholesterolu (COP), zatímco oxidace fytosterolů vede ke vzniku produktů oxidace fytosterolů (POPs) (Brzeska et al. 2016). Cholesterol je velmi náchylný k autooxidaci, ke které může docházet dvěma způsoby: typ I je urychlován volnými radikály a typ II vysoce reaktivními formami kyslíku (například ozon a singletový kyslík) (Miyoshi et al. 2014). Oxidaci fytosterolů v lidském organismu se věnuje méně prací než oxidaci cholesterolu. Předpokládá se, že se POPs a COP vytváří podobně, pokud je kruh oxidován v důsledku nějakého neenzymatického oxidačního procesu, zatímco enzymatické transformace vedou k oxidaci postranního řetězce (Brzeska et al. 2016).

V práci Rudzińska et al. (2005) se obsah fytosterolů během smažení hranolků na řepkovém oleji výrazně snížil (okolo 60 %). Kromě toho se významně zvýšil obsah oxyfytosterolů, zejména derivátů triolu. Obsah celkových fytosterolů v čerstvém, kvalitním řepkovém oleji byl 5,4 mg/g a po 14. smažení se snížil na 2,0 mg/g. Hranolky připravené v čerstvém oleji na smažení obsahovaly 2,9 mg fytosterolů v 1 g extrahovaných lipidů, ale po 14. smažení měly v 1 g extrahovaných lipidů pouze 1,1 mg fytosterolů. Úroveň celkových oxyfytosterolů v čerstvém kvalitním řepkovém oleji používaném na smažení byla 25,1 µg/g. Po 14. smažení se zvýšil na 197,1 µg/g. Během smažení se obsah oxyfytosterolů v hranolkách pohyboval od 16,8 do 147,6 µg/g lipidů extrahovaných z produktu (Rudzińska et al. 2005).

V systému kontinuálního smažení se ztráty fytosterolů pohybovaly mezi 4 a 6 % u sójového oleje lisovaného za vysokého tlaku (ESBO), sójového oleje lisovaného za vysokého tlaku s nízkým obsahem linolenové kyseliny (ELLSBO), slunečnicového oleje s vysokým obsahem olejové kyseliny (HOSun) a kukuřičného oleje (Corn), bez ztráty u hydrogenovaného sójového oleje (HSBO). V experimentu smažení ve várkách se ztráta fytosterolů pohybovala od 1 do 15 % a byla nejvyšší u kukuřičného oleje následovaného SBO a HSBO. U ESBO, ELLSBO a HOSun nedošlo k žádné významné ztrátě fytosterolů (Winkler et al. 2007).

## 1.1.4 Změny nutriční jakosti potravin během jejich smažení

### 1.1.4.1 Změny tuků

Vzhledem k absorpci oleje, která se většinou pohybuje mezi 8-25 %, ale může se dostat až na 40 % hmotnosti produktu (Bouchon 2009), je důležité, aby výběr oleje na smažení vycházel nejen z jeho technologických vlastností, ale také z nutričních vlastností (Mellema 2003). Nárůst energetického příjmu je jedním z hlavních problémů spojených s konzumací smažených potravin (Bordin et al. 2013). Absorpce oleje závisí na počáteční kvalitě a typu použitého oleje nebo tuku. Podle Paula a Mittala (1997) ovlivňuje pronikání oleje do potravin mnoho faktorů, jako jsou geometrický tvar potraviny, viskozita oleje, druh jídla, teplota oleje a délka smažení. Dlouhodobé používání oleje a/nebo jeho opětovné použití vede k tvorbě a hromadění nežádoucích látek. Tyto sloučeniny mohou souviset s uvolňováním a rozpouštěním potravinových částic nebo produktů tepelných a oxidačních reakcí v oleji. Všechny tyto faktory přispívají ke zvýšení viskozity oleje, snížení povrchového napětí mezi potravinou a olejem a ke zvýšení ulpívání oleje na povrchu jídla, což usnadňuje absorpci oleje (Dobarganes et al. 2000).

Proces smažení může také vést ke vzniku *trans*-nenasycených mastných kyselin (TFA). TFA jsou definovány jako nenasyčené mastné kyseliny, které obsahují nekonjugované dvojné vazby uhlík–uhlík v *trans* konfiguraci a epidemiologické studie naznačují, že existuje vztah mezi úrovní příjmu těchto sloučenin a rizikem kardiovaskulárních onemocnění (Mozaffarian et al. 2004; Tsuzuki et al. 2010). Množství vytvořených TFA během smažení závisí na třech hlavních faktorech: podmínky smažení, materiál (potravina) na smažení a metody měření TFA (Tsuzuki et al. 2010). I když se smažené potraviny často neuvádí jako významný zdroj TFA, některé oleje odebrané z pouličních občerstvení mohou obsahovat až 30 % TFA (Gupta et al. 2016). Podrobnější popis dalších toxických látek vznikajících při smažení je v kapitole 1.6. Změny hygienické jakosti potravin při jejich smažení.

### 1.1.4.2 Změny bílkovin

Nutriční hodnota bílkovin v potravinách je kombinací jejich kvality a kvantity. Kvalita představuje obsah bílkovin zkonzumovaných a využitých organismem a zastoupení jednotlivých aminokyselin. Kvantita představuje množství bílkovin přítomných v potravinách. Tepelné zpracování může snížit množství bílkovin a vést k degradaci některých aminokyselin, čímž se změní i kvalita bílkovin v potravinách (Henry 1998).



Obecně se obsah bílkovin procesem smažení zvyšuje vlivem zakoncentrování, protože smažení je také proces dehydratace. Pokud jde o esenciální aminokyseliny, v literatuře není shoda o jejich ztrátě. Lysin je však první aminokyselinou zapojenou do Maillardovy reakce, takže jeho ztráty v procesu smažení se předpokládají (Bordin et al. 2013). Maillardova reakce způsobuje ztrátu živin a hnědnutí. Intenzita hnědnutí primárně koreluje se ztrátami lysinu, histidinu a methioninu (Hidalgo & Zamora, 2000).

#### **1.1.4.3 Změny sacharidů**

Nejběžnějším polysacharidem v potravinách je škrob. Amylóza a amylopektin se ve vodě rozpouštějí a teplem vytvářejí polymerní síť, což vede k želatinizaci škrobu. Želatinizace nastává po denuraci globulárních bílkovin při vysokých teplotách a zahrnuje sacharidy, bílkoviny, lipidy a vodu (Bordin et al. 2013).

Při smažení syrových brambor jsou velmi důležité změny škrobu. Škrobová zrna při kontaktu s horkým olejem rychle želatinizují. Tuhá struktura syrových brambor se ztratí za 1-2 minuty a smažené chipsy změkknou. Při dalším zahřívání se na povrchu smažených potravin vytvoří pevná křupavá kůrka, což spotřebitel velmi oceňuje. Na povrchu hranolků, kde je obsah vody mnohem nižší než ve vnitřních vrstvách, není želatinace tak intenzivní, takže si škrobová zrna částečně zachovávají svoji krystalickou strukturu (Bordin et al. 2013).

Ve studii Björck a Asp (1994) bylo naznačeno, že vaření mražených hranolků nemělo žádný vliv na složení škrobu ve srovnání s čerstvými vzorky, zatímco smažení významně zvýšilo procento rezistentního škrobu (čímž se zvýšil obsah vlákniny), což je částečně přičítáno tvorbě komplexu amyλόza–lipid.

Neškrobnaté polysacharidy s vysokou molekulovou hmotností (dietární vláknina) se při přípravě hranolků rozkládají. V některých případech se však obsah vlákniny během smažení zvyšuje, což je pravděpodobně způsobeno tvorbou již zmíněného rezistentního škrobu, melanoidinů nebo jiných nestravitelných sloučenin. Kromě toho polysacharidy vytvářejí na začátku procesu zahřívání na povrchu kompaktní film, čímž zabraňují migraci tuku do smaženého pokrmu a ztrátě vody (Rimac–Brnčić et al. 2004).

#### **1.1.4.4 Změny vitaminů**

Většina vitaminů je citlivá na teplo a jejich oxidace závisí na vnitřní teplotě potravin a procesu smažení. Vitamin C je obvykle z vitaminů ten nejcitlivější na teplo. Z vitaminů

skupiny B jsou procesem smažení nejčastěji postiženy B1, B2, B3 a B6 (Bordin et al. 2013). Vitaminy B1, B2, B6 a C se ale při smažení uchovávají lépe než při vaření, vaření v páře nebo dušení (Ghidurus et al. 2010).

Ztráty thiaminu (vitaminu B1) jsou v případě smažení nižší, než když se jídlo připravuje jinými metodami. Největší ztráta thiaminu nastala při vaření ve vodě (70 %), poté v páře (40 %), pražením (35 %) a až nakonec smažením (30 %). To lze připsat povaze vitaminu, který je rozpustný ve vodě a vyluhuje se do ní (Kimura et al. 1990).

Riboflavin (vitamin B2) byl při smažení kuřecího masa lépe zachován než thiamin, když se smažilo tmavé maso. Ztráty riboflavinu ve smažených telecích a prasečích játrech činily 42,5 a 43,5 % (Ghidurus et al. 2010). Ke ztrátám při varu brambor, zeleniny, masa a ryb dochází zejména kvůli vyluhování. Nárůst obsahu riboflavinu během smažení je významný. To je pravděpodobně způsobeno vznikem riboflavinu z prekurzorů riboflavinu během smažení (Bognár 1998).

Příprava brambor za různých podmínek ukázala menší ztrátu vitaminu C při smažení ve vysoké vrstvě (5–35 %) než při vaření (30 %) a dušení (76 %) (Bognár 1998). Rojas–Gonzales et al. (2006) uvádí ztrátu  $\leq 45$  % vitaminu C po smažení plantainu (zeleninového banánu) ve vysoké vrstvě palmového oleje při 120–180 °C a době 24 s až 4 min. Ztráta vitaminů je způsobena vysokými teplotami, enzymatickou oxidací během procesu přípravy nebo dlouhou dobou smažení.

Pokud je proces smažení krátký, jsou ztráty  $\beta$ -karotenu, nejdůležitějšího zástupce skupiny provitaminů A, relativně nízké. V zelenině smažené ve vysoké vrstvě byly ztráty  $\beta$ -karotenu dvakrát vyšší než u zeleniny smažené v nízké vrstvě. Některé karoteny mohou migrovat do oleje na smažení. Během smažení zelí se obsah  $\beta$ -karotenu snížil o 29 % (Ghidurus et al. 2010). Speek et al. (1988) zkoumali účinek kulinárního zpracování na obsah karotenoidů v zelenině, kdy zjistili průměrnou ztrátu aktivity vitaminu A 14 % při vaření a 24 % při smažení.

Retinol, karotenoidy a tokoferoly se degradují, mění chuť a barvu oleje. Preferenční oxidace tokoferolů má však ochranný (antioxidační) účinek, který je zvláště důležitý, protože většina olejů na smažení je rostlinného původu a obsahuje velké množství nenasycených rychle oxidovatelných mastných kyselin (Bordin et al. 2013). V olejích (s různými stupni nenasycení) byla degradace významně vyšší, když nebyly přítomny tokoferoly, a pravděpodobně záleží i na

typu tokoferolů (Barrera–Arellano 2002). Podle Gordon a Kouřimská (1995) se v řepkovém oleji  $\alpha$ -tokoferol ztrácí rychleji než jiné tokoferoly.

Během simulace domácího smažení s panenským olivovým olejem, slunečnicovým olejem a rostlinným olejem byla během osmi po sobě jdoucích operací smažení prokázána pozoruhodná odolnost homologů tokoferolu. 50 % vitamínu E bylo zachováno po čtyřech až pěti po sobě jdoucích smaženích, v závislosti na druhu oleje (Andrikopoulos et al. 2003). Rostlinné oleje na smažení jsou vynikajícím zdrojem vitamínu E (Carlson & Tabacchi 1986). Všechny rostlinné oleje používané ke smažení obsahují vitamín E v koncentraci mezi 15 a 49 mg ekvivalentu  $\alpha$ -tokoferolu/100 g. Smažená jídla jsou díky absorpci oleje obohacena o značné množství tohoto vitamínu. Například porce 100 g domácích hranolků poskytuje až 50 % doporučené denní dávky vitamínu E (Saguy & Dana 2003). Nárůst ztráty vitamínu E během smažení pozorovali Carlson a Tabacchi (1986). Vitamín E (tokoferoly) z oleje na smažení se účastní reakcí volných radikálů, čímž se snižuje rychlost oxidace (Saguy & Dana 2003). Nebyla však pozorována žádná významná změna v obsahu vitamínu E v hranolcích během čtyř dnů komerčního smažení – v důsledku zvýšení množství tuků v hranolkách nasáknutím, které kompenzovalo snížení vitamínu E v důsledku smažení oleje (Carlson & Tabacchi 1986). Simonne a Eitenmiller (1998) studovali změny v obsahu vitamínu E v kuřecích nugetách a obalovaných krevetách během smažení ve vysoké vrstvě. Po smažení v sójových a kukuřičných olejích byl zaznamenán nárůst celkového vitamínu E z 4,6 mg/100 g před smažením na 4,9 mg/100 g po smažení v kuřecích nugetách a v obalovaných krevetách z 0,6 mg/100 g před smažením na 5,1 mg/100 g po smažení.

Rychlost rozkladu tokoferolů během smažení ve vysoké vrstvě závisí na době smažení a použitém oleji. Rychlost rozkladu  $\gamma$ -tokoferolu ve směsi sójového a řepkového oleje při 180 °C při smažení brambor byla nejrychlejší, následovaná  $\delta$ - a  $\alpha$ -tokoferolem. Aldehydy, epoxidy, hydroxyketony a dikarboxylové sloučeniny vytvořené oxidací lipidů reagují s aminy, aminokyselinami a bílkovinami ve smažených potravinách (Choe & Min 2007).

#### **1.1.4.5 Změny minerálních látek**

Je logické, že při smažení nedochází k výrazným ztrátám minerálních látek. Ve studiích Gokoglu et al. (2004) a Avallone et al. (2009) bylo zjištěno, že minerální látky jsou smažením relativně zachovány, zejména při vysokých teplotách (165–185 °C) a krátké době přípravy. Ersoy a Özeren (2009) hodnotili zpracování ryb a po smažení pozorovali malý nárůst

koncentrace minerálních látek, jako je Na, K, Ca, Mg, Fe a Zn, pravděpodobně kvůli koncentračnímu efektu. Ve studii s filety ze pstruha duhového se obsah minerálních látek, konkrétně Na, Ca, Mg, K, P, Fe a Zn, během procesu smažení statisticky významně zvýšil (Asghari et al. 2013).

## **1.1.5 Změny sensorické jakosti potravin během jejich smažení**

### **1.1.5.1 Chut', vůně a barva**

Když je pokrm ponořen do horkého oleje v přítomnosti kyslíku, je olej vystaven třem faktorům, která způsobují změny v jeho složení: voda z potraviny (která způsobuje hydrolytické změny), kyslík (který se dostává do kontaktu s olejem a způsobuje oxidační změny od povrchu do vnitřku potraviny) a nakonec vysoká teplota (která způsobuje tepelné změny, jako jsou izomerizace a štěpné reakce) (Bordin et al. 2013).

Charakteristiky barvy, chuti a vůně smažených produktů jsou vytvářeny kombinací reakcí a sloučenin absorbovaných olejem na smažení. Hlavními faktory ovlivňujícími změny barvy a chuti v průběhu procesu smažení jsou druh oleje, skladování a tepelné změny, mezifázové napětí mezi olejem a výrobkem, teplota a délka smažení, obsah vlhkosti, velikost a vlastnosti povrchu potravin a ošetření před smažením (Bordin et al. 2013).

Oxidace lipidů vytváří těkavé a netěkavé sloučeniny, které interferují s chutí a vůní. Obsah těkavých látek v oleji na smažení na začátku procesu roste, ale během smažení se snižuje. Pro kvalitu procesu smažení jsou důležité těkavé látky, jako jsou nasycené aldehydy C6-C9, enaly (např. 2-decenal), dienaly (např. 2,4-heptadienal) a uhlovodíky (hexen, hexan, heptan, oktan, nonan a dekan). Tvorba netěkavých rozkladných produktů je způsobena oxidací a polymerací nenasycených mastných kyselin. Vznikající aldehydy (mimo jiné) ovlivňují chuť smažených potravin, protože 2-trans-4-trans-dekadienal pozitivně přispívá k chuti smažených potravin, zatímco jiné aldehydy vedou ke vzniku pachuti (Boskou & Morton 1976).

Chuť oleje, která se vytváří v průběhu smažení ve vysoké vrstvě, je popsána jako ovocná, travnatá, máslová, spálená, ořechová a rybí. Oxidace linolenové kyseliny během smažení ve vysoké vrstvě zvyšuje rybí zápach a tvorbu pachuti (Bordin et al. 2013) a snižuje se ovocná a ořechová vůně. Známé sloučeniny zodpovědné za rybí zápach jsou 1-penten-3-on, 1-okten-3-on a E,Z-2,6-nonadienal, ale existuje jich mnohem více (Sghaier et al. 2016). Sensorická kvalita obecně klesá s počtem smažení a záleží i na druhu oleje. Kvalita chuti arašídového oleje

byla lepší než ta sójového nebo řepkového oleje při smažení brambor na 160 °C, 180 °C a 200 °C (Choe & Min 2007). Wu a Chen (1992) uvedli 2–heptenal, 2–oktenal, 1–okten–3–ol, 2,4–heptadienal, and 2,4–dekadienal jako hlavní těkavé sloučeniny vznikající v sójovém oleji při 200 °C.

Typická žádaná smažená příchut' vzniká při optimální koncentraci kyslíku. Při nízké koncentraci kyslíku je chuť slabá a špatná a při vysoké koncentraci kyslíku vzniká pachut'. Sloučeniny zodpovědné za smaženou chuť v potravinách jsou hlavně těkavé sloučeniny z linolové kyseliny a jsou to dienaly, alkenaly, laktony, uhlovodíky a různé cyklické sloučeniny (Choe & Min 2007). Karbonylové sloučeniny vzniklé v průběhu smažení ve vysoké vrstvě mohou reagovat s aminokyselinami, aminy a bílkovinami a vést ke vzniku žádoucích pyrazinů dodávajících ořechovou chuť (Negroni et al. 2001).

### **1.1.5.2 Textura**

Vývoj struktury uvnitř potravin během procesu smažení je výsledkem kombinace změn bílkovin, tuků a uhlovodíkových polymerů, podobných těm, které se tvoří během vaření nebo pečení (Bordin et al. 2013).

Tvorba pórů je zásadní strukturální změnou. Póry vznikají odpařováním vody a tvorbou kapilár. Intenzivní teplo vede k explozi během odpařování vody a vytváří široké póry. Rychle se tvoří povrchová kůrka, která působí jako bariéra proti odpařování, snižuje ztráty vody a udržuje vnitřek pokrmu vlhký. Želatinizace škrobu a denaturace bílkovin také přispívají k rozvoji pórů a smrštění potravin. Přítomnost pórů ovlivňuje mechanické vlastnosti potravin a následně její texturu a přijatelnost (Ahmed et al. 2010).

### **1.1.6 Změny hygienické jakosti potravin během jejich smažení**

Dalším problémem spojeným s konzumací smažených potravin je příjem sloučenin s negativním vlivem na zdraví člověka vznikajících při smažení. V současnosti identifikované nebezpečné sloučeniny, které se při smažení mohou tvořit, jsou např. potenciálně karcinogenní molekuly, jako jsou karbonylové sloučeniny nebo monoepoxydy, a některé aldehydy vytvořené z linolové kyseliny. Například 4–hydroxy–2–transnonenal byl prokázán jako cytotoxický (Sepannen & Saari Csallany 2002; Ziaifar et al. 2008).

Mezi všemi sloučeninami produkovanými Maillardovou reakcí roste zájem o toxické sloučeniny, jako jsou akrylamid a hydroxymethylfurfural (HMF). Je známo, že akrylamid je

u zvířat neurotoxická, genotoxická, hepatotoxická a karcinogenní sloučenina (Capuano & Fogliano 2011), vykazuje reprodukční toxicitu (Quanwei et al. 2019) a je klasifikován jako pravděpodobný lidský karcinogen (IARC 1999). HMF je také tepelně indukovaný toxický meziprodukt, který se podílí na tvorbě akrylamidu v potravinové matici (Perera et al. 2021).

Akrylamid vzniká prostřednictvím Maillardovy reakce, když se asparagin a redukující cukry zahřívají na vysokou teplotu (Stadler et al. 2002; Kalita & Jayanty 2013). V jedné studii Miao et al. (2014) ukázali, že u bramborových lupínků se s prodlužováním doby zpracování a zvyšováním teploty odpovídajícím způsobem zvyšoval obsah akrylamidu. Aktivita vody by také mohla ovlivnit tvorbu této sloučeniny, s poklesem aktivity vody se tvorba akrylamidu zvýšila (Miao et al. 2014).

Karboonylové sloučeniny vzniklé při oxidaci lipidů reagují s aminokyselinami, zejména asparaginem, vedou ke vzniku akrylamidu a snižují nutriční hodnotu a bezpečnost potravin. Akrolein, vytvořený z oleje reaguje s asparaginem a vede ke vzniku akrylamidu při smažení ve vysoké vrstvě (Yasuhara et al. 2003). Tvorba akrylamidu vyžaduje teplotu ohřevu nad 100 °C (Becalski et al. 2003) a zvyšuje se s rostoucí teplotou (Pedreschi et al. 2005). Druh oleje a přidání silikonu nemělo žádný vliv ( $p > 0,05$ ) na koncentraci akrylamidu ve smažených potravinách (Matthäus et al. 2004). Akrolein a karboonyly vznikající při smažení ve vysoké vrstvě však nejsou hlavními prekurzory akrylamidu (Zhang et al. 2005).

Akrolein (prop-2-enal) je  $\alpha$ ,  $\beta$ -nenasycený aldehyd, který vzniká endogenně tepelným zpracováním živočišných a rostlinných tuků, sacharidů a aminokyselin. Jako elektrofil tvoří akrolein adukty s glutathionem a dalšími buněčnými složkami, a je proto cytotoxický. Mutagenita byla prokázána v některých testech *in vitro*. Akrolein tvoří různé DNA adukty *in vivo*, ale pro orální expozici nebyly prokázány mutagenní a rakovinotvorné účinky. Systémové účinky nebyly ze základních studií hlášeny (Abraham et al. 2011). Pracovní skupina WHO stanovila přijatelný orální příjem akroleinu 7,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti/den. Expozici akroleinu z potravin je jen těžké posoudit kvůli analytickým obtížím a nedostatku spolehlivých měření obsahu. Biomonitorování lidského metabolitu akroleinu v moči umožňuje hrubé odhady expozice akroleinu v rozmezí několika  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti/den. Vysoká expozice by mohla být po konzumaci určitých potravin desetkrát vyšší. Přestože je odhad expozice akroleinu přijatého stravou spojen s nejistotami, dochází k závěru, že zdravotní riziko se zdá být nepravděpodobné (Abraham et al. 2011). Smažení potravin v domácnosti může být příčinou znečištění vnitřního prostředí domácnosti kvůli tvorbě akroleinu. Osório a de Lourdes Cardeal

(2011) studovali emise akroleinu vznikajícího při smažení hranolek v sójových, kukuřičných, řepkových, slunečnicových a palmových olejích při 170 °C. Výsledky ukázaly, že ke změnám koncentrace akroleinu došlo po smažení brambor na různých typech oleje a v různých cyklech smažení. Brambory smažené na sójovém oleji obsahovaly nejnižší koncentraci akroleinu. Tkaničkové (Shoestring) hranolky obsahovaly nižší koncentraci akroleinu než bramborové lupínky a hranolky, kvůli vyššímu poměru povrch/objem. Akrolein v rostlinných olejích se může tvořit z polyenových mastných kyselin, zejména linolenové kyseliny, ale ne z glycerolového hlavního řetězce v triacylglycerolech. Mezi hladinou akroleinu a linolenové kyseliny (18:3 n-3) v rostlinných olejích byla dobrá korelace (Endo et al. 2013).

Malondialdehyd (MDA), peroxidační produkt olejů, je považován za toxický. MDA může reagovat s lysinovými, argininovými nebo histidinovými zbytky prostřednictvím  $\epsilon$ -aminu a N-koncového aminu proteinů, což vede k tvorbě aduktů Schiffovy báze (Tsikas, 2017; Sottero et al. 2019). MDA je tedy považován za cytotoxickou, neurotoxickou a mutagenní látku. Ačkoli podrobné limity MDA nebyly oficiálně zveřejněny, vědecký výbor Evropského úřadu pro bezpečnost potravin navrhl úroveň expozice MDA 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tělesné hmotnosti na den, určující práh toxikologického rizika (Papastergiadis et al. 2014). Analýza Ma et al. (2019) odhalila, že tvorba MDA úzce souvisí s teplotou ohřevu, obzvláště když překračuje 180 °C. Studie Ma et al. (2021) zkoumala tvorbu MDA ve čtyřech rostlinných olejích během smažení hranolek (FF) a masa z kuřecích prsou (FCBM) při 180 °C po dobu 7 hodin. Výsledky ukázaly, že obsah MDA byl nižší v olejích používaných ke smažení potravin než v kontrolních olejích, a to hlavně proto, že se MDA začleňuje do potravin. Obsah MDA byl nižší v FF, ale vyšší v FCBM, kvůli různým složkám potravin. Analýzy modelového systému oleje a potravin přinesly podobné výsledky. MDA se vázal na hydrofobní šroubovicovou strukturu na bázi škrobu ve FF, ale vykazoval větší reaktivitu k nukleofilním skupinám na bázi proteinů v FCBM, což vedlo k silnější interakci s FCBM než s FF. Výsledky naznačily existenci odlišných mechanismů, které jsou základem migrace MDA do různých potravinových matric (Ma et al. 2021).

Estery 3-monochlorpropan-1,2-diolu (3-MCPD) a glycidyl estery (GE) jsou tepelně indukované kontaminanty, které se tvoří během procesu rafinace oleje, zejména ve vysokoteplotním deodorizačním stupni (Wong et al. 2020). Volná forma MCPD a glycidolu se uvolňuje z jejich mateřských esterů hydrolýzou lipáz; jedná se o genotoxický karcinogen (Goh et al. 2021). Když se prodloužila doba smažení, obsah esterů 3-MCPD se významně zvýšil,

zatímco obsah GE se významně snížil. Vysoká teplota způsobila v hranolcích vysoké hladiny 3-MCPD esterů, ale nízké hladiny GE (Wong et al. 2020).

## **1.2 Interakce smažené potraviny a smažicího média**

### **1.2.1 Faktory ovlivňující kvalitu oleje během smažení ve vysoké vrstvě**

Rychlost výměny oleje, doba a teplota smažení, složení oleje na smažení, počáteční kvalita oleje, složení smaženého pokrmu, typ fritézy, antioxidanty a obsah kyslíku ovlivňují kvalitu oleje během smažení ve vysoké vrstvě. Účinky některých faktorů na kvalitu oleje na smažení jsou někdy uváděny odlišně (nebo i opačně), kvůli použití různých analytických metod pro stanovení kvality a různých experimentálních podmínek (Bordin et al. 2013).

#### **1.2.1.1 Doba a teplota smažení**

Doba smažení zvyšuje obsah volných mastných kyselin (Mazza & Qi 1992), polárních sloučenin, jako jsou např. oxidované triacylglyceroly (Romero et al. 1998; Xua et al. 1999), dimery (Gordon & Kouřimská 1995) a polymery (Tompkins & Perkins 2000). Prvních 20 smažení vede k rychlé tvorbě polárních sloučenin. Na druhou stranu, po 30. smažení nebyl zaznamenán žádný významný nárůst obsahu polárních sloučenin ( $p > 0,05$ ) (Choe & Min 2007).

Vysoká teplota smažení urychluje tepelnou oxidaci a polymeraci olejů (Tyagi & Vasishta 1996). Sójový olej obsahoval 3,09 % konjugovaných dienů a 1,68 % *trans*-nenasycených mastných kyselin po 70hodinovém smažení bramborových lupínků při 170 °C. Nicméně sójový olej, který byl podroben stejnému smažení, ale při 190 °C obsahoval 4,39 % konjugovaných dienů a 2,60 % *trans*-nenasycených mastných kyselin (Tyagi & Vasishta 1996). Při vysoké teplotě smažení dochází ke snížení množství polymerů s peroxidovou vazbou a naopak se zvyšuje množství polymerů s etherovou vazbou nebo vazbou uhlík–uhlík (Choe & Min 2007).

Přerušované zahřívání a chlazení olejů způsobuje větší zhoršení kvality olejů než kontinuální zahřívání díky zvýšení rozpustnosti kyslíku v oleji, když se olej ochladí (Choe & Min 2007). Ve slunečnicovém oleji došlo ke ztrátě 25 % linolové kyseliny při přerušovaném smažení, zatímco při kontinuálním smažení táto ztráta činila pouze 5 % (Peers & Swoboda 1982). Aby mohli porovnat úroveň degradace podzemnicového (arašídového) oleje, provedli Das et al. (2011) pokus, kde probíhalo souvislé smažení po dobu 8 hodin a přerušované smažení probíhalo 2 hodiny denně po dobu 4 dnů, celkem 8 hodin smažení. Mezi zkoumanými parametry byla hodnota peroxidového čísla, hodnota p-anisidinového čísla, množství dienů,



obsah oxidovaných mastných kyselin a viskozita. Bylo zjištěno, že tyto hodnoty jsou po 8 hodinách vyšší u přerušovaného smažení. Parametry, jako jsou jodové číslo, obsah nenasycených mastných kyselin, číslo zmydelnění a bod zakouření se díky přerušovanému smažení výrazně snížily ( $P < 0,5$ ).

### 1.2.1.2 Vliv složení smažené potraviny

Vlhkost v potravinách vytváří nad olejem pokrývku páry a snižuje kontakt se vzduchem (Dana et al. 2003; Landers & Rathmann 1981; Peers & Swoboda 1982). Obsah vody v potravinách ovlivňuje hydrolyzu oleje. Čím vyšší je obsah vlhkosti v potravinách, tím vyšší je hydrolyza oleje. Lecitin (fosfatidylcholin) ze smažených potravin způsobuje tvorbu pěny v počáteční fázi smažení ve vysoké vrstvě (Stevenson et al. 1984). Fosfatidylcholin snížil oxidaci lososového oleje při 180 °C po dobu 3 hodin. Přidání sójového lecitinu k extraktům (odpadu) z výroby olivového oleje zlepšilo antioxidační aktivitu (a oxidační stabilitu) slunečnicového oleje více než extrakty samotné (Günel-Köroğlu et al. 2019). Škrob zvyšoval degradaci oleje a aminokyseliny naopak chrání olej před degradací během smažení ve vysoké vrstvě. Přechodné kovy, jako je železo, které je přítomno v mase, se během smažení hromadí v oleji, a to zvýšilo rychlost oxidace a tepelné degradace oleje (Choe & Min 2007).

Špenátový prášek v 5%, 15% nebo 25% koncentraci v moučném těstě (stočeném na plátky o tloušťce 0,1 cm a nakrájeném) snížil tvorbu polárních sloučenin v sójovém oleji během smažení ve vysoké vrstvě při 160 °C (Lee et al. 2002). Přidání extraktu z červeného ženšenu do těsta z mouky v 1% a 3% koncentraci snížilo tvorbu volných mastných kyselin, konjugovaných dienových kyselin a aldehydů v palmovém oleji během smažení těsta při 160 °C (Choe & Min 2007). Přidání mrkvového prášku do těsta v 10%, 20%, nebo 30% koncentraci významně snížilo ( $p < 0,05$ ) oxidační stabilitu sójového oleje během smažení (Lee et al. 2006).

Pyrofosfát sodný inhiboval po smažení hranolek jejich ztmavnutí a snížil tvorbu volných mastných kyselin v ztuženém řepkovém oleji během 12 až 72 hodin smažení. Octan vápenatý měl pouze malý vliv na tvorbu volných mastných kyselin v oleji během smažení ve vysoké vrstvě (Mazza & Qi 1992).

Aplikace jedlého filmu na potraviny před smažením snižuje degradaci oleje během smažení ve vysoké vrstvě. Holownia et al. (2000) uvádí, že povlak z hydroxypropylmethylcelulózy na smažených kuřecích stripsech snížil tvorbu volných mastných kyselin v arašídovém oleji během smažení ve vysoké vrstvě.

### 1.2.1.3 Kvalita smažicího média

Volné mastné kyseliny zvyšují tepelnou oxidaci olejů, a jejich nenasycení spíše než délka řetězce vedly k významným účinkům na termooxidační rozklad (Frega et al. 1999). Stevenson et al. (1984) a Warner et al. (1994) uvádí, že rychlost oxidace oleje se zvyšuje se zvyšujícím se obsahem nenasycených mastných kyselin v oleji na smažení. To vysvětluje, proč je kukuřičný olej s méně nenasycenými mastnými kyselinami lepší olej na smažení než sójový nebo řepkový olej s více nenasycenými mastnými kyselinami (Warner & Nelsen 1996). Obsah linolenové kyseliny je kritický pro stabilitu oleje a kvalitu chuti smaženého jídla (Xin-Qing Xua et al. 1999).

Celkový obsah polárních sloučenin slunečnicového oleje (C16:0, 5,3 %; C18:0, 4,8 %; C18:1, 55,4 %; C18:2, 32,4 %) a řepkového oleje s vysokým obsahem linolenové kyseliny (C16:0, 4,1%; C18:0, 2,2%; C18:1, 69,3 %; C18:2, 13,8 %; C18:3, 6,8 %) po 80-h smažení při 190 °C byl 44,6 %, respektive 47,5 % (Xin-Qing Xua et al. 1999). V řepkovém oleji s nízkým obsahem linolenové kyseliny (2,5 %) se tvořilo méně volných mastných kyselin a méně polárních sloučenin během smažení bramborových lupínků ve vysoké vrstvě při 190 °C (Xin-Qing Xua et al. 1999).

Hydrogenace a genetická modifikace olejnin představují dva procesy vedoucí ke snížení obsahu nenasycených mastných kyselin v oleji na smažení. Hydrogenace zvyšuje stabilitu oleje při smažení (Warner & Knowlton 1997). Při hydrogenaci však dochází ke vzniku *trans*-nenasycených mastných kyselin nebo kovové pachuti, a navíc tento proces zhoršuje kvalitu oleje s nízkým obsahem linolenové kyseliny (Warner & Mounts 1993). V dnešní moderní době je však snaha tvorbu *trans*-nenasycených mastných kyselin během výroby ztužených tuků minimalizovat a to modifikací hydrogenačního procesu, použitím interesterifikace, použitím frakcí s vysokým obsahem pevných látek z přírodních zdrojů či použitím olejů se zlepšenými vlastnostmi – oleje s vysokým obsahem olejové kyseliny, oleje s nízkým obsahem linolenové kyseliny apod. (Dhaka et al. 2011).

Hydrogenovaný sójový olej s 0,1 % linolenové kyseliny byl více hydrolyticky degradovaný, ale měl nižší hodnoty p-anisidinového čísla a méně polymerů, než sójový olej s 2,3 % linolenové kyseliny (Tompkins & Perkins 2000). Geneticky modifikovaný kukuřičný olej s vysokým obsahem olejové kyseliny měl lepší stabilitu při smažení než běžný kukuřičný olej (Warner & Knowlton 1997). Proto byl geneticky modifikovaný olej s nízkým obsahem

linolenové kyseliny navrhován jako potenciální alternativa k hydrogenovanému oleji na smažení. Smícháním několika olejů s různým složením mastných kyselin můžeme změnit složení olejů (Shiota et al. 1999, Mamat et al. 2005) a snížit tak oxidaci olejů během smažení ve vysoké vrstvě.

Volné mastné kyseliny při smažení oleje urychlily tepelnou oxidaci oleje (Miyashita & Takagi 1986; Mistry & Min 1987; Frega et al. 1999). Filtrování oleje s adsorbenty (směs 2% vápenaté látky „pekmez earth (75.84% CaCO<sub>3</sub>)“, 3% bentonitu a 3% křemičitanu hořečnatého) snížilo obsah volných mastných kyselin, dienu a zlepšilo kvalitu oleje. Filtrační proces snížil obsah volných mastných kyselin a konjugovaných dienových kyselin ve slunečnicovém oleji během smažení brambor při 170 °C a zvýšil tvorbu aldehydových sloučenin (Maskan & Bağcı 2003). Každodenní filtrační ošetření (směs Hubesorb 600 na bázi křemičitanu vápenatého, magnezolu na bázi křemičitanu hořečnatého a ryolitu a prášku na smažení na bázi kyseliny citronové) řepkového oleje snížilo tvorbu volných mastných kyselin a polárních sloučenin a zlepšilo kvalitu smažicího oleje (Bheemreddy et al. 2002). Stevenson et al. (1984) uvedli, že je žádoucí, aby oleje na smažení ve vysoké vrstvě měly méně než 0,05 % volných mastných kyselin a 1,0 meq peroxidů v 1 kg oleje.

#### **1.2.1.4 Doplnování oleje**

Vysoký poměr čerstvého oleje k celkovému oleji zajišťuje lepší kvalitu oleje na smažení (Paul et al. 1997). Častým doplňováním čerstvého oleje klesá tvorba polárních sloučenin, diacylglycerolů a volných mastných kyselin a zvyšuje se životnost a kvalita olejů (Romero et al. 1998). Sanchez-Muniz et al. (1993) uvedli, že doplnění čerstvým olejem zlepšilo kvalitu oleje na smažení pouze po 30. smažení. Častá výměna oleje způsobila při smažení brambor ve vysoké vrstvě více oxidačních než hydrolytických reakcí (Choe & Min 2007). Doporučené denní doplnění čerstvého oleje je 15 až 25 % kapacity fritézy a vysoký obrat může snížit potřebu použití odpěňovačů, jako jsou silikony (Stevenson et al. 1984).

#### **1.2.1.5 Typ fritézy**

Typ fritézy ovlivňuje stabilitu oleje na smažení. Rovnoměrný a rychlý přenos tepla do oleje může zabránit vzniku horkých míst a přepálení oleje. Polymerizovaný tuk usazený na fritéze způsobuje tvorbu gum, tvorbu pěny, ztmavnutí barvy a další zhoršení kvality oleje na smažení. Malý poměr povrchu k objemu fritézy se doporučuje pro smažení ve vysoké vrstvě

pro minimální kontakt oleje se vzduchem (Negishi et al. 2003). Závisí rovněž na použitém materiálu fritézy. Měděná nebo železná fritéza urychluje oxidaci smažicího oleje (Choe & Min 2007).

### **1.3 Využití přírodních antioxidantů při smažení potravin**

Existuje celá řada přírodních antioxidantů, které lze extrahovat z levných zdrojů, jako jsou většina částí olivovníku, zeleného čaje, sezamu, léčivých rostlin a mnoha dalších (Taghvaei & Jafari 2015). Mezi nejčastěji testované antioxidanty patří tokoferoly, karotenoidy, askorbová kyselina a její deriváty, lignanové sloučeniny, flavonoidy, polyfenoly a fenolové kyseliny či kombinace těchto antioxidantů, protože oxidace probíhá různými cestami, je ovlivněna vnějšími (světlo a teplota) a vnitřními (stupeň nasycení, volné mastné kyseliny, fosfolipidy, pigmenty atd.) faktory. Jeden antioxidant jen málo kdy splňuje požadavky, které se na tyto látky kladou. Vzhledem k obrovské rozmanitosti složení různých olejů a jejich rozdílnému stupni oxidační stability je nutné nalézt antioxidanty, které by mohly zvýšit oxidační stabilitu za každých okolností (Mishra et al. 2021).

#### **1.3.1 Mechanismus inhibice oxidace lipidů biologicky aktivními látkami z přírodních zdrojů antioxidantů**

Antioxidanty zvyšují oxidační stabilitu zhasením volných radikálů a reaktivních forem kyslíku, inaktivací peroxidů, chelatací kovových iontů, redukcí produktů sekundární oxidace a inhibicí prooxidačních enzymů. Antioxidanty vykazují inhibiční účinek proti oxidaci prostřednictvím různých mechanismů a s různou rychlostí. Na základě způsobu účinku mohou být antioxidanty rozděleny na primární a sekundární. Primární antioxidanty mohou neutralizovat volné radikály darováním atomu vodíku lipidovým alkylovým radikálům a také zachytit lipidové peroxylové radikály, což naruší řetězovou reakci oxidace. Sekundární antioxidanty zabraňují nebo zpomalují oxidaci potlačením promotorů oxidace, včetně kovových iontů a singletového kyslíku, prooxidačních enzymů a dalších oxidantů (Shahidi & Zhong 2010).

#### **1.3.2 Použití přírodních antioxidantů pro smažení a skladování**

U jedlých olejů by měl být antioxidant účinný při nízkých koncentracích, neměl by měnit barvu a chuť oleje a neměl by pro spotřebitele vykazovat žádnou toxicitu (Mishra et al. 2021).

Přirozeně přítomné nebo přidané antioxidanty v olejích a potravinách ovlivňují kvalitu oleje během fritování. Tokoferoly, syntetické antioxidanty jako jsou butylhydroxyanizol (BHA), butylhydroxytoluen (BHT), propylgalát (PG) a terc-butylhydrochinon (TBHQ) zpomalují oxidaci oleje při pokojové teplotě. Stávají se však méně účinnými při smažicích teplotách v důsledku ztrát způsobených těkáním nebo rozkladem (Choe & Min 2007). Tyagi a Vasishtha (1996) uvedli neúčinnost 0,01% BHA a TBHQ během smažení bramborových lupínků na sójovém oleji. Vzhledem k obavám o bezpečnost BHA, BHT a TBHQ probíhá neustálá snaha najít jejich efektivní a bezpečnou náhradu (Mishra et al. 2021). Bylo zjištěno, že celá řada přírodních antioxidantů (tokoferoly, flavonoidy, fenolové kyseliny, polyfenoly, karotenoidy, lignanové sloučeniny a deriváty askorbové kyseliny) má protizánětlivé, protinádorové a antiaterosklerotické účinky. Snížení výskytu kardiovaskulárních onemocnění a udržení střevního zdraví modulací střevní mikrobioty je dalším benefitem při příjmu těchto přírodních antioxidantů (Oroian & Escriche 2015). Přírodní antioxidanty a jejich deriváty tedy kromě zvýšení oxidační stability mohou spotřebitelům jedlých olejů poskytnout zdravotní výhody (Mishra et al. 2021).

### 1.3.2.1 Tokoferoly

Většina jedlých olejů rostlinného původu obsahuje tokoferoly. Jejich obsah se liší v závislosti na druhu oleje a významná koncentrace (až 2030 mg/kg) se nachází právě v jedlých olejích rostlinného původu (San Andres et al. 2011). Obsah tokoferolů se snižuje během procesu rafinace (Kennedy & Liebler 1992) a celkový obsah tokoferolů v rafinovaném oleji bývá v rozmezí 10–50 mg/kg (Lee & Min 1988). Na začátku oxidační řetězové reakce v olejích (v důsledku autoxidace) soutěží tokoferoly s nenasycenými mastnými kyselinami o lipidové peroxylové radikály, přenášejí atom vodíku na peroxylový radikál a zachytávají jej, čímž snižují reakční rychlost (Mishra et al. 2021). Izomerní formy tokoferolů a jejich koncentrace určují antioxidantní účinnost. Největší schopnost zachycovat volné radikály v oleji má  $\alpha$ -tokoferol, následuje  $\beta$ -,  $\gamma$ - a nakonec  $\delta$ -tokoferol (Marinova et al. 2008).

Tokoferoly vykazují oxidační stabilitu pouze při optimálních koncentracích a ta se liší u každého izomeru.  $\alpha$ -tokoferol,  $\gamma$ -tokoferol a  $\delta$ -tokoferol vykazovaly maximální oxidační stabilitu při 100, 250 a 500 ppm, v sójovém oleji skladovaném při 55 °C ve tmě (Jung & Min 1990).  $\alpha$ -tokoferol je při nižších koncentracích ze všech tokoferolů nejúčinnější, proto je předmětem celé řady výzkumů (Mishra et al. 2021; Hrebień-Filisińska 2021). Panuje obecná

představa, že tokoferoly působí ve vyšších koncentracích jako prooxidanty mechanismem nazývaným tokoferolem zprostředkovaná peroxidace (Jung & Min 1990; Jung et al. 2014). Oxidované tokoferoly navíc vykazují zvýšenou prooxidační aktivitu v olejích (Martin-Rubio et al. 2017). Tokoferoly tedy nejsou prooxidanty, ale působí jako synergisté prooxidantů, pokud jsou přítomny ve vysokých koncentracích společně s prooxidanty jako jsou přechodné kovy, lipidové hydroperoxydy a vlhkost. Když byl  $\alpha$ -tokoferol v oleji hlavním z homologů, vykazoval při vysokých koncentracích prooxidační účinek. V nízké koncentraci však působí jako antioxidant. Na základě toho lze usoudit, že optimální množství je pro každý homolog tokoferolu odlišné. Při koncentraci přibližně 100 mg/kg vykazuje  $\alpha$ -tokoferol nejvyšší antioxidační účinek v rafinovaných olejích. V přítomnosti známých prooxidantů, jako jsou vlhkost, kovové ionty a lipidové hydroperoxydy, vykazuje  $\alpha$ -tokoferol prooxidační chování i při nižších koncentracích (Mishra et al. 2021).

### 1.3.2.2 Karotenoidy

Karotenoidy jsou izoprenoidy se 40 uhlíky, které se skládají z více než 650 typů nacházejících se v přírodě jako žluté, oranžové a červené pigmenty. Jsou rozpustné v tucích a po přidání do oleje dodávají barvu.  $\beta$ -karoten, lutein, zeaxanthin, lykopen, astaxanthin a kanthaxanthin jsou těmi nejvýznamnějšími, u nichž bylo zjištěno, že hrají zásadní roli v lidském zdraví, a jsou vyráběny v průmyslovém měřítku pro fortifikaci potravin (Eggersdorfer & Wyss 2018).  $\beta$ -karoten se nachází téměř ve všech rostlinných olejích (Zeb 2011). Většina karotenoidů je však eliminována během několika fází rafinace, včetně odsazení a odkyselení (Chandrasekar et al. 2016).

Bylo zjištěno, že karotenoidy zpomalují oxidaci oleje absorpcí světla určitých vlnových délek, zhášením singletového kyslíku, inaktivací fotosenzibilizátoru a vychytáváním volných radikálů (Choe & Min 2006). Obecně lze karotenoidy použít jako antioxidanty v relativně čistém oleji, aby se zvýšila oxidační stabilita během skladování na světle v nepřítomnosti kyslíku. Protože většina z nich jsou barevné sloučeniny, jejich přidání do oleje změní barvu oleje. Pokud je olej bez většího množství známých prooxidantů, 20 ppm  $\beta$ -karotenu může účinně zvýšit oxidační stabilitu za světla za nepřítomnosti vzduchu (Mishra et al. 2021).

Tokotrienoly regenerují karotenoidy z karotenových radikálů. Kombinace tokotrienolů a karotenoidů synergicky snižovala oxidaci oleje při smažení bramborových lupínků při 163 °C (Schroeder et al. 2006).

### 1.3.2.3 Askorbová kyselina a její deriváty

Askorbová kyselina (vitamin C) je hydrofilní antioxidant, o kterém je známo, že zháší různé formy kyslíku, neutralizuje volné radikály a regeneruje primární antioxidanty (Shahidi & Zhong 2010). Díky nízké rozpustnosti v tuku však není vhodným antioxidantem pro jedlé tuky a oleje. V olejích se tedy zkoumají především její estery a porovnává se jejich účinek s askorbovou kyselinou. Pozitivní korelace mezi molární koncentrací a antioxidačním účinkem byla zjištěna v případě askorbové kyseliny i acyl-L-askorbátů. Acyl-L-askorbáty si vedou lépe ve srovnání s askorbovou kyselinou ve většině studovaných olejů. V jedné studii na tom byly askorbyl palmitát a askorbyl stearát hůře pouze oproti TBHQ a 2,5-di-terc-butylhydrochinon a vykazovaly vynikající oxidační stabilitu ve srovnání se všemi ostatními antioxidanty (BHT, propylgalát, tokoferoly, aj.) v nerafinovaném lněném oleji s vysokým obsahem n-3 mastných kyselin v koncentraci 400 ppm (Shadyro et al. 2017). Navíc má askorbyl palmitát schopnost snížit obsah dimerů v oleji během smažení ve vysoké vrstvě (Gordon & Kouřimská 1995).

### 1.3.2.4 Lignanové sloučeniny

Sezamový olej je mezi všemi jedlými oleji znám svou oxidační stabilitou a jeho rychlost autoxidace při 60 °C byla mnohem nižší než u kukuřičného oleje, oleje ze světlice barvířské a směsi ze sójového a řepkového oleje (Fukuda et al. 1986). Právě lignanové sloučeniny nacházející se v sezamovém oleji (sesamin, sesamol, sesamolin, sesaminol a sesamolinol) jsou odpovědné za zvýšenou oxidační stabilitu. Účinnost sesamolu při zajišťování oxidační stability čistěného rybiho oleje bohatého n-3 PUFA při dvou různých skladovacích teplotách (30 a 50 °C) zkoumal Fhaner et al. (2016). Byla zkoumána účinnost 0,84mM sesamolu a porovnána s 0,84mM BHT (což odpovídá 200 ppm, přípustné horní hranici). Účinek 0,84mM sesamolu byl srovnatelný až do 8 dnů skladování při 30 °C a jeho účinek byl horší než BHT po 14 dnech skladování. Fhaner et al. (2016) došli k závěru, že sesamol při koncentraci 8,4 mM/l snižuje velmi dobře hodnoty peroxidového čísla, těkavých látek a potlačuje destrukci EPA a DHA.

Lignanové sloučeniny v sezamovém oleji, sesamol, sesamin a sesamolin jsou během zahřívání stabilní a přispívají k vysoké oxidační stabilitě praženého sezamového oleje při zahřívání na 170 °C (Kim & Choe 2004). Směs sójového oleje se sezamovým olejem s pražených semen vedla ke snížení tvorby konjugovaných dienových kyselin více než sójový olej samotný při smažení na 160 °C (Chung et al., 2006). Se zvyšujícím se obsahem

sezamového oleje ve směsi se snížila tvorba konjugovaných dienů, pravděpodobně díky antioxidantům v sezamovém oleji. Přidání sezamového oleje a oleje z rýžových otrub zlepšilo oxidační a chuťovou stabilitu slunečnicového oleje s vysokým obsahem olejové kyseliny (Choe & Min 2007).

### **1.3.3 Vliv aplikace přírodních antioxidantů na nutriční a senzorické změny smažené potraviny i média**

Extrakt z rozmarýnu byl rozsáhle studován a schválen v Evropské unii, Číně a Japonsku bez jakékoli přípustné hodnoty denního příjmu (Carocho et al. 2018). Extrakt z rozmarýnu se však používá v jedlých olejích jen zřídka (kromě olivového), a to kvůli jeho charakteristickému chuťovému profilu. V současné době se ale využívá zejména v technologii masných výrobků.

Změny v antioxidační kapacitě, celkovém obsahu fenolových látek, hodnotě peroxidového čísla, složení mastných kyselin a obsahu tokoferolu byly měřeny Schaalovým testem při 62 °C. Indukční perioda (IP) olejů (sójového, rýžového a bavlníkového oleje) s rozmarýnovým extraktem byla významně ( $p < 0,05$ ) vyšší než u kontrolních olejů bez antioxidantů a olejů se syntetickými antioxidanty. Přidání extraktu z rozmarýnu do olejů účinně zvýšilo antioxidační kapacitu olejů a celkový obsah fenolových látek, snížilo hodnotu peroxidového čísla a oddálilo degradaci tokoferolů a polyenových mastných kyselin olejů (Yang et al. 2016). Přidání extraktu z rozmarýnu do sójového oleje zvýšilo oxidační stabilitu a mělo za následek snížení tvorby celkového množství polárních sloučenin a zvýšilo retenci tokoferolů při zahřátí na 180 °C po dobu 20 h. Extrakt z rozmarýnu vykazoval vyšší antioxidační potenciál ve srovnání s TBHQ (Casarotti & Jorge 2014). Účinek extraktu z rozmarýnu na stabilitu oleje na smažení během tepelného zpracování a na senzorickou kvalitu smažených brambor byl zkoumán Chammem et al. (2015). Směs sójového a slunečnicového oleje ve stejných poměrech a obsahující 0,08 % extraktu z rozmarýnu byla hodnocena na termoxidaci při 180 °C po dobu 30 hodin. Toto hodnocení bylo prováděno proti olejové směsi bez antioxidantu. Výsledky ukázaly významný rozdíl ( $p < 0,05$ ) mezi oleji ve všech měřených parametrech (kyselost, peroxidové číslo, DPPH, aj.), zejména po 30 h.

Smíchání sójového oleje s různými koncentracemi extraktu ze zeleného čaje vedlo ke zvýšení jeho stability proti oxidaci při smažení ve vysoké vrstvě při  $180 \pm 5$  °C. Sójový olej obsahující 800 a 1 000 ppm extraktu ze zeleného čaje vykazoval nižší změny ve fyzikálně-chemických parametrech než kontrolní vzorek. Jako parametry pro hodnocení účinnosti čajových extraktů při stabilizaci sójového oleje bylo měřeno číslo kyselosti (AV), peroxidové



číslo (PV), anisidinové číslo (AV), hodnota totox (TxV) a mastné kyseliny (FA) (El-Anany 2013). V práci Prabsangob et Benjakul (2019) byl studován vliv (–)-epigalokatechin galátu (EGCG) a (–)-epikatechinu (EC) v různých koncentracích (100–300 ppm) na stabilitu směsi sójového oleje a oleje z čajových semen při smažení. Tepelná stabilita směsi olejů se zvýšila přidáním EGCG a EC, zejména se zvyšujícími se koncentracemi. Smažení vyvolalo v olejích degradaci tokoferolů a fenolových sloučenin. Přidání derivátů katechinu by mohlo zpomalit rozklad tokoferolů a tvorbu polárních sloučenin. Nejvyšší stabilita při smažení byla zjištěna u oleje s přídavkem EC v koncentraci 300 ppm. Když byl olej s přídavkem EC (300 ppm) použit k přípravě rybích krekrů, byla po dobu 12 týdnů skladování zaznamenána nižší oxidace lipidů výsledných krekrů v porovnání s těmi, které byly připraveny za použití kontrolního oleje. EC by mohl být účinně použit jako přírodní antioxidant v oleji na smažení za účelem zvýšení oxidační stability smažených potravin během skladování (Prabsangob & Benjakul 2019).

Olej na smažení obohacený o 0,05 až 4,32 g rostlinných extraktů (přírodní extrakt ze zeleného čaje, lykopen, resveratrol a  $\gamma$ -oryzanol) vykazoval preventivní účinky proti termoxidační degradaci a smažené těsto mělo i požadované senzorycké vlastnosti. Rozsahy měření ve skupinách ošetřených extrakty byly následující: obsah volných mastných kyselin 0,1–2,9 g kyseliny olejové na 100 g oleje, konjugované dieny 0,01–0,40 g na 100 g oleje, celkový obsah polárních látek 8,8–73,8 g na 100 g oleje, celkové fenoly 0,1–4,2 mg ekvivalentu kyseliny gallové na 100 g oleje a antioxidační kapacita 0,5–11,0 mM ekvivalentu Troloxu na 100 g oleje. Zastoupení mastných kyselin a sterolů naznačovaly, že doplňování antioxidantů by mohlo zpomalit oxidační degradaci nenasycených mastných kyselin a omezit tvorbu *trans*-kyselin. Obzvlášť dobré výsledky měl purifikovaný extrakt  $\gamma$ -oryzanolu. Kvalita ochrany oleje byla v sestupném pořadí: purifikovaný  $\gamma$ -oryzanol, extrakt ze zeleného čaje a purifikovaný lykopen (Aydeniz & Yilmaz 2016).

## **1.4 Polynenasycené esenciální mastné kyseliny**

### **1.4.1 Zástupci PUFA s dlouhým řetězcem a jejich význam ve výživě**

Polyenové mastné kyseliny řady  $n-3$  ( $n-3$  PUFA či  $\omega-3$  mastné kyseliny) jsou nenasycené mastné kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami, které mají svou první dvojnou vazbu ve třetí poloze, počítáno od methylového konce molekuly. Nejjednodušší  $n-3$  PUFA je  $\alpha$ -linolenová kyselina. Tato mastná kyselina má 18 uhlíků a tři dvojně vazby (18:3  $n-3$ ) a její syntéza, stejně jako syntéza dalších  $n-3$  PUFA z  $n-6$  mastných kyselin, vyžaduje přítomnost

enzymu  $\Delta 15$ -desaturázy. Lidem však tento enzym chybí, a proto potřebují zajistit dostatečný příjem n-3 PUFA ze stravy, například konzumací řepkového, sójového nebo lněného oleje, vlašských ořechů a některých semen.  $\alpha$ -Linolenovou kyselinu (ALA) lze však v lidském těle převést na n-3 PUFA s delším řetězcem (LC). Rozsah této konverze není přesně znám a v nejlepším případě je velmi omezený. V průměru je pouze 1-10 % ALA přeměněno na EPA a 0,5-5 % na DHA (Goyens et al. 2005; Plourde & Cunnane 2007). Většina LC n-3 PUFA musí tedy také být získána ze stravy. Hlavními mastnými kyselinami jsou eikosapentaenová kyselina (EPA; C20:5 n-3) a dokosahexaenová kyselina (DHA; C22:6 n-3). Metabolismus n-3 a n-6 mastných kyselin je propojen, protože jejich metabolické dráhy soutěží o stejné enzymy (desaturázy a elongázy). Následné metabolismy linolové a  $\alpha$ -linolenové kyseliny, produkující LC deriváty jako arachidonová kyselina (AA; 20:4 n-6), EPA (20:5 n-3) a DHA (22:6 n-3), se navzájem ovlivňují (de Roos et al. 2009).

Polyenové mastné kyseliny s dlouhým řetězcem n-3 (LC n-3 PUFA) jsou považovány za prospěšné pro lidské zdraví. Klinické studie prokázaly, že jejich konzumace, zejména EPA a DHA, snižuje riziko chronických onemocnění (Srigley & Rader 2014). Kromě toho je známo, že EPA a DHA mohou upravovat kardiometabolické rizikové faktory (Schram et al. 2007; Allaire et al. 2017), mají příznivé účinky na imunitní systém, neurodegenerativní poruchy, některé druhy nádorových onemocnění (Bispo et al. 2014; Schram et al. 2007), a také účinně snižují příznaky související s depresí (Schram et al. 2007; Ginty & Conklin 2015). DHA je navíc nezbytná pro vývoj mozku, nervového systému savců, vývoj očí u plodu a kojenců (Kolanowski et al. 2007).

#### **1.4.2 Zdroje LC n-3 PUFA**

EPA a DHA se téměř výhradně nacházejí v mořských produktech, přičemž rybí tuk je hlavním zdrojem těchto sloučenin (Kris-Etherton et al. 2000; Gebauer et al. 2006). Výživová doporučení doporučují konzumaci potravin bohatých na omega-3, včetně ryb, alespoň dvakrát týdně. Někteří příslušníci lidské populace však ryby nejedí vůbec, především kvůli chuťovým preferencím, ale také z etických či náboženských důvodů. Pro tyto jedince může být alternativou suplementace oleji z vodních organismů bohatých na EPA a DHA (Hrebien-Filisińska 2021). Kromě toho mohou ryby hromadit toxické sloučeniny představující pro člověka zdravotní riziko, a které tedy mohou působit proti prospěšným účinkům konzumace vodních organismů. Zvláště nebezpečné jsou vysoké hladiny polychlorovaných bifenylů (PCB)

a rtuti (Yamaguchi et al. 2003; Carlson & Hites 2005). Kromě toho jsou rybí oleje v tomto ohledu považovány za bezpečnější než ryby (Foran et al. 2003; Melanson et al. 2005; Lee et al. 2016). Souvisí to s moderními zpracovatelskými technikami, které umožňují získat vysoce čisté oleje s hladinami kontaminantů na hranici detekce (Grosdemange 2010). Protože je doporučené denní dávky omega-3 obtížné získat výhradně dietou (Hamilton et al. 2010), došlo ke zvýšení spotřeby rybího oleje ve formě doplňků stravy. Tyto doplňky obsahují oleje bohaté na EPA a DHA, které pocházejí z ryb, jako jsou sardinky, tuňák a tresčí játra, a také z dalších zdrojů, jako jsou kril a účelově pěstované mikrořasy a prvoci. Doplnky stravy obsahující EPA/DHA lze dále nalézt v různých chemických formách, nejčastěji jako triacylglyceroly (rafinované rybí oleje a koncentráty reesterifikovaných triacylglycerolů), jako ethylestery (koncentrované formy EPA a/nebo DHA), jako směsné oleje, jakož i oleje s významným obsahem fosfolipidů (jako jsou krilové oleje) (Kutzner et al. 2017; Sprague et al. 2018). Konzumace doplňků stravy s mořskými produkty je výhodná, protože množství zkonsumovaných EPA a DHA lze regulovat dodržováním informací o dávkování na etiketě a je považováno za bezpečný a kontrolovaný způsob jejich požití. Nespočet doplňků stravy dostupných na trhu však spotřebitelům ztěžuje výběr spolehlivé možnosti. Tyto doplňky jsou náchylné k falšování kvůli vysoké ceně rybího oleje; dokonce i etikety bývají falšovány, aby nevyjadřovaly skutečné množství omega-3 obsažených v produktu. Správné dávkování EPA a DHA v doplňcích stravy s omega-3 je navíc důležité, zvláště pokud je jejich použití určeno k léčbě nepříznivých zdravotních stavů (Ritter et al. 2013).

#### **1.4.2.1 Kvalita doplňků stravy a její hodnocení**

Kritéria pravosti a kvality potravin přitahují pozornost spotřebitelů a kontrolních orgánů, protože obě jsou základními aspekty lidského zdraví. Kvalita jedlých olejů se běžně hodnotí podle složení mastných kyselin, stopových kovů a kvantifikací produktů oxidace lipidů (Corazza & Tarley 2016). Kromě toho je důležité odhalit falšování potravin, zejména kvůli ochraně zdraví těch, kteří je jedí, ale také vyhodnotit, zda jsou vysoké ceny v souladu s kvalitou, kterou spotřebitel hledá a získává, protože často akceptují placení vyšší částky za organické, 100% přírodní produkty nebo produkty, které mají prokázané přínosy pro zdraví. Vzhledem k technologickému pokroku se však metody falšování stále vyvíjí, takže je nelze snadno odhalit (Galuch et al. 2017).

Obsah omega-3 mastných kyselin uvedený na etiketě a stupeň oxidace jsou aspekty kvality výrobku, které musí být v souladu s platnými předpisy v místě, kde je výrobek uváděn na trh. Obecně lze kvalitu jedlého oleje hodnotit složením mastných kyselin (Corazza & Tarley 2016). Je důležitý celkový obsah EPA a DHA a rovněž jejich poměr, protože tyto mastné kyseliny se liší ve svých biologických funkcích a chovají se v organismu každá jinak (Bispo et al. 2014). V důsledku toho některé biologické mechanismy vyžadují adekvátní poměr EPA:DHA (Bispo et al. 2014). Kromě toho je kontrola spotřeby EPA a DHA důležitá, zejména u specifických skupin, jako jsou lidé s ischemickou chorobou srdeční a osoby se zvýšenou hladinou triacylglycerolů v krvi. Podle American Heart Association by měli lidé z těchto specifických skupin konzumovat denní dávku 1 g, respektive 2–4 g EPA + DHA (Galuch et al. 2017). Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) doporučuje 2 g pro zachování normální hladiny triacylglycerolů a 3 g pro zachování normálního krevního tlaku (Nařízení Komise (EU) 1924/2006 a 432/2012). Typická doporučení Světové zdravotnické organizace jsou (pro běžnou populaci) 0,3–0,5 g/d EPA + DHA (Kris-Etherton et al. 2002), EFSA doporučuje 0,25g EPA a DHA pro zachování normální funkce srdce a 0,25g DHA pro zachování normální funkce mozku a zraku (Nařízení Komise (EU) 1924/2006 a 432/2012).

### **1.4.3 Změny LC n-3 PUFA během jejich skladování**

Oxidace rybího tuku a dalších potravin bohatých na PUFA je vážný problém, který vede ke ztrátě trvanlivosti, přijatelnosti pro spotřebitele, funkčnosti, nutriční hodnoty a bezpečnosti (Arab-Tehrany et al. 2012; Dacaranhe & Terao 2001).

Oxidace vede ke vzniku reaktivních forem kyslíku a volných radikálů, které mohou přispívat ke karcinogenezi, mutagenezi, zánětům, změnám DNA, stárnutí a kardiovaskulárním onemocněním (Roby et al. 2013). Oxidace lipidů vede ke snížení nutriční hodnoty, nežádoucí chuti a tvorbě toxických sloučenin v potravinách. Přítomnost produktů oxidace mastných kyselin v potravinách, zejména aldehydů, se podílí na stárnutí, mutagenezi a karcinogenezi (Kähkönen et al. 1999; Kampa et al. 2007). Toxicita aldehydů, jako je malondialdehyd (MDA) a 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), je dána jejich schopností se vázat na bílkoviny a kovalentně se vázat na nukleové kyseliny (Nair et al. 1986). Cytotoxické a genotoxické účinky vyvolávají zejména sekundární produkty oxidace; jakmile proniknou do oběhového systému, mohou vyvolat změny v metabolismu lipoproteinů a trombocytů (Kołakowska & Bartosz 2014).

Přístup kyslíku a světlu, povrch, zahřívání a ozařování urychlují oxidaci lipidů, snižují stabilitu a trvanlivost produktů obsahujících rybí olej. Nízká oxidační stabilita n-3 PUFA vyžaduje účinnou antioxidační ochranu, aby se zabránilo oxidačnímu poškození a rozvoji pachuti u potravin, které jím byly obohaceny (Jacobsen et al. 2001). Přidání extraktu ze zeleného čaje (GTE) významně zlepšilo oxidační stabilitu oleje bohatého na DHA (DHAO) oddálením tvorby primárních a sekundárních oxidačních produktů a také degradace EPA, DHA a tokoferolů. Naproti tomu přidání  $\alpha$ -tokoferolu zvýšilo tvorbu produktů sekundární oxidace v oleji, a tedy vykazovalo prooxidační účinek. Vyčerpání katechinů odpovídalo zvýšení PV, což naznačuje dominantní roli katechinů při zvyšování oxidační stability DHAO. GTE by tedy mohl sloužit jako alternativní přírodní antioxidant ke zlepšení trvanlivosti DHAO (Nain et al. 2021).

Problematika oxidace n-3 PUFA již byla podrobně rozebrána v kapitole 1.2.2. Oxidace oleje a problematika dalších přírodních antioxidantů pro rybí oleje v kapitole 1.3. Využití přírodních antioxidantů.

## 2 Cíle a hypotézy

Hlavním cílem disertační práce bylo navázat na poslední poznatky ve výzkumu stability olejů jak při tepelné úpravě, tak při skladování, přispět dalšími výsledky do této oblasti výzkumu a vyhodnotit nejvhodnější alternativy pro tepelnou úpravu a nejvhodnější způsoby, jak vysoce nutričně hodnotné oleje skladovat. Proto byla práce zaměřena jak na oleje a tuky nejčastěji používané v teplé či studené kuchyni (řepkový, slunečnicový, rýžový a sádlo), tak i na ty, které se pro své pozitivní účinky a důležitou roli ve fyziologii člověka často používají jako doplňky stravy, ale snadněji podléhají zkáze (rybí oleje, krillový olej, výrobky obohacené o vybrané n-3 PUFA).

### 2.1 Dílčí cíle práce

1. Sledování vlivu profilu mastných kyselin na stabilitu běžně používaných i méně tradičních rostlinných olejů.
2. Stanovení oxidačních a hydrolytických změn lipidů, případně vybraných doprovodných látek lipidů během tepelné úpravy potravin, posouzení změn nutriční, sensorické a hygienické jakosti potravin při jejich kulinárním zpracování.
3. Sledování interakce smažené potraviny a smažicího média a vlivu smažené potraviny na hydrolytické a oxidační změny lipidů ve smažicí lázni.
4. Sledování změn nutričně významných mastných kyselin u lipidů s vysokým obsahem PUFA v průběhu jejich skladování.

### 2.2 Hypotézy

1. Oleje s vyšším obsahem polyenových mastných kyselin mají významně nižší stabilitu vůči žluknutí při jejich skladování.
2. Při tepelné úpravě dochází k narušení stability oleje a snížení jeho nutriční, hygienicko-toxikologické a sensorické jakosti, jakož i jakosti smažené potraviny.
3. Při smažení pokrmů dochází k ovlivnění stability lipidů smaženou potravinou.
4. U potravin nutričně významných z hlediska obsahu n-3 PUFA dochází ke snížení jejich obsahu v průběhu skladování a k jejich znehodnocení (oxidaci).

### 3 Materiál a metody

Téma disertační práce bylo rozděleno do 4 hlavních výzkumných směrů.

#### 3.1 Experiment I: Vliv profilu mastných kyselin na stabilitu netradičních a tradičních rostlinných olejů

##### 3.1.1 Příprava vzorku

Oleje v jednolitrových čirých plastových, nebo barevných skleněných lahvích byly zakoupeny v místních supermarketech. Všechny vzorky byly sensoricky bez známek žluknutí, s dobou trvanlivosti více než 10 měsíců. Testovány byly kukuřičný olej (Olitalia, Forlì, Itálie), olej ze semen hroznů (Olitalia, Forlì, Itálie), olej na fritování – směs řepkového a slunečnicového oleje se zvýšeným obsahem olejové kyseliny (Palma Group, a.s., Bratislava, Slovenská republika), olivový olej z pokrutin (Ondoliva, Španělsko), rýžový olej (Olitalia, Forlì, Itálie), řepkový olej (COP, Izgem, Belgie), slunečnicový olej (Fabio Product s.r.o, Holín, Česká republika), slunečnicový olej se zvýšeným obsahem olejové kyseliny (HO), BIO (Rapunzel Naturkost, Legau, Německo).

##### 3.1.2 Zrychlený oxidační Schaalův test

Do 100ml kádinek (dva paralelní vzorky každého oleje) bylo naváženo ~ 25 g oleje (s přesností na čtyři desetinná místa). Kádinky byly umístěny do termostatu (Binder 2.0, Binder, Německo) nastaveného na 60 °C po dobu 40 dnů. Jedna série vzorků byla pravidelně vážena (2x týdně) a další série stejných vzorků byla pravidelně odebírána (0., 5., 10., 20., 30., 40. den) pro stanovení hodnot peroxidového čísla a čísla kyselosti. Relativní změna hmotnosti byla vypočtena jako rozdíl mezi hmotností vzorku v daný den a jeho hmotností v den nula děleno hmotností vzorku v den 0.

##### 3.1.3 Stanovení peroxidového čísla (PČ) a čísla kyselosti (ČK)

Peroxidové číslo bylo použito ke sledování množství primárních oxidačních produktů. Stanovení je založeno na reakci hydroperoxidů ve vzorku s roztokem jodidu draselného v prostředí octové kyseliny a chloroformu podle ISO 3960:2017. Uvolněný jód je následně titrován roztokem thiosíranu sodného, který přechází na tetrathionan sodný za použití škrobového mazu jako indikátoru. Peroxidové číslo bylo měřeno 0., 5., 10., 20., 30. a 40. den skladování. Výsledky byly vyjádřeny v milimolech aktivního kyslíku na kilogram oleje. U čísla

kyselosti je metoda založena na neutralizaci volných mastných kyselin ethanolickým roztokem hydroxidu draselného podle ISO 660:2009. Číslo kyselosti bylo měřeno ve dnech 0, 20 a 40.

### **3.1.4 Stanovení profilu mastných kyselin plynovou chromatografií**

Postup je podrobně popsán v dalším experimentu (Experiment II).

### **3.1.5 Statistické vyhodnocení**

Data byla zpracována pomocí Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, Soul, Korea) a statisticky vyhodnocena pomocí softwaru Statistica 13.2 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) pomocí korelační matice na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  a pomocí hierarchické shlukové analýzy.

## **3.2 Experiment II: Vliv typu oleje na smažení na jeho stabilitu a složení smažené potraviny**

### **3.2.1 Příprava vzorku**

Jako smažicí médium pro předsmažené rybí prsty (Bidfood Opava s.r.o, Kralupy nad Vltavou, Česká republika) a bramborové krokety (Bidfood Opava s.r.o, Česká republika) byly použity oleje slunečnicový (Fabio Product s.r.o, Holín, Česká republika), řepkový (Glencore Agriculture Czech s.r.o, Ústí nad Labem, Česká republika) a rýžový (Gaston s.r.o, Praha, Česká republika). Všechny tyto produkty byly zakoupeny v místním supermarketu. Smažení bylo provedeno při teplotě doporučené výrobcem ve fritéze (Nova, Belgie), a to při 180 °C po dobu 3 minut v případě rybích prstů (jeden kus každé smažení) a při 170 °C po dobu 5 minut v případě bramborových kreků (dva kusy každé smažení). Bylo provedeno deset várek smažení pro každý typ pokrmu, aby se napodobily podmínky opakovaného smažení v restauracích (v podnicích rychlého občerstvení). Během smažení nebyl olej znovu doplňován. Objem oleje na začátku smažení byl 2 litry a doba odkapávání oleje z potraviny po usmažení byla 15 minut.

Po smažení byly vzorky zmrazeny na -80 °C, lyofilizovány (chladicí jednotka: CoolSafe 110-4, SCANVAC, Dánsko a rotační lopátkové čerpadlo FB65460, ILMAC, Německo) a homogenizovány po dobu 1-2 minut pomocí laboratorního mlýnku IKA (Yellowline A10, Ilabo, Česká republika). Celkem bylo analyzováno 66 vzorků: 10 várek rybích prstů a 10 várek kreků na každý typ oleje, nesmažené rybí prsty (n = 3, kontrola) a nesmažené krokety (n = 3, kontrola).



### 3.2.2 Analýza sušiny a popelovin

Obsah sušiny a popela byl stanoven gravimetricky, 2,5 g homogenizovaného vzorku bylo sušeno do konstantní hmotnosti při  $103 \pm 2$  °C v sušárně (Mettler, Mettler GmbH & Co. KG, Německo).

### 3.2.3 Analýza obsahu tuku

Obsah tuku byl stanoven pomocí Soxhletovy metody Soxhletovým extraktorem (SER 148, Velp Scientifica, Itálie). Homogenizovaný vzorek (2,5 g) byl extrahován petroletherem (70 ml; Lachner, Česká republika) při 40–65 °C po dobu 110 minut a promýván při stejné teplotě po dobu 45 minut. Extrakce byla provedena ponořením extrakční patrony se vzorkem do vroucího rozpouštědla, po kterém následovala promývací fáze, kde stejný objem zkondenzovaného rozpouštědla protékal extrakční patronou se vzorkem k dokončení extrakčního procesu. Zbytky extrakčního činidla byly následně odpařeny při 103 °C po dobu 2 hodin v sušárně (Mettler, Mettler GmbH & Co. KG, Německo) a zbytek (tj. tuk) byl zvážen. Pro každý vzorek byla provedena dvě paralelní stanovení.

### 3.2.4 Zrychlený oxidační Schaalův test

Po určitém počtu smažení (1, 3, 5, 7 a 10) bylo do kádinky o objemu 100 ml odváženo ~ 25 g oleje s přesností na čtyři desetinná místa. Kádinky byly následně umístěny do termostatu (Binder 2.0, Binder, Německo) a při 60 °C ponechány po dobu 77 dnů a váženy dvakrát týdně (každé 3–4 dny) na analytických vahách (KERN ABJ 120–4NM, KERN & Sohn, Německo). Pozorované změny hmotnosti ukazovaly množství kyslíku spotřebovaného olejem na vytvořených primární produktů oxidace, tj. obecně poukazovaly na stupeň oxidace oleje. Relativní změna hmotnosti byla vypočtena jako rozdíl mezi hmotností vzorku v daný den a jeho hmotností v den nula děleno hmotností vzorku v den 0.

### 3.2.5 Spektrofotometrie

Barva oleje byla měřena spektrofotometrem Minolta Spectra Magic TM NX (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japonsko) po 1., 3., 5., 7. a 10. smažení. Byl použit systém barevného prostoru CIELAB ( $L^*a^*b^*$ ). Barva byla vyjádřena jako tři hodnoty:  $L^*$  - vjemová světlost a  $a^*$  a  $b^*$  pro čtyři jedinečné barvy lidského vidění: červenou, zelenou, modrou a žlutou.

### 3.2.6 Statistická analýza

Data byla statisticky vyhodnocena softwarem Statistica 12 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) pomocí Studentova t–testu, analýzy rozptylu (ANOVA) a Sheffeho post-hoc testu na hladině významnosti 0,05.

### 3.2.7 Stanovení profilu mastných kyselin plynovou chromatografií

Přibližně 0,5 g extrahovaného tuku bylo reesterifikováno pro analýzu profilu mastných kyselin. Methylestery mastných kyselin byly připraveny podle ISO 12966–2: 2011 a stanoveny pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Analýza byla provedena pomocí plynového chromatografu Agilent 7890 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) vybaveného kapilární kolonou Restek Rt 2560 se stacionární fází biskyanopropyl polysiloxan (tloušťka 100 m × 0,25 mm ID × 0,2 μm, Restek Corporation, Bellefonte, PA, USA). Kvadrupólový hmotnostní detektor Agilent 5975C (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) byl nastaven na ionizační energii 70 eV. Podíly mastných kyselin byly vypočteny metodou vnitřní normalizace a výsledky jsou vyjádřeny v relativních procentech každé mastné kyseliny vztaheno na sumu všech identifikovaných mastných kyselin. Metylované mastné kyseliny byly identifikovány jednak pomocí směsi FAME Mix 37 společnosti Restek Food Feed Industry a dále i porovnáním jejich hmotnostních spekter po analýze GC-MS vzorků s knihovnou spekter National Institute of Standards and Technology Library (NIST, USA). Extrakce tuku pro stanovení profilu mastných kyselin byla provedena dvakrát pro každý vzorek. Každý extrakt byl poté nastříknut dvakrát.

## 3.3 Experiment III: Vliv barevných odrůd brambor na stabilitu smažicího média a složení potravin

Výsledky výzkumu IIIa jsou připraveny k publikaci v impaktovaném časopise (European Journal of Lipid Science and Technology) a po korektuře (proofreadingu) budou odeslány do redakce.

### 3.3.1 Experiment IIIa: Vliv odrůdy brambor na žluknutí smažicího média

Jako smažicí médium pro brambory (fialové: Valfi (Vaf) – varný typ BC, Blue Star (BS) – varný typ B, Val Blue (VB) – varný typ B, žluté: Valkýra (Val) – varný typ BC, Valmont (Vam) – varný typ BC, Antonia (Ant) – varný typ A) bylo použito škvařené vepřové sádlo (JAV-AKC spol. s r.o., Slovenská republika). Sádlo bylo zakoupeno v místním supermarketu. Hlízy

brambor pro pokus byly pěstovány v roce 2019 v České republice na dvou místech s různými nadmořskými výškami. V lokalitě Bylany u Českého Brodu a na Valečově na Experimentální stanici Výzkumného ústavu bramborářského Havlíčkův Brod s. r. o. Hlízy brambor byly v obou lokalitách pěstovány prakticky totožnými integrovanými technologiemi, šetrnými k životnímu prostředí (bez použití herbicidů a minerálních dusíkatých hnojiv). Smažení brambor, které byly oloupané a nakrájeny na 1 cm široké hranolky (1 dávka = 300 g), bylo provedeno při teplotě doporučené výrobcem na fritéze (Clatronic FFR 2916, Čína), a to při 175 °C po dobu 12 minut. Objem smažicího média byl 2 litry a doba odkapávání z potraviny po usmažení byla 1 minutu. Poté byly vzorky předloženy k senzorickému hodnocení.

Po smažení byly vzorky sádla a hranolek zmrazeny na –80 °C. Celkem bylo analyzováno 7 vzorků: 3 vzorky sádla ze smažení odrůd bílých brambor, 3 vzorky sádla ze smažení odrůd modrých brambor a 1 kontrolní vzorek tepelně nezátíženého škvařeného vepřové sádla.

### **3.3.1.1 Senzorické hodnocení**

Bezprostředně po usmažení hranolek byly vzorky hranolků předloženy k hodnocení senzorickému panelu, který se skládal ze školených hodnotitelů (studentů a zaměstnanců České zemědělské univerzity v Praze). Celkem bylo 12 hodnotitelů ženského i mužského pohlaví. Barevné odrůdy byly smaženy v jiný den než odrůdy žluté. Dotazník (Příloha 1) obsahoval 8 parametrů pro hodnocení hranolků po stránce vizuální i chuťové. Hodnocené aspekty smažených hranolků byly: vzhled, barva, křupavost, chuť, intenzita smažené chuti, žluklé příchuti a ostatních pachutí.

### **3.3.1.2 Zrychlený oxidační Schaalův test**

Po každém smažení bylo z fritézy odebráno a do kádinky o objemu 100 ml (průměr 50 mm) odváženo ~ 25 g sádla s přesností na čtyři desetinná místa. Kádinky byly umístěny do termostatu (Binder 2.0, Binder, Německo) a při 60 °C ponechány po dobu 49 dnů a váženo nejdříve každý den a následně dvakrát týdně (každé 3–4 dny) na analytických vahách (KERN ABJ 120–4NM, KERN & Sohn, Německo). Pro každý vzorek byla dvě paralelní stanovení. Pozorované změny hmotnosti ukazovaly množství kyslíku spotřebovaného olejem na vytvořených primární produktů oxidace, tj. obecně poukazovaly na stupeň oxidace oleje. Relativní změna hmotnosti byla vypočtena jako rozdíl mezi hmotností vzorku v daný den a jeho hmotností v den nula děleno hmotností vzorku v den 0.

### **3.3.2 Experiment IIIb: Vliv barevných odrůd brambor na stabilitu smažicího média**

Jako smažicí médium pro barevné brambory (fialové – Val Blue, červené – Val Red, bílé – Antonia) byl použit rafinovaný slunečnicový olej (TESCO STORES SR, Slovenská republika) a škvařené vepřové sádlo (Comperio, s.r.o, Česká republika). Všechny tyto produkty byly zakoupeny v místním supermarketu. Smažení brambor, které byly oloupany a nakrájeny na hranolkovači (1 dávka = 200 g), bylo provedeno při teplotě doporučené výrobcem ve fritéze (Nova, Belgie), a to při 170 °C po dobu 10 minut. Byly provedeny 3 várky smažení (jedna pro každou barvu brambor) každý den (po dobu 3 dní), aby se napodobily podmínky opakovaného smažení v domácích podmínkách. Během smažení nebyl olej znovu doplňován. Objem tuku na počátku smažení byl 2 litry a doba odkapávání tuku z potraviny po usmažení byla 2 minuty.

Po smažení byly vzorky oleje, sádla a hranolek zmrazeny na –80 °C. Celkem bylo analyzováno 20 vzorků: 3 smažení (1.-3. den) bílých brambor smažených na slunečnicovém oleji, 3 smažení (1.-3. den) červených brambor smažených na slunečnicovém, 3 smažení (1.-3. den) fialových brambor smažených na slunečnicovém oleji, 3 smažení (1.-3. den) bílých brambor smažených na sádle, 3 smažení (1.-3. den) červených brambor smažených na sádle, 3 smažení (1.-3. den) fialových brambor smažených na sádle a 2 kontrolní vzorky tepelně nezátíženého rafinovaného slunečnicové oleje a škvařeného vepřové sádla.

#### **3.3.2.1 Zrychlený oxidační Schaalův test**

Postup probíhal stejně jako u experimentu IIIa.

#### **3.3.2.2 Stanovení peroxidového čísla (PČ) a čísla kyselosti (ČK)**

Peroxidové číslo bylo použito ke sledování množství primárních oxidačních produktů. Stanovení je založeno na reakci hydroperoxidů ve vzorku s roztokem jodidu draselného prostředí octové kyseliny a chloroformu podle ISO 3960:2017. Uvolněný jód je následně titrován roztokem thiosíranu sodného, který přechází na tetrathionan za použití škrobového mazu jako indikátoru. Výsledky byly vyjádřeny v milimolech aktivního kyslíku na kilogram oleje. U čísla kyselosti je metoda založena na neutralizaci volných mastných kyselin ethanolickým roztokem hydroxidu draselného podle ISO 660:2009.

### 3.3.2.3 Stanovení tokolů

1 g tuku byl odpipetován do 10 ml odměrné baňky a následně po rysku doplněn n-heptanem pro HPLC. Následně byl promíchán (~ 1 minuty) na ultrazvuku. 1-1,5 ml takto připraveného vzorku bylo přepipetováno do vialky s uzavíratelným víkem. Vzorky byly následně analyzovány pomocí HPLC/FLD za podmínek uvedených v aplikačním listu Quality Analysis of Virgin Olive Oils-Part 4 (Agilent Technologies, Inc., Waldbronn, Německo; Schneider 2016). Tato metoda byla nově naimplementována, vzorky tedy byly změřeny pouze jednou.

Poslední část výzkumu probíhala ve spolupráci s Vysokou školou chemicko-technologickou v Praze (VŠCHT, Ústav analýzy potravin a výživy), za což bych jim velice rád poděkoval:

### 3.3.2.4 Stanovení celkového MCPD po hydrolýze (GC-MS/MS)

100 ± 10 mg vzorku bylo rozpuštěno ve 2 ml tetrahydrofuranu (THF), vnitřní standardy (IS) byly doplněny. Vzorky byly hydrolyzovány pomocí 2 ml 1,8% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> v methanolu (16 h; 40 °C). Následně byl THF odpařen. Pak byly vzorky neutralizovány nasyceným roztokem NaHCO<sub>3</sub>, analyty derivatizovány kyselinou fenyloboritou (PBA) a extrahovány hexanem. Analýza probíhala na systému GC-MS/MS 7890 A s trojitým kvadrupólem 7000B (Agilent Technologies, USA) s pozitivní elektronovou ionizací. Předkolona HP5-MS (0.5 m × 0.25 mm × 0.25 μm), kapilární kolona HP5-MS (15 m × 0.25 mm × 0.25 μm). Nosný plyn: helium.

### 3.3.2.5 Stanovení polymerních TAG (HPSEC-RID)

K 200 ± 10 mg tuku bylo přidáno 10 ml THF a analyzováno za pomoci vysokoúčinné velikostně vylučovací chromatografie (HPSEC; Infinity II 1260, Agilent Technologies, USA) spojené s refraktometrickým detektorem (RID; Agilent Technologies, USA). Kolony: 1x Phenogel (předkolona; 30 x 4,6 mm, 5 μm; Phenomenex, USA), 2x Phenogel (300 x 4,6 mm, 100 Å, 5 μm; Phenomenex, USA), teplota kolony 35 °C. Mobilní fáze byl tetrahydrofuran (THF) obsahující 250 ppm BHT, isokratický průtok 1ml/min. Objem nástřiku 20 μl. Teplota detektoru 35 °C. Vyhodnocení probíhalo metodou vnitřní normalizace.

### 3.3.2.6 Metabolomická analýza (U-HPLC-HRMS/MS)

Polární extrakt: k 1 g vzorku bylo přidáno 5 ml methanolu (MeOH):H<sub>2</sub>O (8:2 v/v), 30 min se protřepe, odstředí a odebere se svrchní vrstva. Necílová analýza: markery rozdílů

jednotlivých smažicích lázní. Cílový screening: polyfenoly, přírodní látky apod. Nepolární roztoky: 0,1 g vzorku se rozpustí v 5 ml methyl-terc-butyletheru (MTBE). Necílová analýza: markery rozdílů jednotlivých smažicích lázní. Cílový screening oxidovaných lipidů. Vzorky kontroly kvality (QC) byly získány, jakožto směsný („pool“) vzorek všech extraktů vzorků.

Analýza probíhá na ultraúčinné kapalinové chromatografii (U-HPLC; Ultimate<sup>TM</sup> 3000; Thermo Fisher Scientific, USA) ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (HRMS/MS).

Podmínky pro analýzu nepolárních extraktů: U-HPLC: kolona BEH C18 (2,1 × 100 mm, 1,7 μm, Waters USA), mobilní fáze A (5mM mravenčan amonný v H<sub>2</sub>O:MeOH (95:5, v:v) + 0,1 % mravenčí kyselina (FA)) a B (5mM mravenčan amonný v iPrOH:MeOH:H<sub>2</sub>O (65:30:5, v:v:v) + 0,1 % FA), průtok 0,4 mL/min, doba analýzy 20 min, teplota kolony 60 °C, nástřik 2 μL; HRMS/MS podmínky: Ionizace ESI +/-, napětí kapilár +4,5 kV / -4 kV, kolizní energie 20-50eV, teplota zdroje 500 °C, tlak zmlžovacího plynu 55 psi, průtok zmlžovacího plynu 800 L/h, akviziční rozsah 100-1 200 *m/z*.

Podmínky pro analýzu polární extrakty: U-HPLC: kolona HSS T3 (100 × 2,1 mm, 1,8 μm, Waters, USA), mobilní fáze A (5mM mravenčan amonný v H<sub>2</sub>O + 0,1 % kyselina mravenčí) a B (5mM mravenčan amonný v MeOH + 0,1 % kyselina mravenčí), průtok 0,4 mL/min, doba analýzy 15 min, teplota kolony 40 °C, nástřik 2 μL; HRMS/MS: Ionizace ESI +/-, napětí kapilár +5 kV / -4,5 kV, kolizní energie 20-50eV, teplota zdroje 480 °C, tlak zmlžovacího plynu 55 psi, průtok zmlžovacího plynu 800 L/h, akviziční rozsah 100-1 200 *m/z*.

### 3.3.2.7 Zpracování dat

Zpracování dat probíhalo za pomoci MS Dial (detekce a zarovnání píků): Sběr dat – minimální výška odezvy 1000; MS1 tolerance 0.01 Da; MS2 tolerance 0.025 Da; identifikace na základě MS/MS (interní) knihovny lipidů a dostupných externích MS/MS knihoven. Prvotní sběr odezev pro cílový screening – MS1 tolerance 0.01 Da, „post identifikace“ pomocí vlastní MS1 knihovny. Zarovnání (alignment) podle QC 10. ANOVA p-value.

MS Excel (filtrace normalizace, transpozice): Filtrace (cílová analýza) přesných hmot – použity pouze „post identifikované“ hmoty shodné s knihovnou, filtrovány analyty s průměrným *m/z* o více než 10 ppm od teoretické hmoty. Oxidované TAG filtrovány a normalizovány na sumu (pouze odezvy nad 1 % sumy) → významné → výstup. Polyfenoly

filtrovány dle ANOVA p-value a dostupnosti MS2 spekter → identifikace. Filtrace dle ANOVA p-value < 0,01. Normalizace na sumu odezev vzorku. Transpozice.

SIMCA / MetaboAnalyst (statistické zpracování): LOG transformace; Pareto scaling, PLS-DA → „features“ o VIP > 1., grafické zpracování → výstup. Identifikace markerů (Metlin, HMDB, PubChem, MassBank, MS Dial interní databáze, ...).

### **3.4 Experiment IV: Nutriční hodnota a oxidační stabilita rybích olejů a doplňků stravy obsahujících n-3 PUFA**

Celkem bylo analyzováno pět doplňků stravy s obsahem n-3 PUFA. Jednalo se o doplněk stravy s čistými Omega 3 Reflex Nutrition, krilový olej značky Reflex Nutrition, rybí olej s tokoferoly Opti Omega-3 orange od výrobce Health Institute, směs rybích olejů a extra panenského olivového oleje Zinzino BalanceOil+ a rybí olej Möller's z tresčích jater s vitamínem E a extraktem tokoferolů. Všechny výrobky byly zakoupeny v červnu roku 2021.

#### **3.4.1 Analyzované doplňky stravy**

##### **3.4.1.1 Reflex Nutrition Omega 3**

Výrobek Omega-3 ve formě želatinových kapslí obsahuje koncentrát čistého rybiho oleje (bližší specifikace není uvedena). Želatinová kapsle je složena z hovězí želatiny, zvlhčovačla (glycerolu) a vody. Datum minimální trvanlivosti: listopad 2022. Deklarované složení je uvedeno v tabulce 1.

**Tabulka 1:** Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Reflex Nutrition Omega 3.

<b>Nutriční hodnota</b>	<b>1 kapsle</b>
<b>Rybí olej koncentrát</b>	1000 mg
<b>z toho EPA</b>	330 mg
<b>z toho DHA</b>	220 mg

Doporučené dávkování je 1 kapsle 3x denně s jídlem. To by odpovídalo 990 mg EPA, 660 mg DHA, celkem 1650 mg (1,65 g) EPA + DHA, což splňuje doporučenou denní dávku 250 mg.

### 3.4.1.2 Reflex Nutrition Krill Oil

Krilový olej je zpracován opět do formy želatinových kapslí. Želatinové kapsle se skládají z hovězí želatiny, zvlhčující látky (glycerolu) a vody. Krilový olej pochází z antarktického krillu *Euphausia superba*. Získané n-3 PUFA, jsou vázány na fosfolipidy, kvůli kterým by měly být lépe vstřebatelné pro organismus. Tento olej je rovněž přirozeným zdrojem antioxidantu astaxantinu (červené karotenoidní barvivo vyskytující se v mořských řasách), který mu (mimo jiné) dodává tmavě červenou barvu. Je rovněž zdrojem přírodního cholinu. Datum minimální trvanlivosti: květen 2023. Deklarované složení je uvedeno v tabulce 2.

**Tabulka 2:** Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Reflex Nutrition Krill Oil.

Nutriční hodnota	1 kapsle
Krilový olej	500 mg
z toho fosfolipidy	210 mg
Omega-3 mastné kyseliny	120 mg
z toho EPA	60 mg
z toho DHA	32 mg
Astaxanthin	150 µg

Doporučené dávkování je 1-2x denně (konzumace ráno možná s jídlem i na lačno). To by odpovídalo 240 mg z toho 120 mg EPA a 64 mg DHA. Celkem 184 mg (0,184 g) EPA + DHA, což nesplňuje doporučenou denní dávku 250 mg.

### 3.4.1.3 Health Institute Opti Omega-3 orange

Jedná se o trojitě filtrovaný rybí olej s příchutí pomeranče (původem z Islandu), který je obohacen o směs tokoferolů. Druhy ryb použité na výrobu nejsou na produktu uvedeny. Výrobek byl v tmavé skleněné lahvičce (200ml). Minimální trvanlivost: listopad 2022. Deklarované složení je uvedeno v tabulce 3.



**Tabulka 3:** Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Health Institute Opti Omega-3 orange.

<b>Nutriční hodnota</b>	<b>100 g</b>
<b>Energetická hodnota</b>	3750 kJ
<b>Sacharidy</b>	0
<b>Bílkoviny</b>	0
<b>Tuk</b>	100 g
<b>Nasycené mastné kyseliny</b>	25–28 g
<b>Mononenasycené mastné kyseliny</b>	22–25 g
<b>Polynenasycené mastné kyseliny</b>	48–51 g
<b>Omega-3 mastné kyseliny</b>	38–41 g
<b>z toho EPA</b>	18–19,5 g
<b>z toho DHA</b>	11,8–13,1 g

Doporučené dávkování je půl až jedna polévková lžice oleje denně (nejlépe po jídle). To odpovídá zhruba 5–10 g rybiho oleje – v přepočtu by mělo obsahovat 1900–3800 mg omega-3 MK, z toho 900–1800 mg EPA a 590–1180 g DHA. Celkem 1490–2980 mg (1,49–2,98 g) EPA + DHA, což splňuje doporučené množství 250 mg.

#### **3.4.1.4 Zinzino BalanceOil+**

Jedná se o směs olejů z malých ryb ulovených ve volné přírodě (ančoviček, makrel, sardinek) a extra panenského olivového oleje s přídavkem tokoferolů a vitamínu D<sub>3</sub> (cholecalciferolu). Olivový olej je vyroben ze španělských oliv Picual předsklizňové kvality a je bohatým zdrojem polyfenolů, fytonutrientů, a omega-9 MK. Polyfenoly působí jako antioxidanty. Používané tokoferoly jsou vyráběny z destilátů oleje ze sójových bobů, který je bez genetické modifikace a vysoce rafinovaný (tyto destiláty procházejí další rafinací, aby neobsahovaly žádné sójové proteiny tzn. že v přípravku nejsou přítomny žádné alergeny). Výrobce uvádí, že BalanceOil+ obsahuje  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - a  $\delta$ -tokoferoly. Obsažený vitamin D<sub>3</sub> se vyrábí rozpuštěním prekurzoru vitamínu D<sub>3</sub> z lanolinu (tuk z ovčí vlny) a následně je chemicky upraven a aktivován působením ultrafialového (UV) záření. Výrobek měl příchut' pomeranč-citrón-máta a byl ve skleněné tmavé lahvičce (300ml). Minimální trvanlivost: září 2023. Deklarované složení je uvedeno v tabulce 4.

**Tabulka 4:** Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Zinzino BalanceOil+.

<b>Nutriční hodnota a obsah v:</b>	<b>7,5 ml</b>	<b>12 ml</b>
<b>Rybí tuk</b>	4142 mg	6627 mg
<b>Omega-3 mastné kyseliny</b>	1549 mg	2478 mg
<b>z toho EPA</b>	802 mg	1283 mg
<b>z toho DHA</b>	427 mg	683 mg
<b>Olivový olej</b>	2557 mg	4092 mg
<b>z toho kyselina olejová (omega-9)</b>	1918 mg	3069 mg
<b>z toho polyfenoly</b>	2,2 mg	3,5 mg
<b>Vitamin D<sub>3</sub></b>	12,6 µg (250 % DDD)	20 µg (400 % DDD)

Doporučené dávkování je 0,15 ml doplňku stravy na kg tělesné hmotnosti. Doporučená dávka pro dospělého s tělesnou hmotností do 50 kg je 7,5 ml denně. To odpovídá 1549 mg n–3 PUFA, z toho 802 mg EPA a 427 mg DHA. Celkem 1229 mg EPA + DHA. Doporučená dávka pro dospělého s tělesnou hmotností do 80 kg je 12 ml denně. To odpovídá 2478 mg n–3 PUFA, z toho 1283 mg EPA a 683 mg DHA. Celkem 1966 mg EPA + DHA, což splňuje doporučené množství 250 mg.

### 3.4.1.5 Möller´s rybí olej z tresčích jater

Výrobce uvádí, že tresky používané na výrobu rybího oleje jsou loveny v severní oblasti Norského moře (u ostrovů Lofoty; oblast rybolovu FAO 27) v hlavní lovné sezoně (od února do května). Díky zpracovatelským závodům umístěným podél pobřeží Lofot je rybí olej extrahován pomocí parní technologie z čerstvých tresek (nejpozději následující den po ulovení) a rychle ošetřen dusíkem jako ochrana před oxidací. Získaný olej je převezen do závodu Peter Möller´s v Oslu, kde prochází kontrolou oxidace a obsahu n–3 PUFA. Pokud splňuje kontrolu kvality, odstraní z něj nasycené tuky (přirozeně se vyskytující v tresčích játrech), bílkoviny (aby mohly rybí tuk užívat i osoby s alergií na ryby), zbytky vody z odpařování a vyčistí ho od případných znečišťujících látek a produktů oxidace. Rybí olej byl zakoupen v tmavě zelené skleněné lahvičce (250ml). Obsahoval citrónové aroma, DL-alfa-tokoferylacetát (vitamin E) a extrakt s vysokým obsahem tokoferolů. Minimální trvanlivost: únor 2023. Před otevřením má trvanlivost 2 roky, po otevření musí být spotřebován do 3 měsíců (a skladován v lednici). Deklarované složení je uvedeno v tabulce 5.

**Tabulka 5:** Nutriční hodnoty uvedené na obalu výrobku Möller's rybí olej z tresčích jater.

<b>Nutriční hodnota</b>	<b>5 ml</b>
<b>Omega 3 mastné kyseliny</b>	1 200 mg
<b>z toho EPA</b>	400 mg
<b>z toho DHA</b>	600 mg
<b>Vitamin E</b>	3 mg (25 % DDD)
<b>Vitamin A</b>	250 µg (31 % DDD)
<b>Vitamin D</b>	10 µg (200 % DDD)

Doporučené dávkování je 5 ml rybího oleje denně. V ní by mělo být obsaženo 1200 mg n–3 PUFA, z toho 400 mg EPA a 600 mg DHA. Celkem 1000 mg EPA + DHA, což splňuje doporučené množství 250 mg.

#### **3.4.2 Zrychlený oxidační Schaalův test**

Do kádinky o objemu 100 ml bylo odváženo ~ 20 g oleje. Od každého doplňku stravy byly vytvořeny vždy tři paralelní vzorky (kromě krilového oleje od značky Reflex Nutrition, ze kterého byl vytvořen pouze jeden vzorek, neboť se krilový olej obtížně dostával ven z želatinových kapslí a nezbylo tedy dostatek materiálu). Kádinky byly umístěny do termostatu (Binder 2.0, Binder, Německo), a ponechány při 60 °C po dobu 1 měsíce a váženy (nejdříve každý den a následně každé 2-3 dny) na analytických vahách (KERN ABJ 120–4NM, KERN & Sohn, Německo). Pozorované změny hmotnosti ukazovaly množství kyslíku spotřebovaného olejem na vytvořených primární produktů oxidace, tj. obecně poukazovaly na stupeň oxidace oleje. Relativní změna hmotnosti byla vypočtena jako rozdíl mezi hmotností vzorku v daný den a jeho hmotností v den nula děleno hmotností vzorku v den 0.

#### **3.4.3 Analýza sušiny**

Postup probíhal stejně jako u experimentu II.

#### **3.4.4 Stanovení profilu mastných kyselin v rybích olejích**

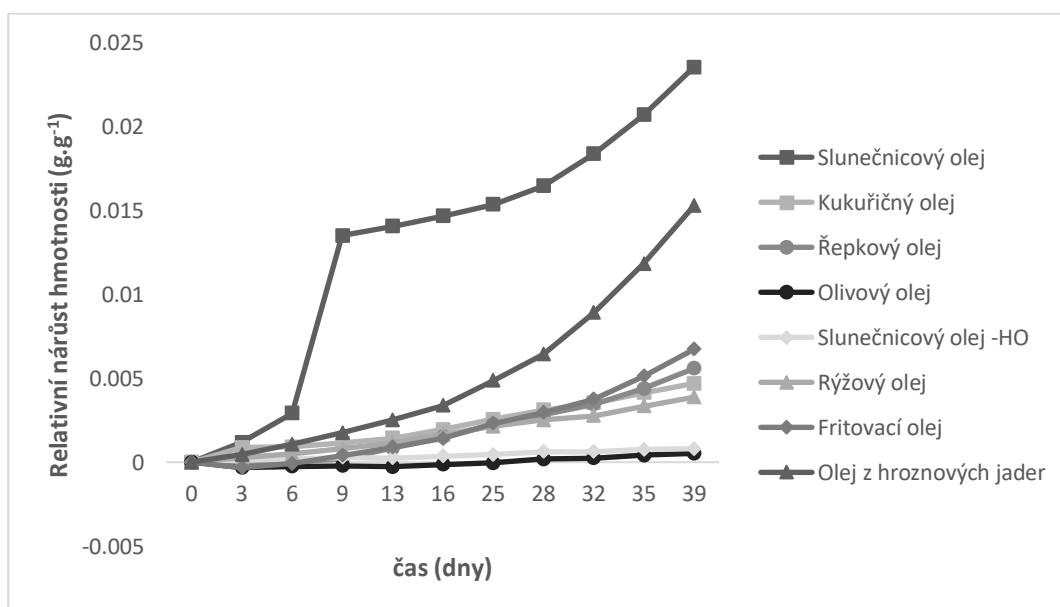
Postup probíhal stejně jako u experimentu II.

## 4 Výsledky a diskuse

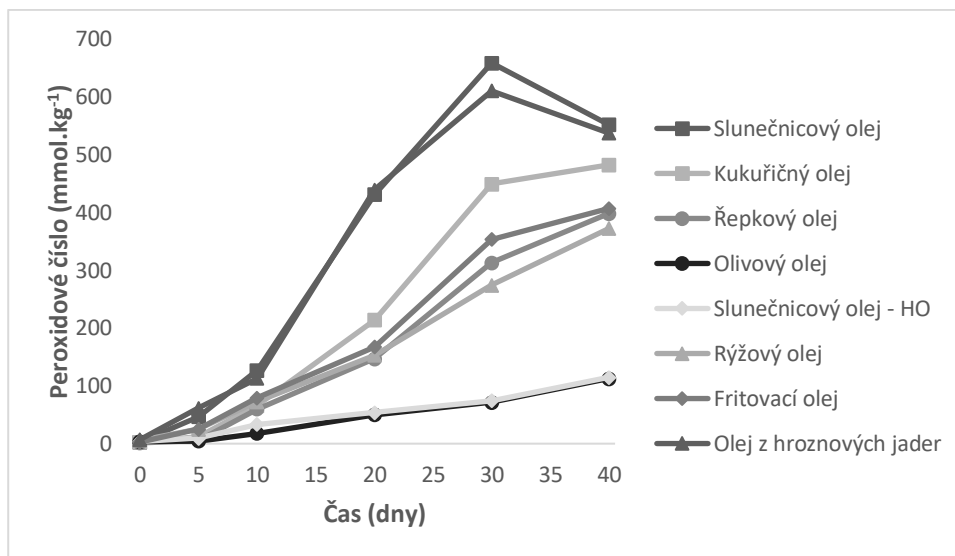
### 4.1 Experiment I: Vliv profilu mastných kyselin na stabilitu netradičních a tradičních rostlinných olejů

#### 4.1.1 Stanovení oxidační stability

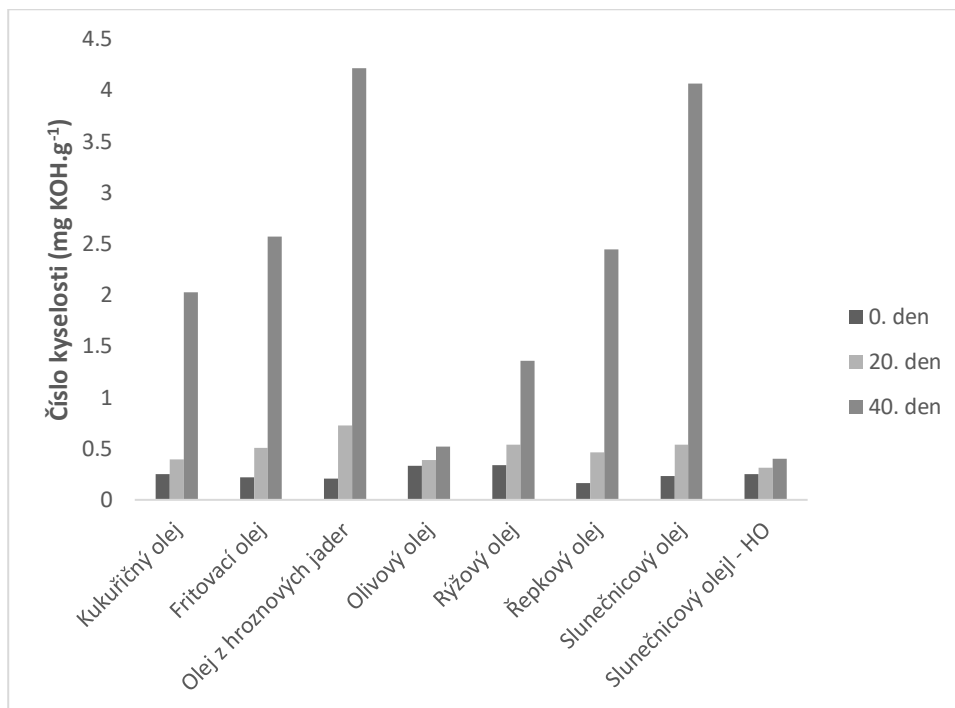
Rozdíl v nárůstu hmotnosti jednotlivých olejů během skladování je uveden na obrázku 7 a změny hodnot peroxidového čísla a čísla kyselosti jsou na obrázku 8 a obrázku 9. Zastoupení SFA, MUFA a PUFA v olejích na začátku a na konci skladování jsou znázorněny na obrázcích 10 a 11. Relativní obsahy hlavních mastných kyselin na začátku (den 0) a na konci experimentu (den 40) jsou uvedeny v tabulce 6.



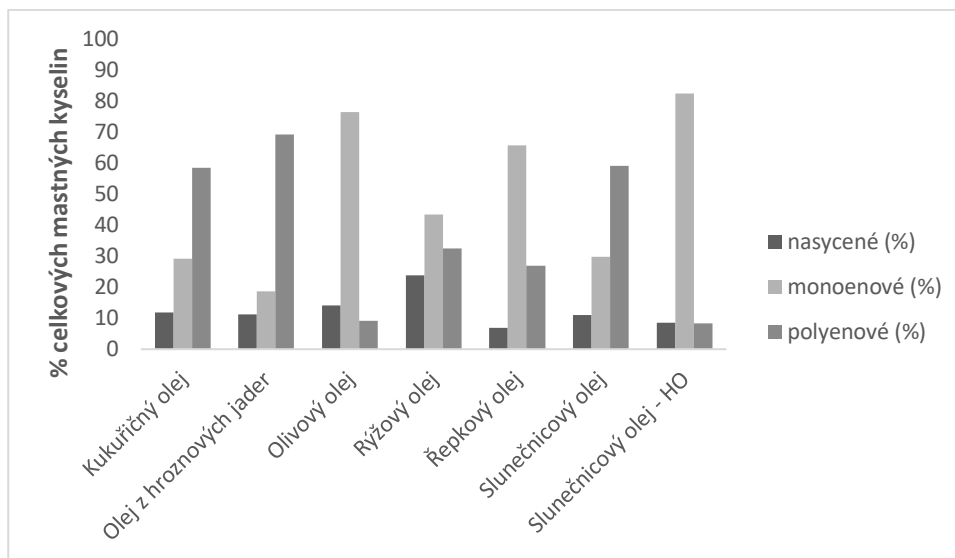
Obrázek 7: Relativní změny hmotnosti jednotlivých olejů během Schaalova testu



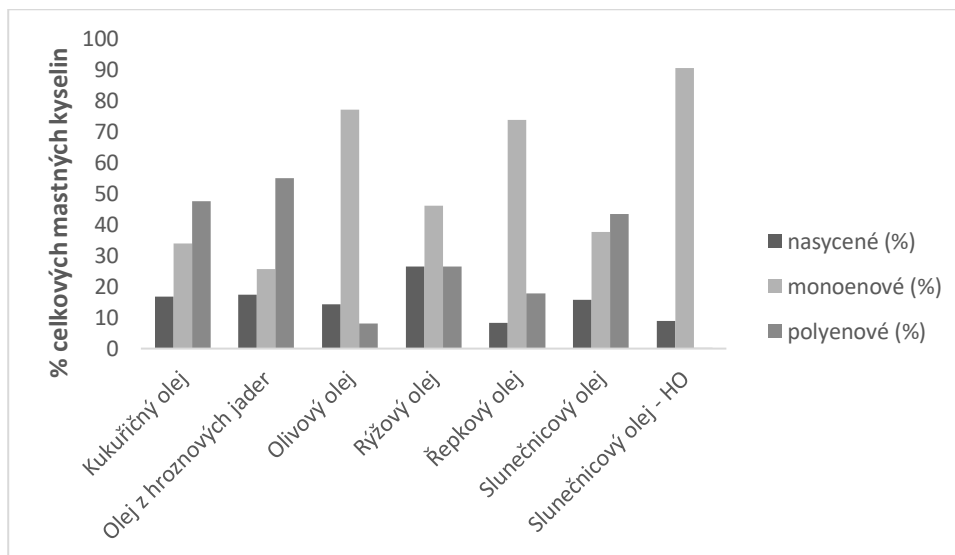
**Obrázek 8:** Změny peroxidového čísla u jednotlivých olejů během Schaalova testu



**Obrázek 9:** Změny čísla kyselosti u jednotlivých olejů během Schaalova testu



**Obrázek 10:** Zastoupení mastných kyselin – den 0



**Obrázek 11:** Zastoupení mastných kyselin – den 40

**Tabulka 6:** Změny hlavních mastných kyselin v olejích během Schaalova testu.

Olej	Zastoupení mastných kyselin (% ze všech MK)				
	C16:0 den 0/den 40	C18:0 den 0/den 40	C18:1 cis-9 den 0/den 40	C18:2 cis 9,12 den 0/den 40	C18:3 cis- 9,12,15 den 0/den 40
<b>Kukuřičný</b>	9.3/13.7	1.8/2.2	22.9/33.6	57.2/47.2	0.7/0.4
<b>Z hrozn. jader</b>	6.8/10.3	4.3/6.4	18.4/25.3	69.1/54.8	0.1/<0.1
<b>Olivový</b>	10.1/10.3	3.1/3.1	75.5/76.0	8.4/7.6	0.6/0.5
<b>Rýžový</b>	19.3/21.9	2.2/2.3	42.6/45.2	31.5/25.8	1.1/0.7
<b>Řepkový</b>	4.3/5.3	1.6/1.9	63.4/71.5	18.6/13.8	7.8/3.8
<b>Slunečnicový</b>	5.7/8.8	3.8/5.0	29.5/37.2	58.4/42.9	0.6/0.3
<b>Slunečnicový - HO</b>	3.8/4.3	2.8/2.9	82.6/90.6	8.1/0.3	0.3/<0.1

Na obrázku 7 je vidět, že podle relativního hmotnostního přírůstku lze testované oleje rozdělit do tří skupin: velmi oxidačně nestabilní oleje – olej z hroznových jader a slunečnicový olej, středně stabilní oleje – olej na smažení, řepkový, kukuřičný a rýžový olej a velmi stabilní oleje – olivový olej z pokrutin a slunečnicový olej s vysokým obsahem olejové kyseliny. Hodnoty peroxidového čísla (obrázek 8) opět jasně oddělovaly velmi stabilní oleje od ostatních. Z obrázku 9 je zřejmé, že ačkoli rýžový a olivový olej měly před skladováním za zvýšené teploty vyšší čísla kyselosti, nepodléhaly tyto oleje tak velkým hydrolytickým změnám jako olej slunečnicový a olej z hroznových jader.

Výsledky Schaalových testů ukázaly nejnižší relativní nárůst hmotnosti u olivového oleje a slunečnicového oleje se zvýšeným obsahem kyseliny olejové. Naopak nejvyšší nárůst byl zaznamenán u tradičního slunečnicového oleje a oleje z hroznových jader. Foster et al. (2009) vysvětlují nízkou oxidační stabilitu slunečnicového oleje vysokým obsahem kyseliny linolové a nízkým obsahem  $\gamma$ -tokoferolu. Nízký obsah  $\gamma$ -tokoferolu může také přispívat k nízké stabilitě oleje z hroznových jader, společně s jeho vysokým obsahem kyseliny linolové. Zvýšená stabilita slunečnicového oleje s vysokým obsahem kyseliny olejové je způsobena vyšším obsahem právě této MK a nízkým obsahem polynenasycených mastných kyselin (Smith et al. 2007). Vysoký obsah kyseliny olejové podpořený přítomností řady nezmýdelnitelných složek je zodpovědný za vysokou stabilitu olivového oleje (Gunstone 2008). Olivový olej ve srovnání s konvenčním slunečnicovým olejem také vykazuje dobrou stabilitu při oxidaci při

180 °C po dobu 60 minut, což Silva et al. (2010) připisuje vysokému obsahu fenolových sloučenin.

Výsledky získané sledováním hmotnostních změn olejů korelovaly s výsledky hodnot peroxidových čísel ( $R_2 = 0,83$ ). Z obrázku 8 je vidět, že u slunečnicového oleje a oleje z hroznových jader začalo docházet ke snižování hodnoty peroxidového čísla po dosažení jeho maxima asi po 30 dnech, tj. hydroperoxydy (primární oxidační produkty) se již začaly přeměňovat na sekundární oxidační produkty. Zdá se, že kukuřičný a fritovací olej dosáhly svého maxima peroxidového čísla, zatímco řepkový a rýžový olej stále vykazovaly zvýšení peroxidového čísla i 40. den. Na druhé straně bylo zvýšení peroxidového čísla olivového oleje a slunečnicového oleje s vysokým obsahem kyseliny olejové velmi malé a na konci měření byly daleko od fáze propagace radikálové řetězové autooxidační reakce.

U oleje z hroznových jader a slunečnicového oleje bylo možné určit indukční periodu (IP), která činila 27 (olej z hroznových jader) a 28 (slunečnicový olej) dnů. IP pro fritovací olej a řepkový olej lze odhadnout na přibližně 35 dní. Zbývající čtyři oleje nevykazovaly jasný začátek rychlé radikálové řetězové reakce a měly IP delší než 40 dnů.

Čísla kyselosti na konci experimentu odpovídají jak relativnímu hmotnostnímu přírůstku ( $R_2 = 0,97$ ), tak hodnotám peroxidového čísla ( $R_2 = 0,90$ ). Oleje vykazující rychlejší oxidační rozklad dosáhly na konci měření výrazně vyššího čísla kyselosti (indikujícího větší rozsah hydrolytických změn) než oleje stabilní. Slunečnicový olej s vysokým obsahem olejové kyseliny a olivový olej nevykazovaly významné zvýšení čísla kyselosti. U ostatních olejů byl naopak nárůst mezi 20. a 40. dnem významný. Nízký obsah volných mastných kyselin je sice jedním z faktorů ovlivňujících stabilitu olejů, ale z vysokého počátečního čísla kyselosti olivového oleje je zřejmé, že to není jediný určující faktor.

Pokud jde o složení mastných kyselin (tabulka 6), největší pokles během skladování byl u PUFA. Naopak relativní obsah kyseliny olejové a palmitové vzrostl. U olivového oleje, který ve všech předchozích testech vykázal vysokou stabilitu, byla změna složení ve srovnání s jinými oleji minimální. Bylo potvrzeno, že oleje obsahující méně než 10 % PUFA jsou výrazně stabilnější než oleje obsahující více dvojných vazeb (Velíšek, 2014).

Byla zjištěna silná negativní korelace ( $R_2 = -0,93$ ) mezi obsahem kyseliny olejové a stabilitou oleje vyjádřenou jako peroxidové číslo. Významná pozitivní ( $R_2 = 0,93$ ) korelace byla nalezena v případě linolové kyseliny. To potvrzuje předpoklad, že vyšší stupeň nenasycení



oleje snižuje jeho stabilitu. Vezmeme-li v úvahu přírůstek hmotnosti, hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti na konci experimentu dohromady ve shlukové analýze (Příloha 1), je jasně vidět, že oleje s převažujícím obsahem olejové kyseliny (olivový a slunečnicový-HO) a nízkým obsahem PUFA jsou velmi odlišné od všech ostatních vzorků.

## 4.2 Experiment II: Vliv typu oleje na smažení na jeho stabilitu a složení smažené potraviny

### 4.2.1 Sušina, popel a obsah tuku

Obsah sušiny, popela a tuku byl významně ovlivněn ( $p < 0,0001$ ) typem smažených potravin, přičemž bramborové krokety vykazovaly vyšší obsah sušiny a nižší obsah tuku než rybí prsty, v souladu s přirozeně odlišnými nutričními hodnotami a složením těchto potravin. Vliv typu oleje nebyl významný, a proto byl účinek smažicího média hodnocen samostatně pro každý typ potraviny (tabulky 7 a 8).

**Tabulka 7:** Průměrné hodnoty sušiny, popela a tuku u rybích prstů smažených v různých olejích v deseti opakováních.

Olej	Sušina (g.100 g <sup>-1</sup> vzorku)	Popel (g.100 g <sup>-1</sup> vzorku)	Popel (g.100 g <sup>-1</sup> sušiny)	Tuk (g.100 g <sup>-1</sup> vzorku)	Tuk (g.100 g <sup>-1</sup> sušiny)
Řepkový	39,03 ± 1,18 <sup>a</sup>	1,16 ± 0,20 <sup>a</sup>	2,97 ± 0,48 <sup>a</sup>	6,17 ± 0,29 <sup>a</sup>	15,81 ± 0,72 <sup>a</sup>
Slunečnicový	39,99 ± 1,79 <sup>a</sup>	1,37 ± 0,76 <sup>a</sup>	3,40 ± 1,69 <sup>a</sup>	6,22 ± 0,29 <sup>a</sup>	15,55 ± 0,40 <sup>a</sup>
Rýžový	38,69 ± 0,77 <sup>a</sup>	0,47 ± 0,24 <sup>b</sup>	1,22 ± 0,64 <sup>b</sup>	6,05 ± 0,21 <sup>a</sup>	15,64 ± 0,41 <sup>a</sup>
Kontrola	38,57 ± 0,55 <sup>a</sup>	1,14 ± 0,24 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,64 <sup>a</sup>	6,10 ± 0,04 <sup>a</sup>	15,82 ± 0,05 <sup>a</sup>

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměry ± standardní odchylka (n = 10 pro oleje n = 3 pro kontrolu). Horní indexy ve stejném sloupci označují statisticky významné rozdíly mezi proměnnými při  $p < 0,05$ .

**Tabulka 8:** Průměrné hodnoty sušiny, popela a tuku u bramborových krocket smažených v různých olejích v deseti opakováních.

Olej	Sušina (g.100 g <sup>-1</sup> vzorku)	Popel (g.100 g <sup>-1</sup> vzorku)	Popel (g.100 g <sup>-1</sup> sušiny)	Tuk (g.100 g <sup>-1</sup> vzorku)	Tuk (g.100 g <sup>-1</sup> sušiny)
Řepkový	47,84 ± 0,77 <sup>a</sup>	1,18 ± 0,09 <sup>a</sup>	2,46 ± 0,15 <sup>a</sup>	2,62 ± 0,04 <sup>a</sup>	5,48 ± 0,08 <sup>ad</sup>
Slunečnicový	48,05 ± 1,51 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,20 <sup>bc</sup>	2,08 ± 0,39 <sup>bc</sup>	2,58 ± 0,10 <sup>a</sup>	5,37 ± 0,15 <sup>ac</sup>
Rýžový	48,18 ± 0,79 <sup>a</sup>	1,09 ± 0,08 <sup>ac</sup>	2,26 ± 0,17 <sup>ac</sup>	2,63 ± 0,04 <sup>a</sup>	5,46 ± 0,11 <sup>ad</sup>
Kontrola	46,22 ± 0,41 <sup>b</sup>	0,95 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,06 ± 0,05 <sup>bc</sup>	2,58 ± 0,01 <sup>a</sup>	5,59 ± 0,02 <sup>b</sup>

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměry ± standardní odchylka (n = 10 pro oleje n = 3 pro kontrolu). Horní indexy ve stejném sloupci označují statisticky významné rozdíly mezi proměnnými při p < 0,05.

V případě bramborových krocket (PC) byl pozorován rozdíl v obsahu sušiny mezi kontrolním vzorkem a vzorky smaženými ve všech typech olejů. Mezi testovanými vzorky byly také rozdíly v obsahu sušiny a tuku v sušině.

Obsah sušiny v PC analyzovaných v této práci se lišil od hodnoty 30,00 % stanovené pro před smažené brambory Romerem et al. (2007), což lze přičíst různým velikostem a složením použitých vzorků. Po 10. smažení PC na slunečnicovém oleji dosáhl jejich obsah sušiny 40,00 %, což bylo méně než hodnota 64,30 % stanovená Romerem et al. (2007) pro brambory po 16. smažení. Navzdory výše uvedené neshodě v obsahu sušiny kvůli různým typům vzorků a použitým metodologiím předchozí práce naznačují, že opakované smažení v hluboké vrstvě zvyšuje obsah sušiny v bramborách (Schuten et al. 2004; Ziaifar et al. 2008).

Obsah vody v před smažených rybích prstech (FF) se po opakovaném smažení významně nezměnil. Naproti tomu Pérez-Camino et al. (1991) zjistili, že obsah vlhkosti před smažené tresky v těstíčku (58,20 %) se po prvním fritování ve slunečnicovém oleji snížil na 41,50 % a následně se již významně nezměnil (42,00 %), když se fritování opakovalo v již použitým slunečnicovém oleji. Tento rozdíl lze přičíst tomu, že FF neobsahují pouze rybí maso a na množství vody ztracené při smažení má vliv i strouhanka (obal) na povrchu.

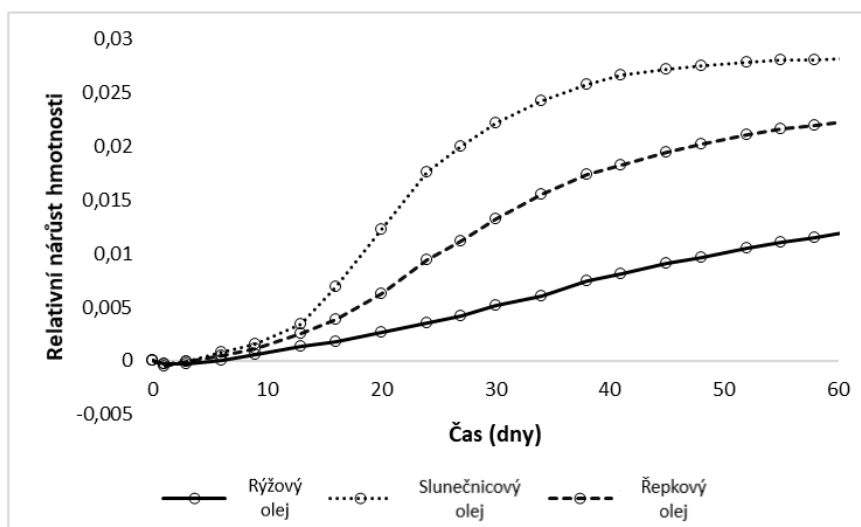
Chen et al. (2009) zkoumali vliv smažení (180 °C v palmovém oleji) na obsah tuku v křustě před smažených rybích kousků a zjistili, že se po smažení zvýšil z 10,06 % na 14,79 %. Toto

vyšší (ve srovnání s našimi výsledky) množství absorbovaného tuku je pravděpodobně způsobeno tím, že strouhanka (obal) absorbuje více tuku než celý vzorek (Ziaifar et al. 2008). Na rozdíl od Chena et al. (2009) byl tuk v této práci ze smažených produktů ponechán k odkapání po dobu 15 minut, což mohlo snížit celkový obsah tuku, jak potvrdili Ziaifar et al. (2008). Kita et al. (2005) uvedli, že obsah tuku v předsmažených hranolkách se po smažení v řepkovém oleji zvýšil o 6,00 %, zatímco Kita et al. (2007) zjistili, že množství oleje absorbovaného bramborovými lupínky během smažení ve vysoké vrstvě při 170 °C vzrostlo v pořadí řepkový < olivový < slunečnicový olej. Podle našich výsledků naopak absorbovaly PC nejmenší množství tuku při smažení na slunečnicovém oleji. Výše uvedené nesrovnalosti lze přičíst různým typům použitých vzorků potravin. V případě FF neměl typ oleje statisticky významný vliv na obsah tuku přepočtený na 100 g vzorku nebo na 100 g sušiny. Na druhou stranu obsah tuku na 100 g sušiny byl u PC ovlivněn typem oleje (nejmenší u slunečnicového oleje). Je to pravděpodobně proto, že většina oleje byla absorbována obalem (strouhankou), která tvoří menší část celkového vzorku, stejně jako složení obalu a morfologie povrchu (Moreno & Bouchon 2013). Kita et al. (2005) napsali, že nasáknutí tuku je vyšší, když se v oleji zvyšuje množství nenasycených mastných kyselin. Na druhou stranu Vitrac et al. (2000) prokázali, že absorpce oleje je menší u nenasyceného oleje, jako je bavlníkový olej, než u palmového oleje, a to kvůli nižší viskozitě prvně jmenovaného oleje během chlazení a jeho schopnosti snadno odkapávat ze smažené potraviny. Tyto rozpory lze vysvětlit skutečností, že viskozita oleje má velký vliv na mechanismus absorpce oleje, neboť se podílí jak na přilnavosti, tak na dynamice ztrát vody ze smažené potraviny. Obsah tuku může být výsledkem jak průniku tuku do obalu, tak i krystalizace tuku na povrchu (Ziaifar et al. 2008). Rozdíly v obsahu tuku na sušinu však nebyly absolutně velké. Tento závěr by tedy bylo třeba v budoucnu více prozkoumat.

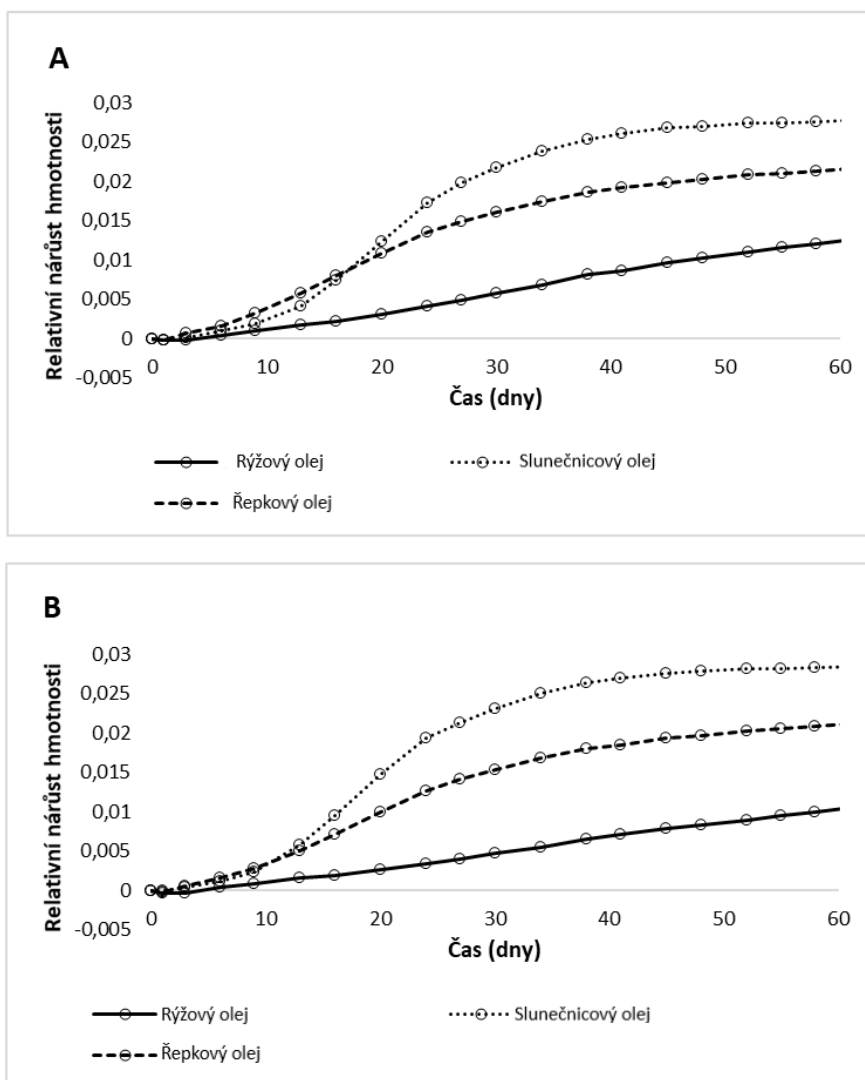
#### **4.2.2 Vliv smažení na oxidační stabilitu oleje**

Výsledky Schaalova testu (obrázky 6, 7 a 8) ukázaly, že nejvyšší a nejnižší oxidační stabilita byla pozorována u rýžového a slunečnicového oleje. Na obrázku 6 je porovnávána stabilita olejů před smažením a je z něho zřejmé, že ačkoliv byl u slunečnicového oleje pozorován rychlý a jasný začátek propagační fáze, u řepkového oleje nebyl pozorován žádný ostrý rozdíl mezi iniciační a propagační fází. Indukční perioda (IP) byla přibližně 12 dní pro slunečnicový olej a 14 dní pro řepkový olej. V případě rýžového oleje nebylo možné IP určit, protože bylo pozorováno trvalé zvyšování hmotnosti vzorku v důsledku oxidace. Z obrázku 7

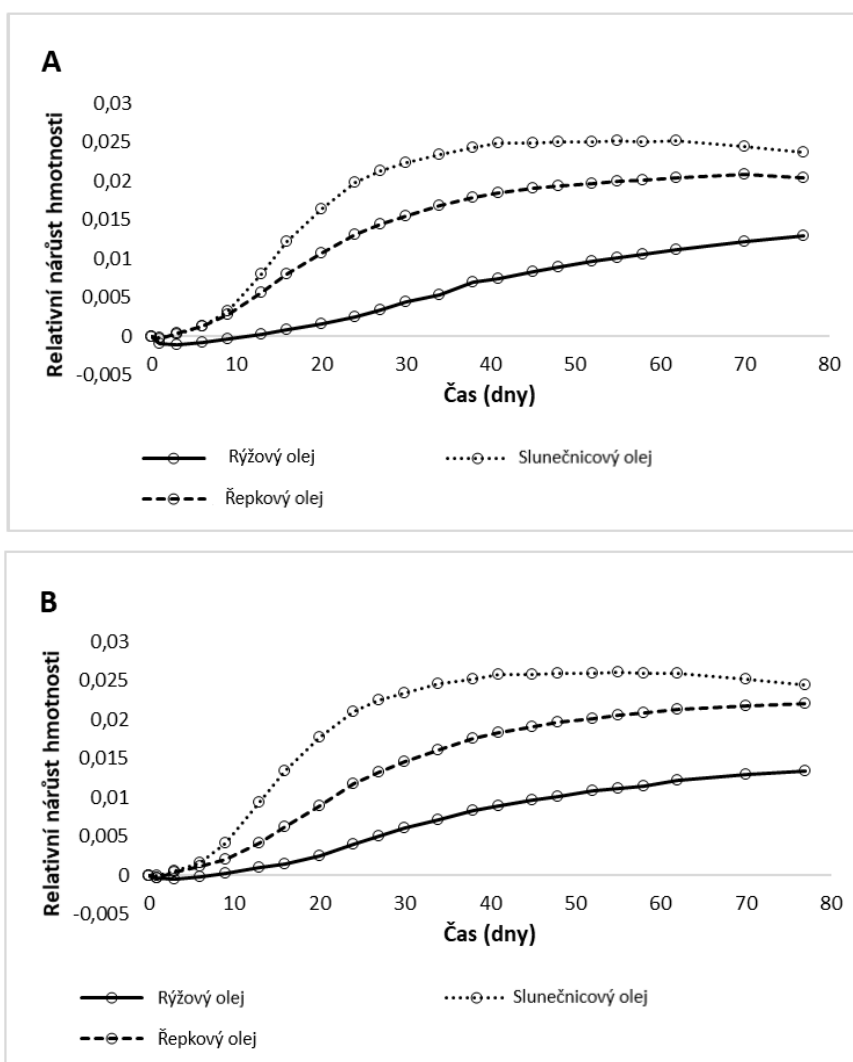
je patrné, že stabilita média na smažení se po prvním smažení snížila a IP slunečnicového oleje (11 dní pro FF a 10 dní pro PC) byla blízká hodnotám získaným pro řepkový olej (13 dní pro FF a 12 dní pro PC). U rýžového oleje nebylo možné pozorovat žádný prudký přírůstek hmotnosti spojený se zřetelným začátkem propagační fáze. Stabilita oleje se dále snížila po posledním (10.) smažení (obrázek 8). V tomto případě byly IP slunečnicového/řepkového oleje 8 dní/9 dní pro FF a 9 dní/12 dní pro PC. Bylo opět obtížné detekovat začátek propagační fáze v rýžovém oleji, ale určitou změnu v křivce lze pozorovat kolem 24 dnů u FF a 20 dnů u PC.



**Obrázek 6:** Oxidační stabilita olejů před smažením.



**Obrázek 7:** Oxidační stabilita olejů po prvním smažení (A) rybích prstů a (B) bramborových kroket.



**Obrázek 8:** Oxidační stabilita olejů po desátém smažení (A) rybích prstů a (B) bramborových kroket.

Krátká IP pro slunečnicový olej odráží jeho vysoký obsah polyenových mastných kyselin. Řepkový a rýžový olej jsou méně nenasycené, a proto stabilnější vůči oxidaci. Důležité jsou samozřejmě i další faktory, jako jsou přítomnost přírodních antioxidantů, způsob zpracování, skladování apod. Je také patrné, že relativní hmotnostní přírůstek se po cca 60 dnech snížil, pravděpodobně proto, že primární produkty oxidace (peroxydy, resp. hydroperoxydy) již začaly klesat a měnit se na sekundární oxidační produkty. Tyto produkty sekundární oxidace mohou být i za podmínek Schaalova testu těkavé, takže hmotnost sledovaného vzorku může klesat po delší dobu. Wroniak et al. (2015) prokázali, že slunečnicový olej má nižší oxidační stabilitu než řepkový olej, což je v souladu s našimi výsledky. Maszewska et al. (2018a) zjistili, že řepkový a rýžový olej mají podobnou stabilitu. Yang et al. (2016) identifikovali rýžový olej jako

stabilnější než oleje ze sójových bobů a bavlníkových semen, přičemž tuto zvýšenou stabilitu připisují přírodnímu antioxidantu ( $\gamma$ -oryzanol) přítomnému v rýžovém oleji. Ve studii Maszewska et al. (2018b), došli k závěru, že řepkový olej byl výrazně méně stabilní než palmový olej, který je bohatý na nasycené mastné kyseliny.

#### 4.2.3 Vliv smažení na barvu oleje

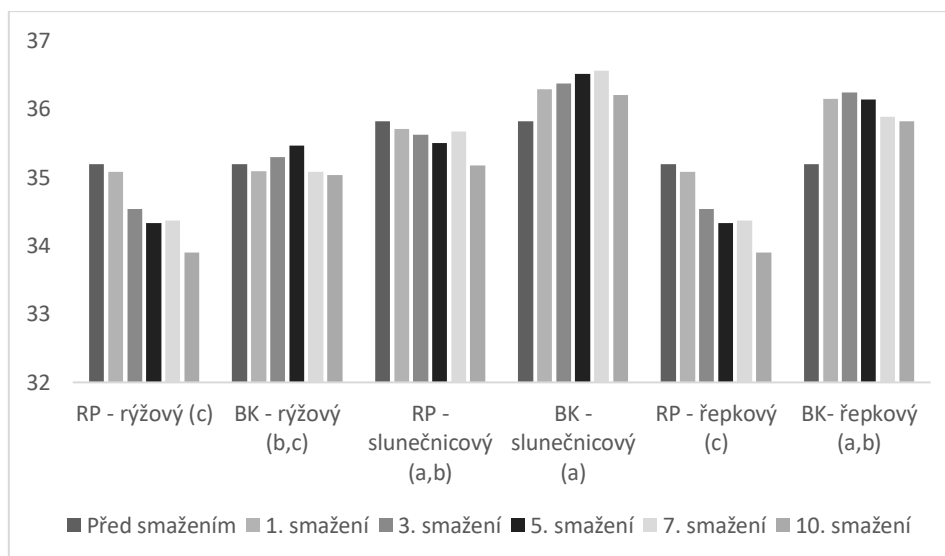
Barva je indikátor používaný v potravinářském průmyslu pro rychlé sledování kvality oleje na smažení (Nayak et al. 2016). Ke ztmavnutí barvy oleje dochází v důsledku vývoje pigmentů (netěkavé produkty rozkladu [NVDP] a  $\alpha$ -,  $\beta$ -nenasycené karbonylové sloučeniny) během oxidace a tepelného rozkladu mastných kyselin, které difundují do oleje během smažení. Maskan (2003) také uvádí, že ztmavnutí oleje může být způsobeno stopami dostupných karotenoidů v oleji, které při smažení oxidují, přičemž tyto produkty též mohou přispívat ke snížení hodnoty světlosti (hodnoty L) v oleji při hodnocení Hunterovým kolorimetrem. Ve studiích provedených Tarmizi et al. (2013) vykazovaly ztmavlé vzorky oleje na smažení vyšší hodnoty světlosti ( $L^*$ ), červenosti ( $a^*$ ) a žlutosti ( $b^*$ ) během smažení, když byly hodnoceny kolorimetrem Hunter. Ukazuje to, že olej byl tmavší, načervenalější a nažloutlý, ve srovnání s barvou čerstvého oleje. Je velmi pravděpodobné, že vznikající červené a žluté pigmenty jsou produkty Maillardovy reakce mezi karbonylovými sloučeninami (vznikajícími při oxidaci tuku) a proteiny nebo volnými aminokyselinami přicházejícími do oleje ze smažené potraviny. Dále bylo zjištěno, že celkový barevný rozdíl, který kombinuje hodnoty  $L^*$ ,  $a^*$  a  $b^*$ , se zvyšuje s dobou smažení. Nor et al. (2008) uvádí, že ztmavnutí vzorků oleje bylo způsobeno oxidací fenolových antioxidantů přítomných v oleji při zahřívání. Podle Debnath et al. (2012) barva oleje z rýžových otrub závisí na počtu cyklů smažení. Změna barvy oleje byla připsána Maillardově reakci. V předběžných srovnávacích studiích provedených Sulieman et al. (2006) zaměřených na antioxidační kapacitu a fyzikálně-chemické vlastnosti rostlinného oleje při smažení hranolků byl pozorován postupný nárůst tmavosti během doby smažení. Hodnota barvy rostlinného oleje se zvyšovala s prodlužováním doby smažení. Bylo to způsobeno migrací hnědých pigmentů ze smažených produktů do oleje na smažení. Kombinace oxidace a polymerace nenasyčených mastných kyselin ve fritovacím médiu byla rovněž uváděna za příčinu zvýšení hodnot barvy (Irwandi et al., 2000).

Při statistickém vyhodnocení všech získaných dat nebyly mezi vzorky zjištěny rozdíly v barevných parametrech ( $L^*$ ,  $a^*$  a  $b^*$ ) v závislosti na počtu várek smažení. Naopak mezi

vzorky byly zjištěny rozdíly v závislosti na druhu oleje a smaženého pokrmu. Během smažení FF měly všechny testované oleje tendenci mírně ztmavnout po každé várce smažení (snížení hodnoty  $L^*$ ) (obrázek 12), ale stejná tendence nebyla pozorována u PC. Naopak při smažení PC na rýžovém oleji (do 5. smažení) a na slunečnicovém oleji (do 7. smažení) olej mírně zesvětlal. Při smažení na řepkovém oleji se olej po prvním smažení zesvětlal; pak od 3. do 10. smažení ztmavil. Mezi hodnotami  $L^*$  rýžového a slunečnicového oleje a řepkového a slunečnicového oleje byl rozdíl (slunečnicový olej byl světlejší).

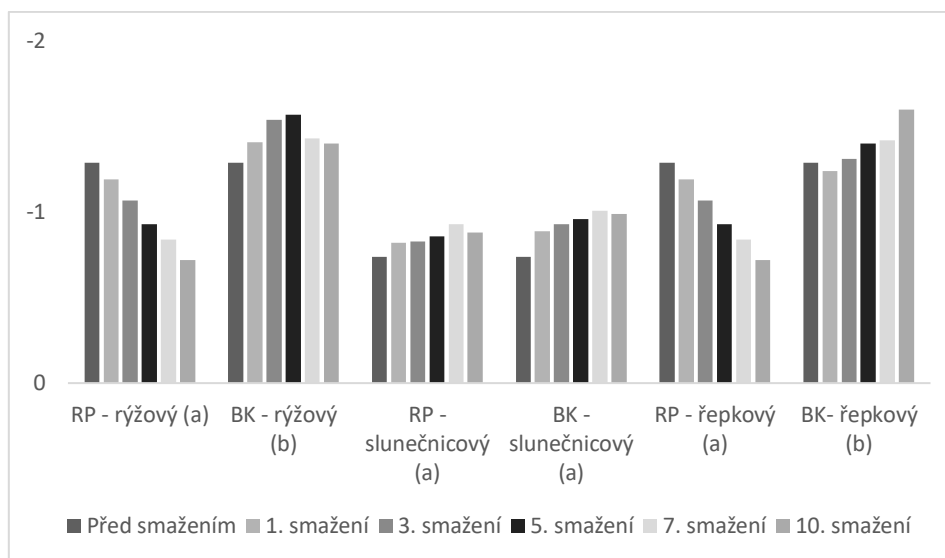
Při hodnocení parametru  $a^*$  [z červené (+) k zelené (-)] je z obrázku 13 vidět, že když byly FF smažené v rýžovém a řepkovém oleji, hodnota  $a^*$  se posunula ze zelené směrem k červené. Vzorky PC smažené v rýžovém a řepkovém oleji byly odlišné od ostatních vzorků. Pokud jde o vliv média na smažení, byl rozdíl mezi hodnotami  $a^*$  u rýžového a slunečnicového oleje a u řepkového a slunečnicového oleje (slunečnicový olej byl méně zelený).

Jak je vidět na obrázku 14, u všech vzorků došlo během smažení k mírným změnám v parametru  $b^*$  [ze žluté (+) na modrou (-)]. Slunečnicový olej vykazoval nižší hodnoty  $b^*$  ve srovnání s jinými vzorky a byl méně žlutý. Mezi všemi oleji byly rozdíly.

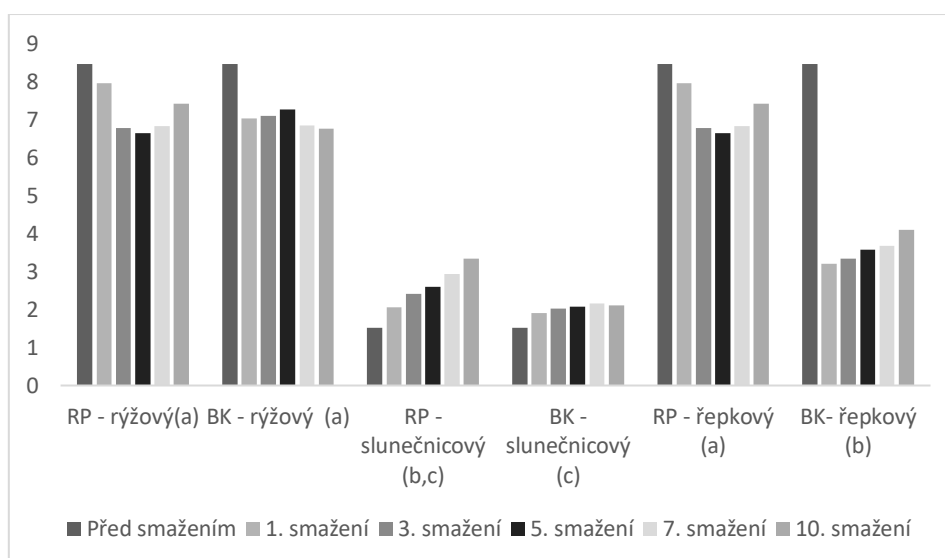


**Obrázek 12:** Světlost ( $L^*$  hodnota) olejů v průběhu smažení





**Obrázek 13:** Červenost (a\* hodnota, poloha mezi červenou a zelenou) olejů v průběhu smažení



**Obrázek 14:** Žlutost (b\* hodnota, poloha mezi žlutou a modrou) olejů v průběhu smažení

Oleje, ve kterých se smažily FF, ztmavly po každé várce smažení, pravděpodobně proto, že částice strouhanky z FF odpadávaly do oleje. Tento trend nebyl u PC pozorován, pravděpodobně proto, že jejich povrch byl mnohem hladší; tak do oleje nemohlo proniknout mnoho částic a přispět tak ke změně barvy. I když zde nebyl žádný statisticky významný rozdíl. To je v souladu s pozorováními a teoriemi Lazaricka (2012) a Bordina et al. (2013). Lazarick (2012) zjistil, že proteinové produkty způsobují rychlejší ztmavnutí a termooxidační poškození oleje na smažení. Tento rozklad byl dále podpořen přidáním dalších složek potravy, jako jsou glukóza, aminokyseliny a hydroperoxydy lipidů, v koncentracích vyšších než 5 % oleje na

smažení. Strouhanka přispěla k tmavší barvě oleje díky částicím z obalu jídla, které odpadaly do oleje na smažení, aby se tak dále urychlily reakce hnědnutí. V práci Srivastavy a Semwala (2015) hodnoty barev ukázaly pokles  $L^*$  a zvýšení hodnot  $a^*$  a  $b^*$  po 8 hodinách nepřetržitého smažení při  $180 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$  v panenském kokosovém oleji. Lineární pokles  $L^*$  se zvyšujícími se dny smažení sojového oleje také zaznamenali Ma et al. (2016). Bohužel chybí údaje o barevných změnách olejů testovaných v naší práci, protože většina autorů se zaměřuje na barevné změny smaženého jídla (nikoli oleje) (Krokida et al. 2001; Salehi 2019). V těchto případech se hodnota  $L^*$  často snižuje (produkty ztmavnou), což může ovlivnit samotnou barvu oleje.

#### 4.2.4 Nutriční význam

Podle současných doporučení by celkový příjem tuků u lehce pracujícího dospělého neměl překročit 30 % celkového energetického příjmu, což je  $\sim 70 \text{ g}$  denně (WHO 2020). Výsledky této práce ukázaly, že příjem tuku prostřednictvím jedné porce smažených rybích prstů (150 g) nebo bramborových kroket (200 g) odpovídá přibližně 9 g a 5 g. Naproti tomu podle údajů z databáze EuroFIR (2020) je celkový obsah tuku v před smažených FF v různých olejích 12–16 g/100 g [18–24 g/150 g], zatímco u před smaženého PC 13–18 g/100 g [26–36 g/200 g]. To může být způsobeno vysokou hydrofobností složek testovaných potravin a rozdílností ve stylu jejich přípravy (tj. odkapávání tuku před konzumací smažených potravin).

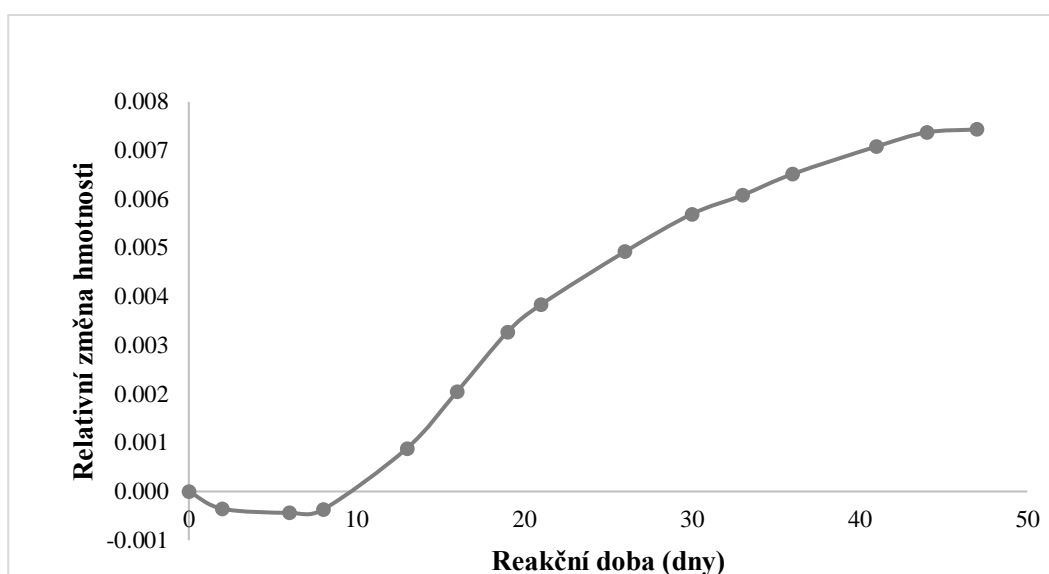
Naše výsledky ukazují, že rýžový olej je nejvhodnější pro smažení FF, zatímco slunečnicový olej je nejlepší volbou pro PC. Tento rozdíl může být způsoben různými maticemi (více bílkovin v FF a více škrobů v PC) a/nebo strukturami (kompaktní kulaté PC vs. méně kompaktní obdélníkový FF se škrobovými granulemi na povrchu a libovým proteinem uvnitř) těchto potravin. Navzdory příznivému složení mastných kyselin je řepkový olej při dlouhodobém zahřívání méně stabilní. Naproti tomu rýžový olej je při zahřívání stabilnější, ale obsahuje více nasycených mastných kyselin (Nayik et al. 2015). Jejich příjem tedy může být zvýšen konzumací potravin smažených na rýžovém oleji. Na druhou stranu pro technologické účely se rýžový olej jeví jako optimální varianta (nasycené mastné kyseliny jsou při zahřívání stabilnější). Pro fritování se doporučuje používat oleje ze speciálně vyšlechtěných odrůd slunečnice nebo řepky se zvýšeným obsahem olejové kyseliny, protože tyto oleje jsou při ohřívání stabilnější a mají pro tepelné namáhání příznivé složení mastných kyselin (Velíšek 2014).

### 4.3 Experiment III: Vliv barvy brambor na stabilitu smažicího média a složení potraviny

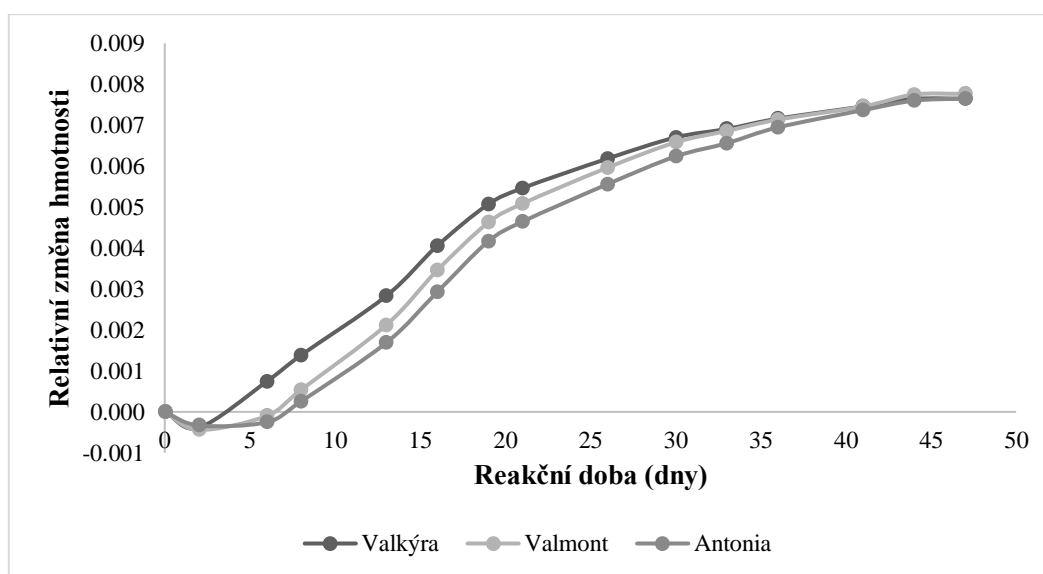
#### 4.3.1 Experiment IIIa: Vliv odrůdy brambor na žluknutí smažicího média

##### 4.3.1.1 Zrychlený oxidační Schaalův test

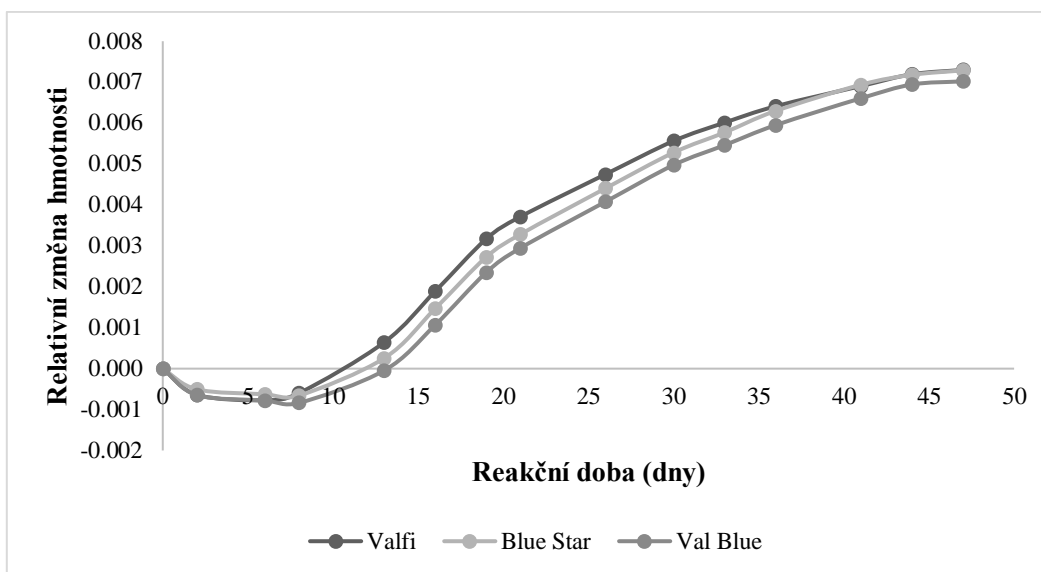
Jako smažicí medium bylo použito vepřové sádlo, kvůli předpokládanému minimálnímu obsahu přírodních antioxidantů v porovnání s rostlinnými oleji. Pomocí indukční periody IP, která byla odečtena z grafů (Obrázky 15, 16, 17) závislosti relativních změn hmotností na čase, byl vypočten protekční faktor PF vůči nesmaženému sádlu (Tabulka 9).



Obrázek 15: Oxidační stabilita nesmaženého sádla



Obrázek 16: Oxidační stabilita sádla po smažení bílých odrůd brambor



**Obrázek 17:** Oxidační stabilita sádla po smažení fialových odrůd brambor

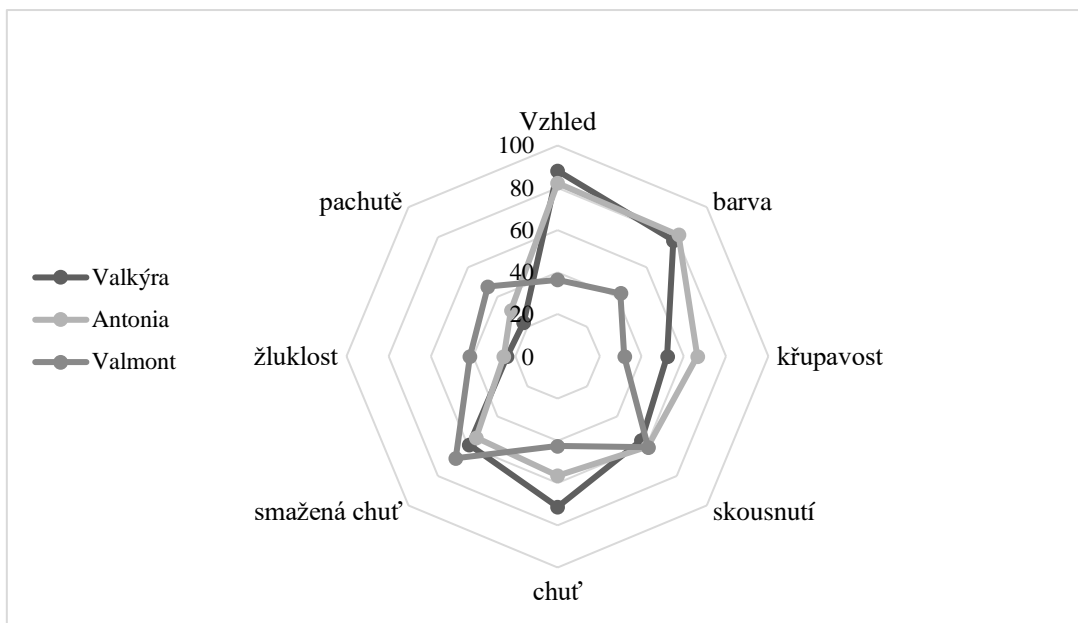
**Tabulka 9:** Indukční perioda (IP) a protekční faktor (PF) nesmaženého sádla a sádel po smažení brambor

Sádlo	IP (dny)	PF
Sádlo nesm.	9,6±0,1 <sup>c</sup>	-
Valkýra	2,4±0,1 <sup>e</sup>	0,25
Valmont	5,0±0,4 <sup>d</sup>	0,52
Antonia	5,8±0,3 <sup>d</sup>	0,60
Valfi	10,1±0,1 <sup>bc</sup>	1,05
Blue Star	11,0±0,1 <sup>a</sup>	1,15
Val Blue	11,5±0,1 <sup>ab</sup>	1,20

Statisticky významné rozdíly v IP mezi vzorky jsou označeny různými písmeny.

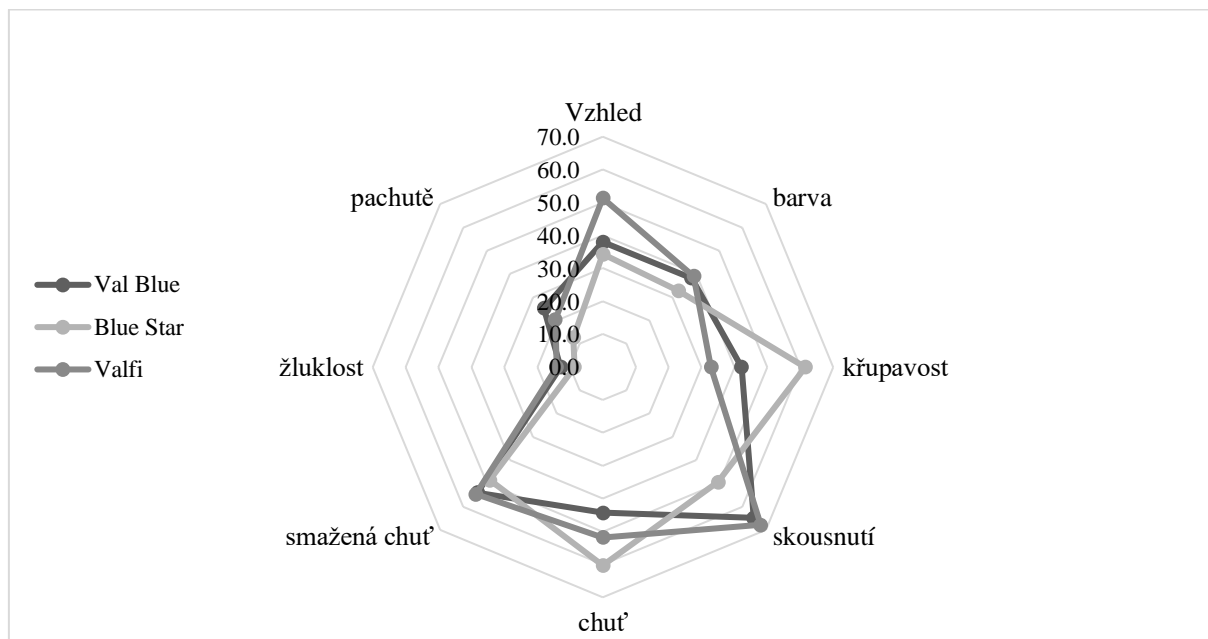
Z tabulky 9 je patrné, že jsou v hodnotách indukčních period statisticky průkazné rozdíly mezi většinou odrůd. Průkazné rozdíly nebyly pouze mezi odrůdami Antonia a Valmont, Val Blue a Valfi, Val Blue a Blue Star, jakož i mezi Valfi a nesmaženým sádlem. Je zde zároveň patrná odlišnost mezi vzorky sádla po smažení hranolků ze žlutých brambor a hranolků z fialových odrůd spolu s kontrolním nesmaženým sádlem.

### 4.3.1.2 Senzorické hodnocení hranolek



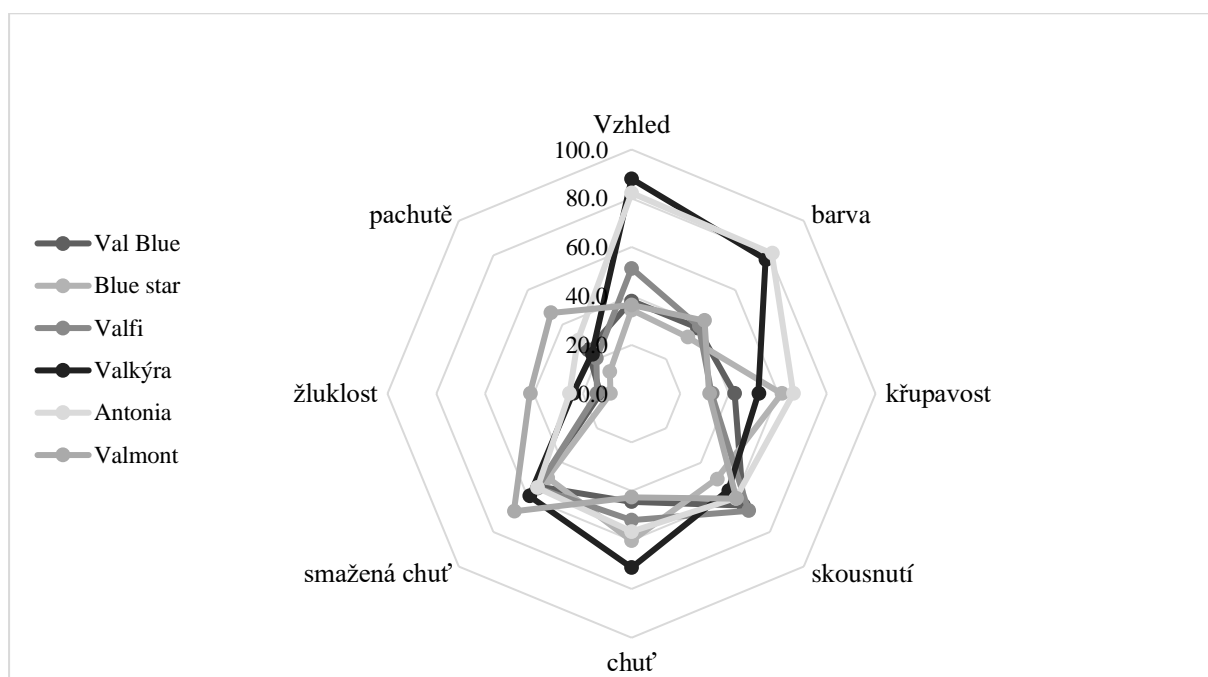
**Obrázek 18:** Senzorické hodnocení žlutých odrůd brambor

Z obrázku 18 je patrné, že nejvíce vzhledově i chuťově přijatelné jsou hranolky z odrůdy brambor Valkýra, u kterých je zaznamenána i nízká intenzita žluklé chuti a ostatních pachutí. Naopak odrůda Valmont byla hodnotiteli vyhodnocena jako nejméně přijatelná, zejména díky žluklé chuti a ostatním pachutím.



**Obrázek 19:** Senzorické hodnocení fialových odrůd brambor

Výsledky sensorického hodnocení hranolků z fialových odrůd byly u všech vzorků podobné (obrázek 19). Avšak jsou mezi nimi odlišnosti ve vzhledu u odrůdy Valfi, která byla hodnocena v tomto parametru nejlépe. Dále odrůda Blue Star byla vyhodnocena jako nejvíce křupavá a chuťově přijatelná. U všech druhů brambor byla smažená chuť velmi výrazná, naopak intenzita žluklé příchuti byla nepatrná.



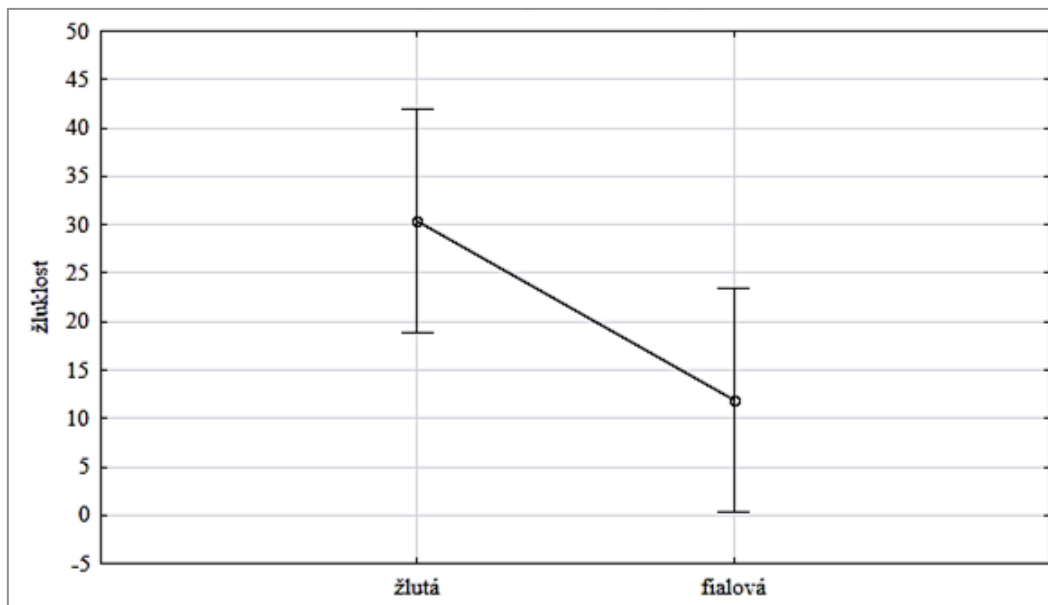
**Obrázek 20:** Sensorické hodnocení všech sledovaných odrůd brambor

V obrázku 20 je rozeznatelný rozdíl ve vzhledu mezi žlutými a fialovými odrůdami brambor, kdy výrazně lépe jsou hodnoceny odrůdy žluté. Stejný trend je pozorován i v barvě, což můžeme vidět i na obrázku 18 a 19 a potvrzuje to i výpočet korelací sensorických parametrů  $r = 0,8660$ , kde je velmi silná korelace mezi vzhledem a příjemností barvy a také spolu úzce souvisí intenzita žluklých chutí a ostatních pachutí. V případě křupavosti byly odrůdy Antonia a Blue Star jako nejvíce uspokojivé, jedná se o zástupce žlutých i fialových odrůd. Nejvíce akceptovatelná odrůda z hlediska chuti, ale i celkového hodnocení, byla žlutá odrůda Valkýra. Naopak hranolky z odrůdy Valmont byly hodnotiteli posouzeny jako nejméně přijatelné ve všech hodnocených kritériích.

#### 4.3.1.3 Statistické vyhodnocení

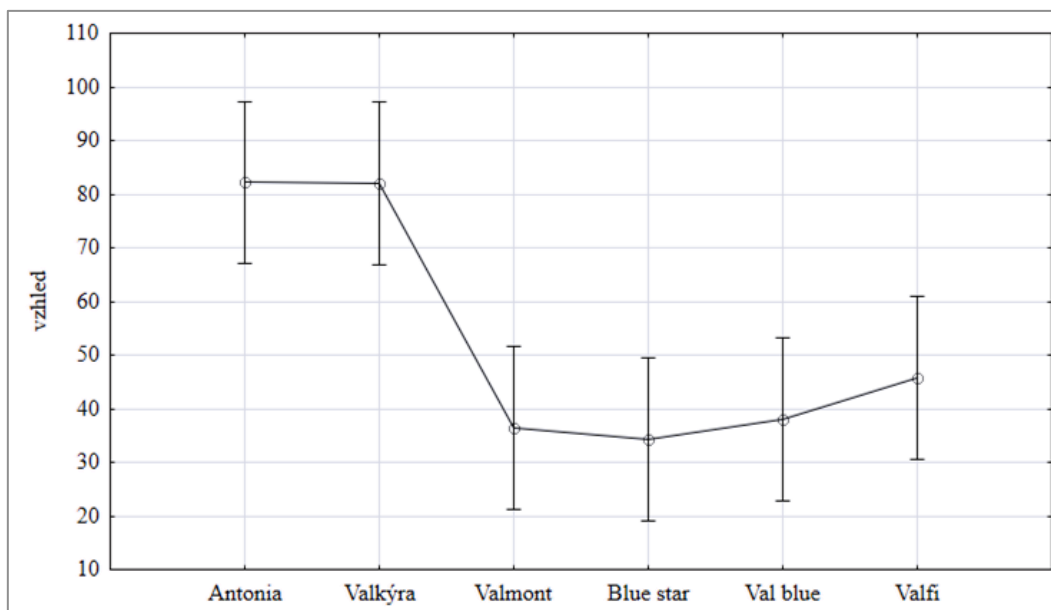
Dle statistického vyhodnocení nebyly statisticky významné rozdíly mezi hranolky ze žlutých a fialových odrůd brambor v parametrech barva, vzhled, křupavost, zvuky při prvním

skousnutí, intenzita smažené chuti, intenzita ostatních pachutí a celkové chuti hranolků. Byl ale zjištěn statisticky průkazný rozdíl ( $p=0,0346$ ) v intenzitě žluklé chuti v závislosti na barvě odrůdy brambor (obrázek 21).



**Obrázek 21:** Sensorické hodnocení žluklé chuti jednotlivých odrůd

Dále byly hodnoceny rozdíly v jednotlivých sensorických parametrech v závislosti na jednotlivých konkrétních odrůdách. Rozdíly v celkové chuti, intenzitě žluklé chuti, zvuků při skousnutí, smažené chuti a pachutí nebyly statisticky významné. U vzhledu byly statisticky průkazné rozdíly mezi odrůdou Antonia a odrůdami Valmont, Blue Star a Val Blue (tabulka 10 a obrázek 22). A mezi odrůdou Valkýra a odrůdami Valmont, Blue Star, Val Blue. Jak hranolky z odrůdy Antonia, tak z odrůdy Valkýra byly sensorickým panelem hodnoceny jako nejvíce vyhovující. Valmont (žlutá odrůda) byla hodnocena spolu s fialovými odrůdami negativně, to lze přisuzovat velice tmavému zabarvení hranolků v důsledku smažení.



**Obrázek 22:** Sensorické hodnocení vzhledu jednotlivých odrůd

**Tabulka 10:** Hodnocení hranolků připravených ze žlutých a fialových odrůd brambor (v %)

Hodnocené parametry	Antonia	Valkýra	Valmont	Blue Star	Val Blue	Valfi
<b>Vzhled</b>	82 ± 16 <sup>a</sup>	82 ± 14 <sup>a</sup>	36 ± 13 <sup>b</sup>	34 ± 19 <sup>b</sup>	38 ± 20 <sup>b</sup>	46 ± 24 <sup>ab</sup>
<b>Barva</b>	81 ± 15 <sup>a</sup>	78 ± 19 <sup>ab</sup>	42 ± 23 <sup>bc</sup>	33 ± 14 <sup>c</sup>	38 ± 18 <sup>c</sup>	39 ± 17 <sup>c</sup>
<b>Křupavost</b>	66 ± 16 <sup>a</sup>	52 ± 11 <sup>ab</sup>	32 ± 15 <sup>b</sup>	62 ± 16 <sup>a</sup>	42 ± 9 <sup>ab</sup>	33 ± 14 <sup>b</sup>
<b>Zvuky při prvním skousnutí</b>	61 ± 24 <sup>a</sup>	56 ± 24 <sup>a</sup>	61 ± 34 <sup>a</sup>	50 ± 26 <sup>a</sup>	65 ± 10 <sup>a</sup>	68 ± 13 <sup>a</sup>
<b>Chuť celkově</b>	57 ± 24 <sup>a</sup>	71 ± 19 <sup>a</sup>	43 ± 27 <sup>a</sup>	52 ± 22 <sup>a</sup>	44 ± 20 <sup>a</sup>	52 ± 24 <sup>a</sup>
<b>Intenzita smažené chuti</b>	45 ± 16 <sup>a</sup>	41 ± 13 <sup>a</sup>	32 ± 14 <sup>a</sup>	51 ± 19 <sup>a</sup>	46 ± 22 <sup>a</sup>	45 ± 24 <sup>a</sup>
<b>Žluklá chuť</b>	26 ± 21 <sup>a</sup>	24 ± 19 <sup>a</sup>	42 ± 35 <sup>a</sup>	9 ± 9 <sup>a</sup>	13 ± 14 <sup>a</sup>	14 ± 13 <sup>a</sup>
<b>Intenzita pachutí celkově</b>	31 ± 26 <sup>a</sup>	23 ± 17 <sup>a</sup>	47 ± 27 <sup>a</sup>	13 ± 16 <sup>a</sup>	25 ± 29 <sup>a</sup>	21 ± 24 <sup>a</sup>

Orientace škál: vzhled, barva, celková příjemnost chuti (0 % = velmi špatná, 100 % = výborná), křupavost (0 % = zcela vláčný, 100 % = křupavý), zvuky při prvním soustu (0 % = neslyšitelné, 100 % = velmi silná), intenzita smažené chuti, žluklé chuti a pachutí (0 % = nezatelná, 100 % = velmi silná). Statisticky významné rozdíly v IP mezi vzorky jsou označeny různými písmeny.

Brambory jsou dobrým zdrojem celé řady mikroživin (zejména vitamínu C, B<sub>6</sub>, draslíku, hořčíku a železa) a fytonutrientů (zejména karotenoidů a fenolových kyselin; Beals 2019). Pigmentované kultivary mají potenciálně vysoký obsah polyfenolových sloučenin podporujících zdraví (Bvenura et al. 2022).



Výsledky ze Schaalova testu ukazují, že fialové odrůdy brambor více inhibovaly oxidaci sádla dle indukční periody (10,1 až 11,5 dní) oproti žlutým odrůdám, u kterých byly hodnoty IP 2,4 až 5,8 dní. Lze tedy předpokládat, že potlačení oxidace tuků mohlo být zapříčiněno obsahem antioxidantů a dalších biologicky aktivních látek v bramborových hlízách, jejichž obsah bude ve fialových odrůdách vyšší (Hejtmánková et al. 2009; Wegener et al. 2009; Ezeiel et al. 2013; Bvenura et al. 2022). Brambory jsou dobrým zdrojem vitamínu C. Hejtmánková et al. (2016) uvádí, že žluté brambory mají vyšší obsah askorbové kyseliny (904–1190 mg/kg u žlutých odrůd a 573 do 925 mg/kg u barevných odrůd). Ve studii Lachman et al. (2005) naměřili v hlízách červených a fialových brambor 170–990 mg/kg askorbové kyseliny. Celkový obsah vitamínu C závisí na mnoha aspektech, včetně odrůdy, sklizně, ale i podmínek skladování, jelikož skladování obecně vede ke snížení obsahu vitamínu C (Tudela et al. 2002). Brambory použité v této práci byly skladovány od léta 2019 do března 2020. Největší ztráty vitamínu C byly pozorovány po smažení (90,42 %) (Tian et al. 2016). Schopnost retence vitamínu C se snižuje s dobou smažení a zvyšující se teplotou smažení (Lu et al. 2016). Tedy lze předpokládat, že obsah vitamínu C nemá zásadní vliv na oddálení oxidace sádla (na rozdíl od fenolových sloučenin). Obsah fenolových sloučenin z fialových brambor měl příznivý vliv na oxidaci lipidů i ve studii Nemés a Pęksa (2018). Kita et al. (2013) ve své studii uvádí, že fialové brambory jsou bohatým zdrojem polyfenolů, které jsou důležité pro lidské zdraví (Zhang & Tsao 2016). Ve fialových odrůdách je dle studie Ezeiel et al. (2013) až dvojnásobné množství fenolových sloučenin než ve žlutých odrůdách. U fialomasých odrůd převládaly anthokyaniny ve formě glykosidů: petunidin a malvidin (Rytel et al. 2017). Kita et al. (2013) zjistili, že pelargonidin a deriváty malvidinu byly při smažení stabilnější než deriváty petunidinu. Smažení způsobilo jednu z největších ztrát celkového obsahu anthokyanů (31,97 %) ve srovnání s jinými způsoby tepelné úpravy (pečení, vaření v páře a ohřev mikrovlnnou troubou; Liao et al. 2019). Výsledky Hejtmánkové et al. (2009) ukazují, že vysoká antioxidační aktivita barevných brambor je způsobena nejen anthokyaniny, ale i dalšími polyfenolovými sloučeninami včetně chlorogenové kyseliny. Studie Wegener et al. (2009) také prokázala vyšší množství chlorogenové kyseliny u fialových odrůd (v porovnání se žlutými kultivary).

Sádlo bylo zvoleno jako médium na smažení pro svůj minimální obsah antioxidantů. Smažení fialových odrůd brambor vykazovalo více inhibovanou oxidaci sádla než smažení žlutých odrůd. Lze tedy předpokládat, že potlačení oxidace tuků mohlo být způsobeno obsahem antioxidantů a dalších biologicky aktivních látek v hlízách brambor, jejichž obsah je vyšší

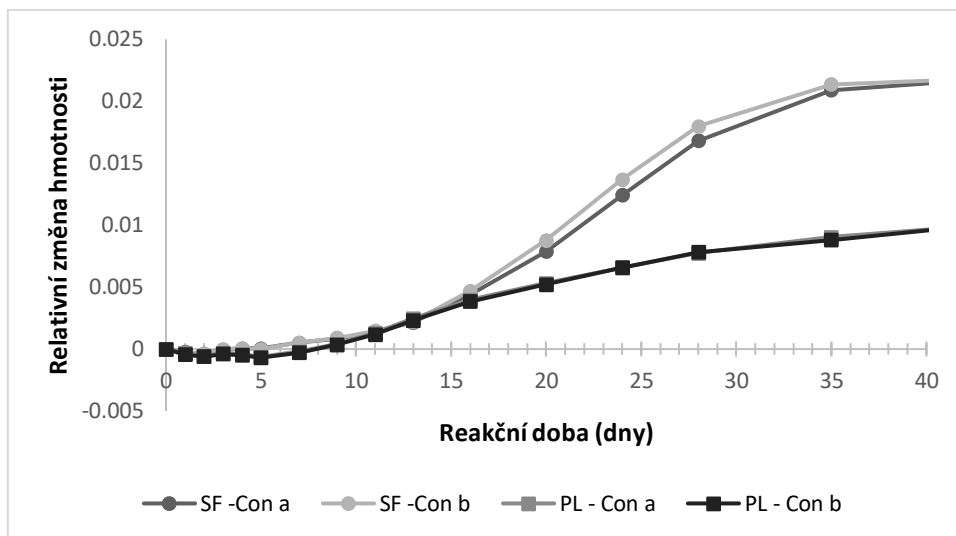
u fialových odrůd (Hejtmánková et al. 2009; Wegener et al. 2009; Ezeiel et al. 2013; Bvenura et al. 2022). Žádné studie se zatím přímo nezaměřovaly na roli antioxidantů přirozeně uvolňovaných z barevných brambor do média na smažení a na jejich oxidační stabilitu. Výroba smažených hranolků nebo chipsů z barevných bramborových hlíz by tak mohla nejen zajímavá novinka, ale také by mohla vést k pomalejší oxidaci smažicího média, které by se nemuselo tak často měnit. Tato skutečnost by mohla být zajímavá zejména pro restaurace a fast foody, kde se ve velkém připravují smažené bramborové výrobky.

Žluté brambory byly respondenty označeny vzhledově a barvou jako přijatelnější. To lze vysvětlit i zvyklostí populace na hranolky žluté barvy, které jsou datovány od 17. století (Randall 2014). Z výsledků této práce vyplývá, že není statisticky významný rozdíl v chuti mezi jednotlivými odrůdami. Naopak fialové brambory měly nižší intenzitu pachutí a žluklé chuti. Z výsledků studie Kaspar et al. (2013) též vyplývá, že nebyl pozorován žádný významný rozdíl v celkové přijatelnosti u pečených žlutých a fialových odrůd brambor.

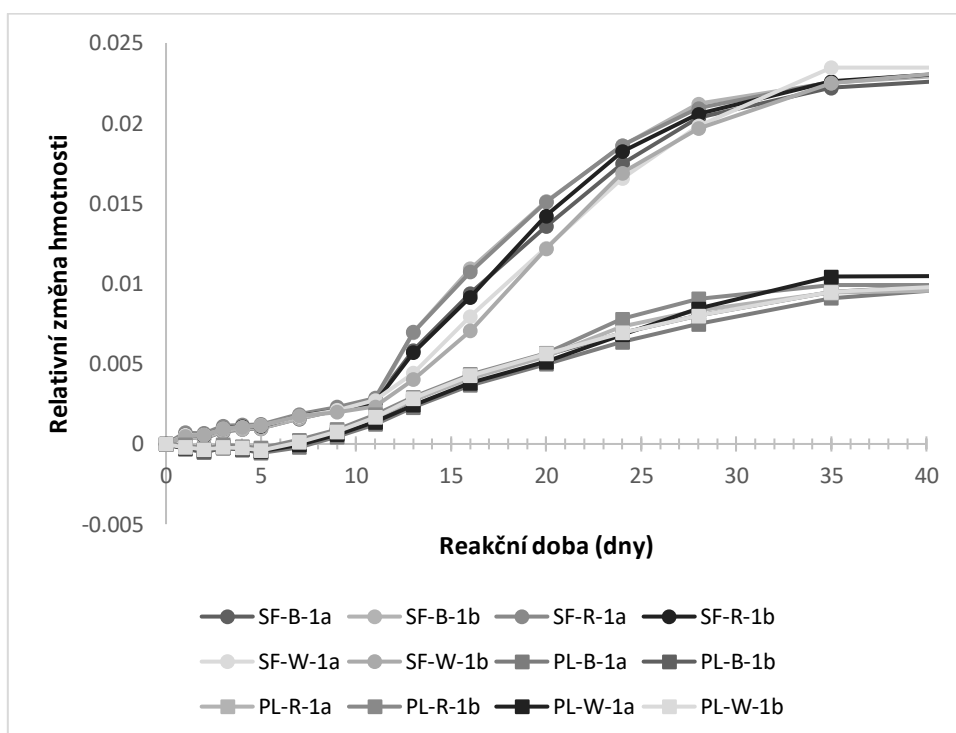
#### **4.3.2 Experiment IIIb: Vliv barevných odrůd brambor na stabilitu smažicího média**

##### **4.3.2.1 Zrychlený oxidační Schaalův test**

V grafech (obrázky 23-26) jsou znázorněny křivky Schaalova testu všech analyzovaných vzorků. Z křivek vynesných na grafech v obrázcích 23-26 byly odečteny indukční periody (IP), které jsou zaznamenány v tabulce 11. Na základě indukčních period byla porovnána oxidační stabilita jednotlivých vzorků.

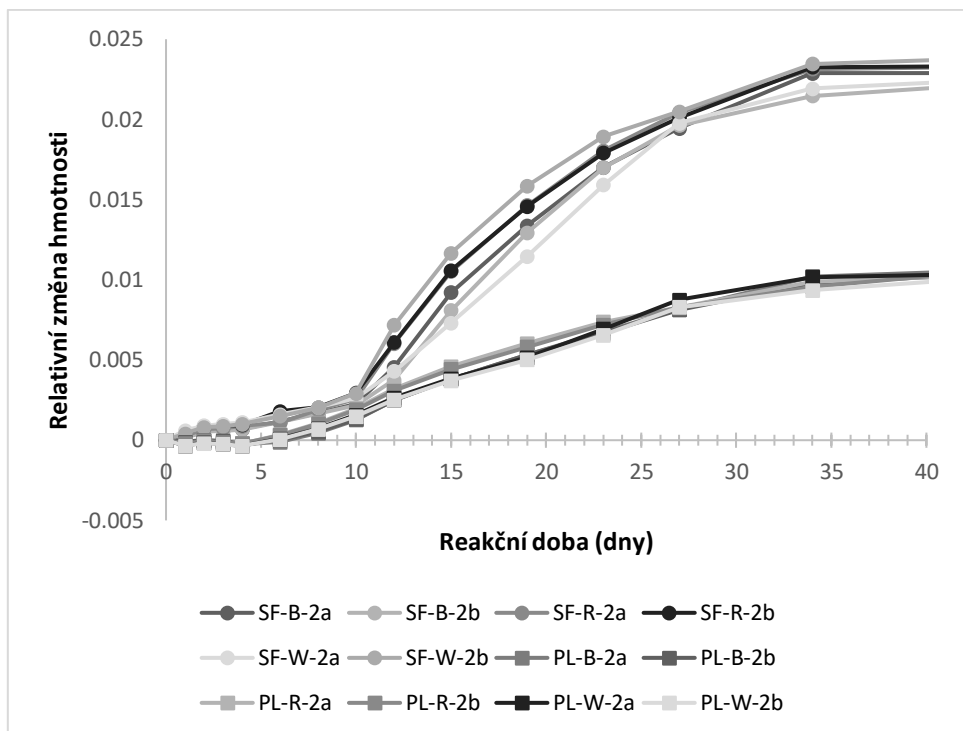


**Obrázek 23:** Oxidační stabilita slunečnicového oleje a sádla (kontrola, bez tepelné úpravy)  
 SF-Con = slunečnicový olej, kontrola; PL-Con = vepřové sádlo, kontrola



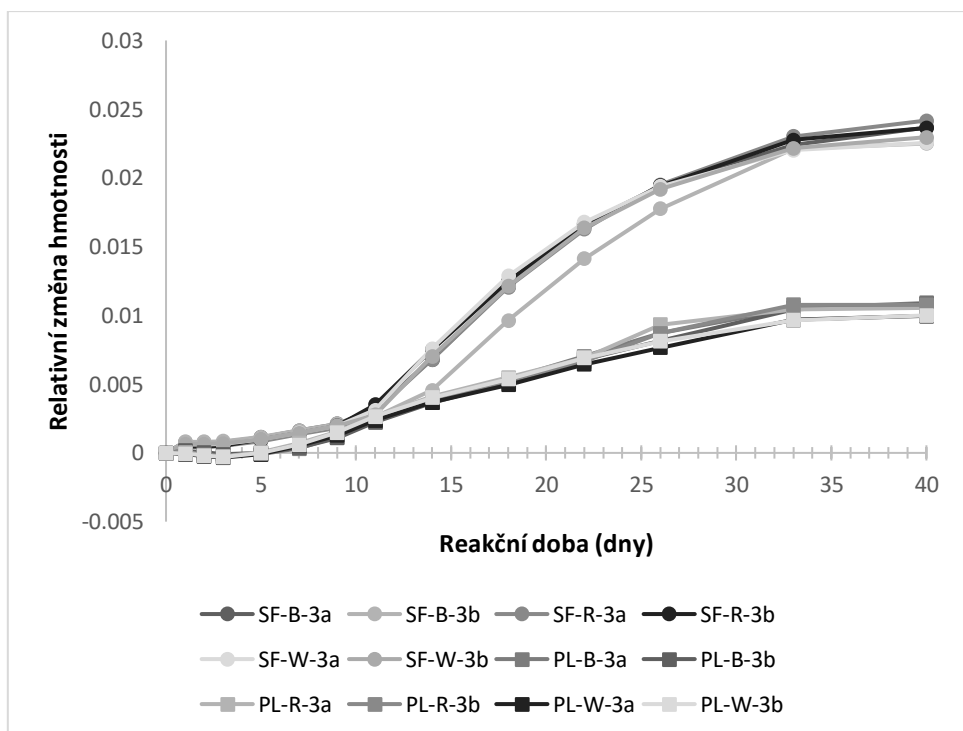
**Obrázek 24:** Oxidační stabilita slunečnicového oleje a sádla po 1. smažení

SF-B = slunečnicový olej – modré brambory; SF-W = slunečnicový olej – bílé brambory; SF-R = slunečnicový olej – červené brambory; PL-B = vepřové sádlo – modré brambory; PL-W = vepřové sádlo – bílé brambory; PL-R = vepřové sádlo – červené brambory



**Obrázek 25:** Oxidační stabilita slunečnicového oleje a sádla po 2. smažení

SF-B = slunečnicový olej – modré brambory; SF-W = slunečnicový olej – bílé brambory; SF-R = slunečnicový olej – červené brambory; PL-B = vepřové sádlo – modré brambory; PL-W = vepřové sádlo – bílé brambory; PL-R = vepřové sádlo – červené brambory



**Obrázek 26:** Oxidační stabilita slunečnicového oleje a sádla po 3. smažení

SF-B = slunečnicový olej – modré brambory; SF-W = slunečnicový olej – bílé brambory; SF-R = slunečnicový olej – červené brambory; PL-B = vepřové sádlo – modré brambory; PL-W = vepřové sádlo – bílé brambory; PL-R = vepřové sádlo – červené brambory

**Tabulka 11:** Indukční periody (dny) stanovené z relativního nárůstu hmotnosti.

Vzorek	IP (dny)
Kontrola – sádlo	-
Kontrola – slunečnicový olej	13
Sádlo – 1. smažení	-
Slunečnicový olej – 1. smažení	11
Sádlo – 2. smažení	-
Slunečnicový olej – 2. smažení	10
Sádlo – 3. smažení	-
Slunečnicový olej – 3. smažení	10

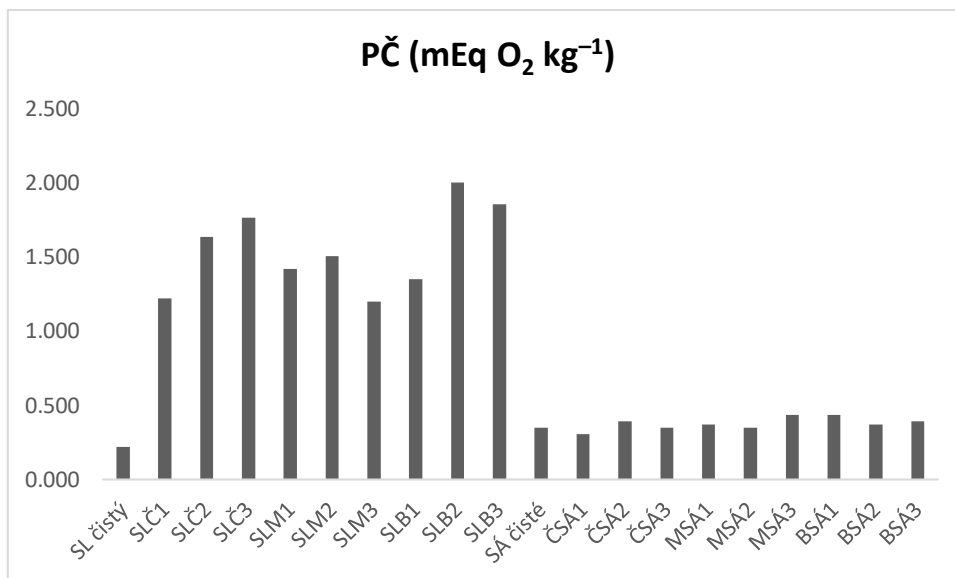
V experimentu IIIb nebyl prokázán významný rozdíl ve stabilitě u různých odrůd/barev brambor. Rozdíl se ukazuje pouze ve stabilitě média, kde sádlo vykazuje vyšší oxidační stabilitu než slunečnicový olej. Jedná se o předpokládaný výsledek, jelikož sádlo je výrazně méně nenasycené (má nižší podíl polyenových MK). U sádla nebylo možné určit indukční periodu – nenastal výrazný zlom a nárůst radikálové řetězové reakce.

#### 4.3.2.2 Peroxidové číslo (PČ) a číslo kyselosti (ČK)

**Tabulka 12:** Peroxidové číslo a číslo kyselosti v průběhu jednotlivých smažení

Vzorek	PČ (mEq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	ČK (mg KOH g <sup>-1</sup> )
SL čistý	0,218	0,090
SLČ1	1,221	0,180
SLČ2	1,636	0,269
SLČ3	1,767	0,180
SLM1	1,419	0,180
SLM2	1,506	0,090
SLM3	1,200	0,224
SLB1	1,353	0,180
SLB2	2,004	0,090
SLB3	1,855	0,090
SÁ čisté	0,348	0,539
ČSÁ1	0,305	0,539
ČSÁ2	0,393	0,719
ČSÁ3	0,349	0,719
MSÁ1	0,370	0,719
MSÁ2	0,349	0,719
MSÁ3	0,436	0,539
BSÁ1	0,436	0,674
BSÁ2	0,370	0,674
BSÁ3	0,392	0,674

SL = slunečnicový olej; SÁ = sádlo; SLM = slunečnicový olej – modré brambory (1-3. smažení); SLB = slunečnicový olej – bílé brambory (1-3. smažení); SLČ = slunečnicový olej – červené brambory (1-3. smažení); MSÁ = vepřové sádlo – modré brambory (1-3. smažení); BSÁ = vepřové sádlo – bílé brambory (1-3. smažení); ČSÁ = vepřové sádlo – červené brambory (1-3. smažení); PČ = peroxidové číslo; ČK = číslo kyselosti



**Obrázek 27:** Peroxidové číslo v průběhu jednotlivých smažení

SL = slunečnicový olej; SÁ = sádlo; SLM = slunečnicový olej – modré brambory (1-3. smažení); SLB = slunečnicový olej – bílé brambory (1-3. smažení); SLČ = slunečnicový olej – červené brambory (1-3. smažení); MSA = vepřové sádlo – modré brambory (1-3. smažení); BSA = vepřové sádlo – bílé brambory (1-3. smažení); ČSÁ = vepřové sádlo – červené brambory (1-3. smažení)

Peroxidové číslo (PČ) je užitečným indikátorem oxidace v počáteční fázi, ale nesouvisí s dobou smažení (Atinafu & Bodemo 2011). Cheman a Wanhussin (1998) uvedli, že kvalitní rostlinný olej by měl mít PČ nižší než 2 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. Sabolová et al. (2020) uvádí hodnoty PČ u rafinovaných slunečnicových olejů  $3,9 \pm 0,0$  a  $2,7 \pm 0,1$  mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. Hodnota naměřená v této práci byla 0,22 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. Snížení PČ během smažení bylo pozorováno několika výzkumníky (White 1991; Zhanget al. 2007). Primárním produktem oxidace lipidů jsou hydroperoxy (Allendorf 2010). Pokles PČ je dán rozkladem hydroperoxidů během smažení. PČ je mimo jiné ovlivněno zastoupením mastných kyselinami a délkou nebo podmínkami skladování (Nayak et al. 2016).

Výsledky zjištěné v dřívějších studiích (Tsaknis & Lalas 2002; Abdulkarim et al. 2007; Ali et al. 2014) ukazují nárůst peroxidů, dokud není dosaženo maxima, které je následováno jejich poklesem, v důsledku jejich reakcí a degradací na jiné sloučeniny, jako jsou aldehydy a ketony (sekundární sloučeniny oxidace olejů). Debnath et al. (2012) uvedli, že PČ je dobrým indikátorem oxidace lipidů za normálních skladovacích podmínek. Hydroperoxy jsou počátečními reakčními produkty oxidace lipidů a jsou zodpovědné za primární oxidaci. Při

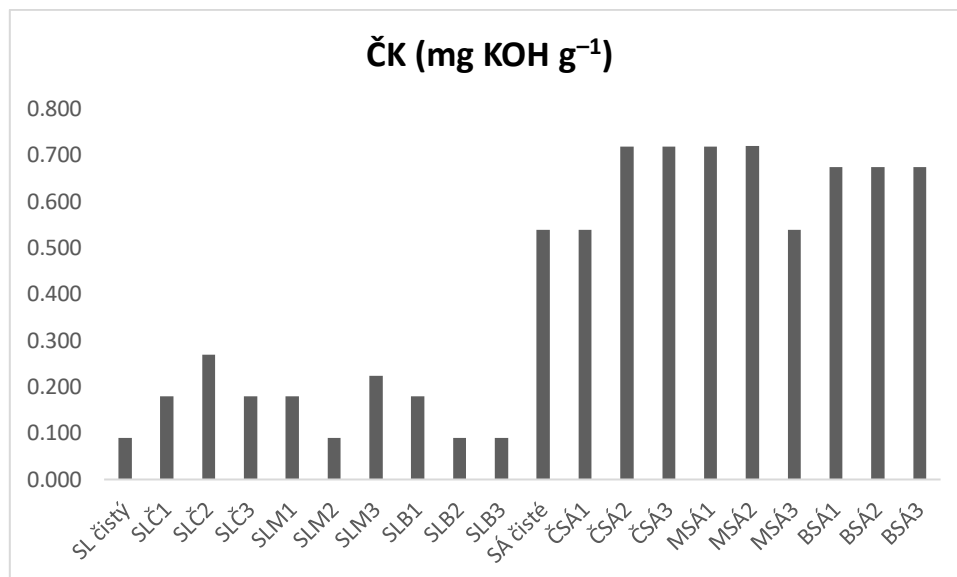
vysokých teplotách se však hydroperoxydy rychle rozkládají a následně vytváří sekundární oxidační produkty (Man & Hussain, 1998). Marinova et al. (2012) zkoumali vliv zahřátí na 180 °C na PČ vzorků oleje a zjistili, že PČ není vhodné pro sledování změn lipidů při smažení, ale pouze pro sledování žluknutí lipidů během skladování. Použití oleje na smažení nevede k podstatnému zvýšení PČ, protože peroxidy se při teplotách nad 150 °C spontánně rozkládají (Marmesat et al. 2010).

Velké zvýšení PČ během smažení ve slunečnicovém oleji může být důsledkem značného množství nenasycených mastných kyselin (zejména linolové kyseliny), které se rychle oxidují (Almrhag & Abookleesh 2016). Výsledky srovnání smažení při 130 a 170 °C (Kaleem et al. 2015) ukázaly vyšší % nárůst hodnot PČ nad 20 °C u dvou značek slunečnicového oleje na smažení. Oba oleje vykazovaly zvyšující se PČ při 130 °C, které se následně snižovalo při 170 °C. Jiná studie poskytuje stejné výsledky PČ pro čtyři různé značky slunečnicového oleje (Al-Fatlawi & Abbas 2010) s mírným rozdílem v hodnotě, ale se stejným trendem. Uvádějí, že PČ bylo u slunečnicového oleje před zahřátím 1,58 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>, po 4h zahřátí 11,23 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> a po 8h zahřátí 16,40 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> (Cocan et al. 2021). V dalším výzkumu (Budryn et al. 2011) bylo počáteční PČ samotného slunečnicového oleje (kontroly) 2,7 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> a po 12týdenním skladování se zvýšilo přibližně 25krát (na 67,2 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>). Slunečnicový olej, jehož peroxidové číslo bylo na začátku 1,77 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>, se po konvekčním zahřátí dostal po 4 hodinách na hodnotu PČ 12,05 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> a po zahřátí v mikrovlnné troubě na hodnotu 16,21 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> (Poiana 2012). V práci Fišnar et al. (2018) byla hodnota PČ slunečnicového oleje po zahřátí na 175-185 °C po dobu 20 min 1,9 ± 0,2 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. Při srovnání extra panenských slunečnicových olejů se zjistilo, že u 23 z 24 variant bylo PČ po 8 dnech Schaalova testu (při 63 ± 2 °C) výrazně vyšší než u oleje rafinovaného. U rafinovaného oleje se PČ zvýšilo z 1,12 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> na 7,39 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> a u většiny extra panenských olejů byly hodnoty orientačně 10násobně vyšší (Lužaić et al. 2022). Na druhou stranu Kurhade a Waghmare (2014) testovali PČ rafinovaného slunečnicového oleje 0., 4. a 8. den Schaalova testu v sušárně a získali následující hodnoty: 6,87, 21,78 a 45,56 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. Rozdíly ve zmíněných hodnotách oproti kontrolnímu vzorku v této práci (RSO) jsou pravděpodobně způsobené rozdíly ve složení mastných kyselin olejů.

Sabolová et al. (2020) uvádí PČ pro vepřové sádlo 3,2 ± 0,0 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. V této práci byla naměřena hodnota 0,35 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. V jiné studii se po 12 týdnech skladování samotného



sádla (kontroly) PČ zvýšilo z 0,6 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> na 10,6 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> (Budryn et al. 2011). V dalším výzkumu se peroxidové číslo u sádla zvýšilo 0,76 na 71,04 mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> během 100 smažení kuřecích nuget (Park et Kim 2016).



**Obrázek 28:** Číslo kyselosti v průběhu jednotlivých smažení

SL = slunečnicový olej; SÁ = sádlo; SLM = slunečnicový olej – modré brambory (1-3. smažení); SLB = slunečnicový olej – bílé brambory (1-3. smažení); SLČ = slunečnicový olej – červené brambory (1-3. smažení); MSÁ = vepřové sádlo – modré brambory (1-3. smažení); BSÁ = vepřové sádlo – bílé brambory (1-3. smažení); ČSÁ = vepřové sádlo – červené brambory (1-3. smažení)

Množství volných mastných kyselin (FFA) vyjádřené číslem kyselosti (ČK) je počet miligramů KOH potřebných k neutralizaci volných mastných kyselin přítomných v 1 g oleje (Nayak et al. 2016). Jedná se o rychlou a spolehlivou metodu sledování stability oleje během smažení (Bensmira et al. 2007). Hydrolyza triacylglycerolů a rozklad hydroperoxidů při vysoké teplotě, za přítomnosti vody a vzduchu vede ke vzniku FFA. Zejména to poškozuje stabilitu média na smažení a smažených potravin. FFA se rychle oxidují a katalyzují další oxidaci polynenasycených tuků (Urbancic et al. 2014). Maximální povolená hodnota FFA se liší v závislosti na typu smaženého pokrmu a počtu dávek během smažení (Shaker 2014). Gunstone (2008) navrhl, že obsah FFA v rafinovaném oleji by měl být méně než 0,1 %, protože většina volných mastných kyselin se ze surového oleje odstraní během procesu rafinace. Pro průmyslovou výrobu bramborových lupínků byla jako prahová hodnota uváděna úroveň 0,5 % FFA (pro vyřazení použitého oleje na smažení), zatímco maximální hodnota 1 % FFA je obvykle povolena pro zpracovatele předsmažených hranolků (Ismail 2005). Vyšší koncentrace

FFA jsou tolerovány v případě oleje používaného na smažení v těstíčku a obalovaných výrobcích (2–2,5 %) (Tarmizi et al. 2013).

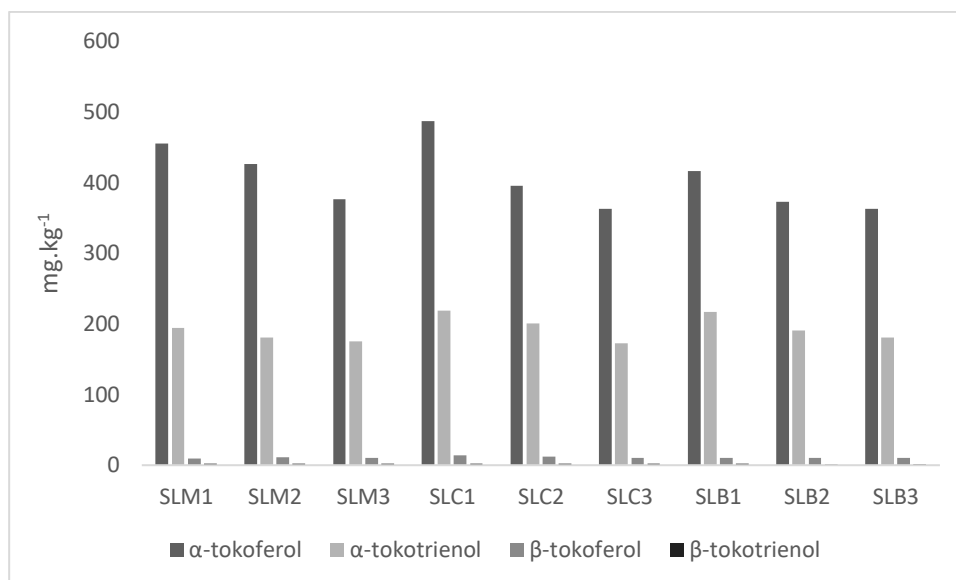
Sabolová et al. (2020) uvádí u rafinovaných slunečnicových olejů hodnoty ČK  $0,31 \pm 0,31$  a  $0,05 \pm 0,01$  mg KOH g<sup>-1</sup>. Hodnota naměřená v této práci byla 0,09 mg KOH g<sup>-1</sup>. V práci Al-Fatlawi a Abbas (2010) se číslo kyselosti u slunečnicových olejů v průběhu smažení či samotného zahřátí (130 °C na 170 °C) obecně zvýšilo, ať už byly oleje čisté, nebo byly s potravinami: brambory, mleté maso a ryby. Změna teploty způsobila zejména snížení čísla kyselosti - Bizce čistý olej z 0,97 na 0,71 mg KOH, použití oleje Bizce s potravinami: z 0,64 na 0,38 mg KOH při smažení brambor a z 0,71 na 0,70 mg KOH u smažení mletého masa. Snížení čísla kyselosti bylo také zaznamenáno při použití oleje Alkair s potravinami: z 0,61 na 0,47 mg KOH u brambor a z 0,61 na 0,59 mg KOH u mletého masa. V této práci byla maximální hodnota čísla kyselosti pro potraviny: smažené při 130 °C a 170 °C 0,71 mg KOH pro mleté maso smažené při 130 °C při použití oleje Bizce a 0,66 mg KOH pro ryby smažené při 170 °C při použití oleje Sandy.

Sabolová et al. (2020) uvádí u vepřového sádla hodnotu ČK  $1,18 \pm 0,05$  mg KOH g<sup>-1</sup>. V této práci byla naměřena hodnota 0,54 mg KOH g<sup>-1</sup>. Číslo kyselosti se u sádla zvýšilo z 0,36 na 4,47 po 100 smaženích kuřecích nuget (Park & Kim 2016). A Lee et al. (2013) poukazuje na to, že ČK se zvyšuje se zvyšujícím se počtem cyklů smažení bez ohledu na typ oleje. Oxidační změny v různých kulinářských tucích jsou tedy značně ovlivněny faktory souvisejícími s jejich chemickým složením (Park & Kim 2016).

V našem experimentu se PČ a ČK (obrázky 27 a 28 a tabulka 12) lišily významně v závislosti na použitém smažicím médiu – ČK bylo nižší u slunečnicového oleje a PČ nižší ve vepřovém sádle. Vliv barvy brambor se v jednotlivých smaženích ukázal jako nevýznamný.

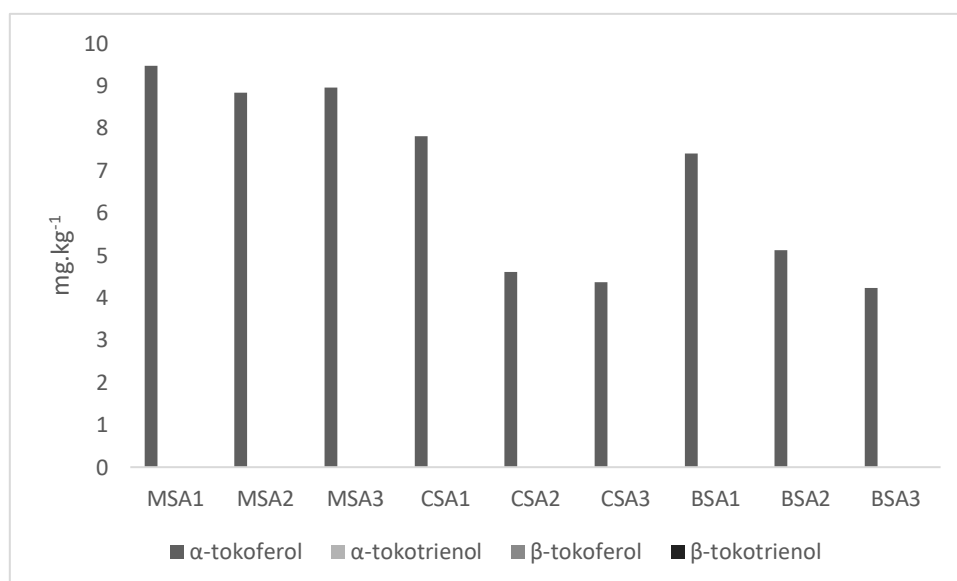
#### **4.3.2.3 Obsah tokolů**

Obsah tokolů (obrázky 29 a 30, tabulka 13) je dalším důležitým faktorem pro stanovení oxidační stability rostlinných olejů. Tokoly hrají důležitou roli při zachycování hydroperoxidových meziproduktů a zastavení autooxidační řetězové reakce a  $\alpha$ -tokoferol je nejúčinnější při vychytávání peroxylových radikálů (Kamal-Eldin 2006).



**Obrázek 29:** Obsah tokolů ve slunečnicovém oleji v průběhu 3 smažení barevných odrůd brambor

SLM = slunečnicový olej – modré brambory (1-3. smažení); SLB = slunečnicový olej – bílé brambory (1-3. smažení); SLČ = slunečnicový olej – červené brambory (1-3. smažení)



**Obrázek 30:** Obsah tokolů ve vepřovém sádle v průběhu 3 smažení barevných odrůd brambor

MSÁ = vepřové sádlo – modré brambory (1-3. smažení); BSÁ = vepřové sádlo – bílé brambory (1-3. smažení); ČSÁ = vepřové sádlo – červené brambory (1-3. smažení)

**Tabulka 13:** Obsah tokolů (mg.kg<sup>-1</sup>) ve slunečnicovém oleji a ve vepřovém sádle v průběhu 3 smažení barevných odrůd brambor

	$\alpha$ -tokoferol	$\alpha$ -tokotrienol	$\beta$ -tokoferol	$\beta$ -tokotrienol
SLM1	455,48	194,12	9,77	2,55
SLM2	425,8	180,63	10,84	2,23
SLM3	376,26	175,01	10,25	2,35
SLC1	486,5	218,38	13,9	2,57
SLC2	395	200,31	12,35	2,4
SLC3	362,48	172,91	9,95	1,77
SLB1	416,46	217,1	10,25	2,5
SLB2	372,42	190,4	10,19	0,9
SLB3	362,48	180,33	10,35	1,32
MSA1	9,47	<0,4	<0,4	<0,4
MSA2	8,83	<0,4	<0,4	<0,4
MSA3	8,95	<0,4	<0,4	<0,4
CSA1	7,8	<0,4	<0,4	<0,4
CSA2	4,6	<0,4	<0,4	<0,4
CSA3	4,36	<0,4	<0,4	<0,4
BSA1	7,4	<0,4	<0,4	<0,4
BSA2	5,12	<0,4	<0,4	<0,4
BSA3	4,22	<0,4	<0,4	<0,4

SLM = slunečnicový olej – modré brambory (1-3. smažení); SLB = slunečnicový olej – bílé brambory (1-3. smažení); SLČ = slunečnicový olej – červené brambory (1-3. smažení); MSÁ = vepřové sádlo – modré brambory (1-3. smažení); BSÁ = vepřové sádlo – bílé brambory (1-3. smažení); ČSÁ = vepřové sádlo – červené brambory (1-3. smažení)

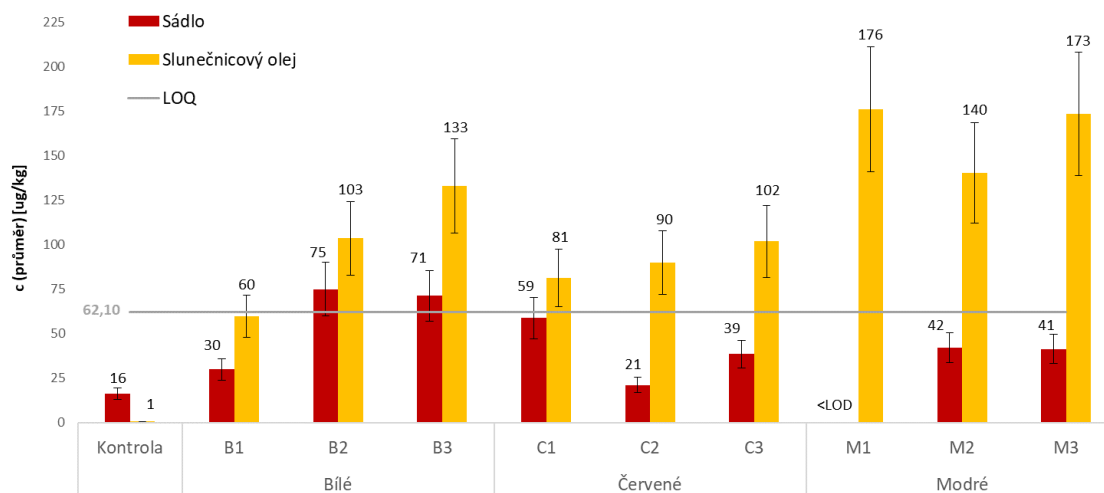
Obsah  $\alpha$ -tokoferolu, který byl z tokolů obsažen ve slunečnicovém oleji nejvíce, byl po prvním smažení  $452,81 \pm 35,1$  mg.kg<sup>-1</sup>, po druhém smažení  $397,74 \pm 26,8$  mg.kg<sup>-1</sup> a po třetím smažení  $367,1 \pm 7,96$  mg.kg<sup>-1</sup>. V průběhu smažení tedy docházelo k jeho ztrátám. Obsah  $\alpha$ -tokotrienolů byl ve slunečnicovém oleji prvním smažení  $209,87 \pm 13,65$  mg.kg<sup>-1</sup>, po druhém smažení  $190,45 \pm 9,84$  mg.kg<sup>-1</sup> a po třetím smažení  $176,08 \pm 3,82$  mg.kg<sup>-1</sup>. I v jejich případě docházelo v průběhu smažením ke ztrátám. Obsah  $\beta$ -tokoferolů byl ve slunečnicovém oleji prvním smažení  $11,31 \pm 2,26$  mg.kg<sup>-1</sup>, po druhém smažení  $11,13 \pm 1,11$  mg.kg<sup>-1</sup> a po třetím smažení  $10,18 \pm 0,21$  mg.kg<sup>-1</sup>. Obsah  $\beta$ -tokotrienolů byl ve slunečnicovém oleji prvním smažení  $2,54 \pm 0,04$  mg.kg<sup>-1</sup>, po druhém smažení  $1,84 \pm 0,82$  mg.kg<sup>-1</sup> a po třetím smažení

1,81 ± 0,52 mg.kg<sup>-1</sup>. V analýze Wen et al. (2020) obsahoval slunečnicový olej v průměru 718,4 mg.kg<sup>-1</sup> (542,1-870, 5 mg.kg<sup>-1</sup>) α-tokoferolu. Obsah α-tokotrienolu, β-tokoferolu a β-tokotrienolu byl pod mezí detekce. K téměř stejným výsledkům došli i Sabolová et al. (2020), kteří naměřili u rafinovaných slunečnicových olejů 718 ± 12,6 a 671,6 ± 7,9 mg.kg<sup>-1</sup> α-tokoferolů. Obsah β- a γ-tokoferolů byl 34,9 ± 0,5 mg.kg<sup>-1</sup> a u druhého rafinovaného slunečnicového oleje pod mezí detekce (stejně tak obsah všech tokotrienolů). Ergönül a Köseoğlu (2014) ve své práci uvádějí obsah 613-671 mg.kg<sup>-1</sup> α-tokoferolů a 20-40 mg.kg<sup>-1</sup> β-tokoferolů, San Andrés et al. (2011) uvádějí při stavení HPLC s různými typy detekce (UV a fluorescenční) 690 ± 10 a 720 ± 20 mg.kg<sup>-1</sup> α-tokoferolů. Grilo et al. (2014) naměřili 432,3 ± 86,6 mg.kg<sup>-1</sup> α-tokoferolů. Tokoferoly se přirozeně vyskytují ve většině rostlinných olejů a jejich rychlost degradace může představovat známku stability olejů na smažení. Je známo, že tokoferoly degradují rychleji, jak se zvyšuje hodnota nasycení oleje (Normand et al. 2001). Například Verleyen et al. (2002) pozorovali rychlejší relativní úbytek α-tokoferolu v purifikovaném TAG slunečnicového oleje s vysokým obsahem kyseliny olejové a palmového oleje ve srovnání s úbytkem α-tokoferolu v TAG klasického slunečnicového oleje a lněného oleje během zahřívání na 240 °C. V práci španělsko-brazílského kolektivu (Barrera-Arellano et al. 2002) bylo šest rostlinných olejů (palmový, olivový, slunečnicový s vysokým obsahem olejové kyseliny, řepkový, sójový a slunečnicový) zahřáto na 180 °C. Po 8 hodinách zahřívání nebyly detekovány téměř žádné tokoferoly v olivovém, palmovém a slunečnicovém oleji s vysokým obsahem kyseliny olejové, ale v řepkovém, slunečnicovém a sójovém oleji byly odpovídající celkové tokoferoly 192, 258 a 601 mg.kg<sup>-1</sup> (Barrera-Arellano et al. 2002). Izomer tokoferolu nacházející se v oleji ve větším množství se ztrácí mnohem rychleji než ten, který se v něm nachází v menším množství (Warner & Moser 2009). V práci Fišnar et al. (2018) bylo množství α-tokoferolu po zahřátí na 175-185 °C po dobu 20 min 539 ± 1 mg.kg<sup>-1</sup>.

Obsah α-tokoferolu, který byl z tokolů obsažen v sádle nejvíce (v porovnání se slunečnicovým olejem však o jeden až dva řády níže, takže jeho příspěvek k oxidační stabilitě sádla bude minimální), byl po prvním smažení 8,22 ± 1,1 mg.kg<sup>-1</sup>, po druhém smažení 6,18 ± 2,31 mg.kg<sup>-1</sup> a po třetím smažení 5,84 ± 2,69 mg.kg<sup>-1</sup>. Obsah α-tokotrienolů, β-tokoferolů a β-tokotrienolů byl pod mezí detekce (<0,4 mg.kg<sup>-1</sup>). Sabolová et al. (2020) naměřili u vepřového sádla 7,1 ± 0,7 mg.kg<sup>-1</sup> α-tokoferolu. Obsah α-tokotrienolu, β-tokoferolu a β-tokotrienolu byl rovněž pod mezí detekce.

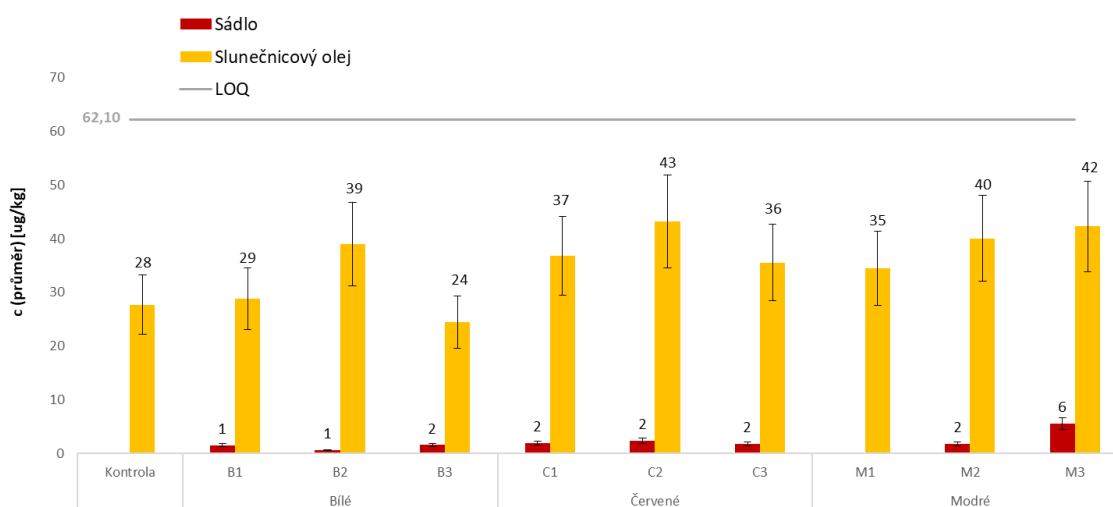
Výsledky práce ve spolupráci s VŠCHT:

#### 4.3.2.4 Stanovení celkového MCPD po hydrolýze (GC-MS/MS)



**Obrázek 31:** Obsah celkového 3-MCPD

Chybové úsečky reprezentují přiřazenou nejistotu metody 20 %



**Obrázek 32:** Obsah celkového 2-MCPD

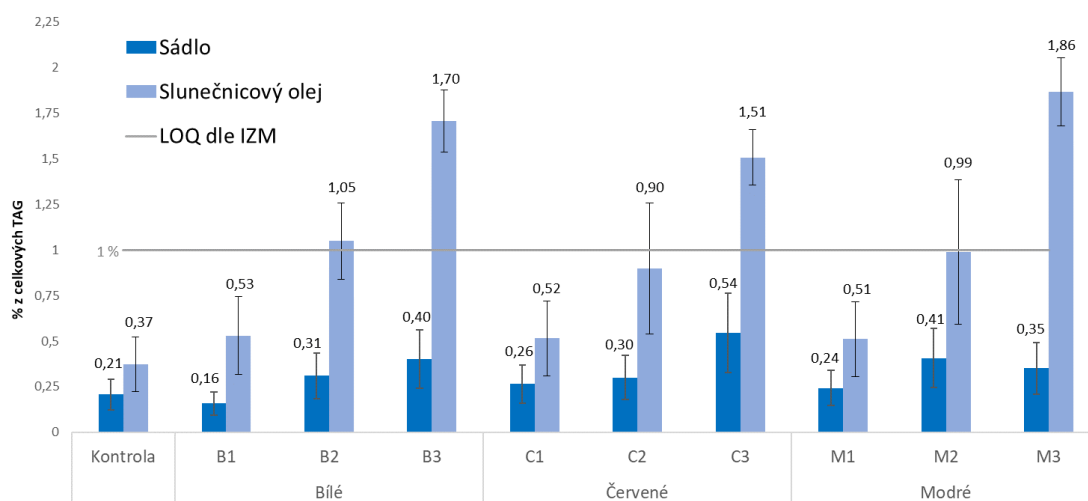
Chybové úsečky reprezentují přiřazenou nejistotu metody 26 %

Z obrázku 31 je patrné, že obsah 3-MCPD měl tendenci ve slunečnicovém oleji stoupat od 1. dne smažení až po 3. den smažení při smažení bílé a červené odrůdy brambor. U slunečnicového oleje ze smažení fialových (modrých) brambor byl obsah vysoký již od prvního smažení. To by mohlo zapříčiněno vyšším obsahem chloridů (přidání NaCl zvýšilo

obsah 3-MCPD v oleji na smažení mimo jiné v práci Wong et al. 2017) či parciálních esterů, což bude předmětem pokračování výzkumu. U sádla byly naměřené hodnoty převážně pod mezí stanovitelnosti a tyto tendence se nám neukazovaly. V práci Xu et al. (2022) se obsah 3-MCPD po každém dni smažení hranolek v sójovém oleji snižoval. V této práci však probíhalo smažení každý den po dobu 8 h, v našem případě pouze jedno denně. Ke stejným závěrům došel i Wong et al. (2017), kteří smažili v palmovém oleinu kuřecí prsa, nicméně i zde smažili každý den po dobu 100 min, takže již v prvním dni byla celková doba smažení delší než v našem experimentu.

Obrázek 32 ukazuje, že obsah 2-MCPD byl i u slunečnicového oleje pod mezí stanovitelnosti (a ve vepřovém sádle v minimálním množství).

#### 4.3.2.5 Stanovení polymerních TAG (HPSEC-RID)



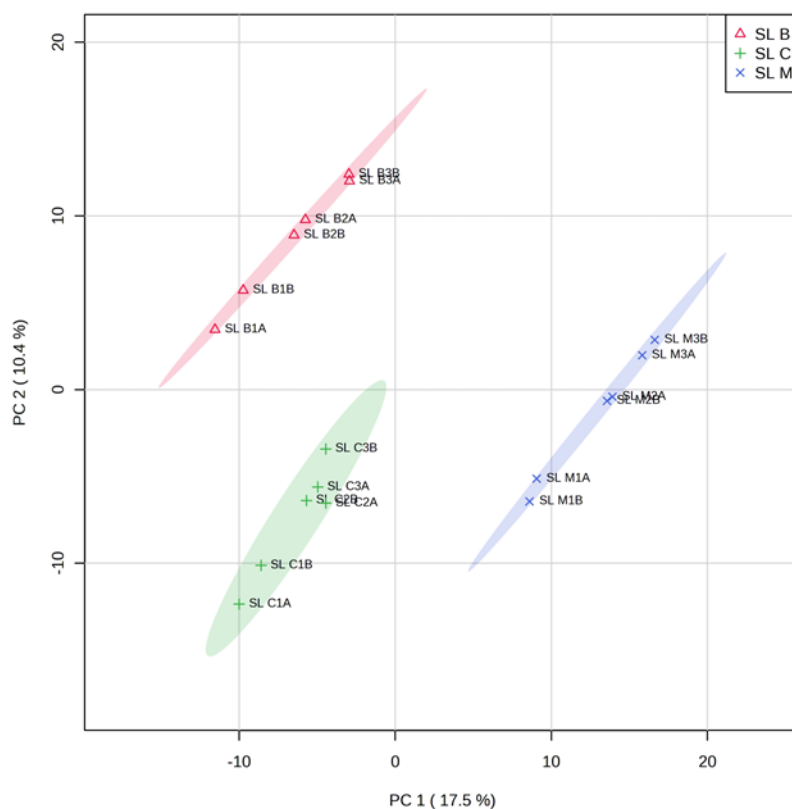
**Obrázek 33:** Obsah polymerních TAG

Mez stanovitelnosti dle IZM = integrovaná zkušební metoda

Z obrázku 33 můžeme vidět, že obsah polymerních TAG, které jsou jedním z ukazatelů kvality oleje na smažení, stoupal s každým smažením. Výsledky jsou vyšší u slunečnicového oleje vzhledem k vyššímu obsahu polyenových MK v porovnání se sádlem. Pouze hodnoty 2. a 3. smažení jsou u slunečnicového oleje nad mezí stanovitelnosti (1 %), u vepřového sádla byl obsah obsah ve všech případech pod limitem kvantifikace. Vzhledem k tomu, že jsme smažili pouze 3x se dá relativně nízký obsah polymerních TAG předpokládat (ve vyšší míře se vyskytují až při delší a násobně opakované tepelné zátěži). Záleží tedy jak na počtu smažení, tak na povaze smažicího média (Hammouda et al., 2019). Hammouda et al. (2019) zjistili, že

na konci procesu smažení (60 po sobě jdoucích) byl nižší obsah polymerních sloučenin (PC) a celkových polárních sloučenin (TPC) zjištěn u směsi rafinovaného olivového oleje z pokrutin a rafinovaného kokosového oleje (ROPO/RCO) s 13,20 % PC a 25 % TPC, ve srovnání se samotným rafinovaným olivovým olejem z pokrutin (ROPO) s 16,9 % PC a 34,5 % TPC. Jak bylo zmíněno již v teoretické rešerši, zdá se, že míchání různých typů olejů může představovat možnost, jak přirozeně zlepšit vlastnosti smažicího média. Mnoho zemí zavedlo regulační limity pro TPC ve fritovacích olejích a za limity považuje 25 % nebo 16 % polymerů (Hammouda et al., 2019).

#### 4.3.2.6 Metabolická analýza (U-HPLC-HRMS/MS)

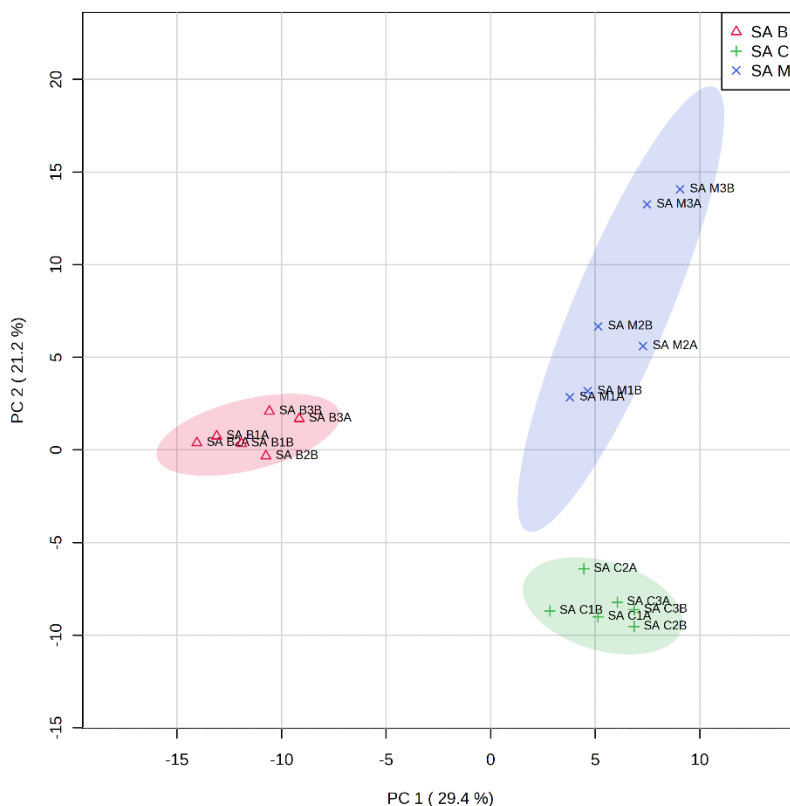


**Obrázek 34:** Necílová analýza: Polární extrakt; ESI+; slunečnicový olej (PCA score); M = fialové, C = červené, B = žluté hlízy brambor

Na obrázku 34 je vidět, že v necílové analýze se nám zřetelně oddělily vzorky slunečnicových olejů, ve kterých byly smaženy brambory různé barvy hlíz. Můžeme tedy říct, že vzorky se shlukují na základě látek, které se mohou ze smažených brambor do smažicí lázně

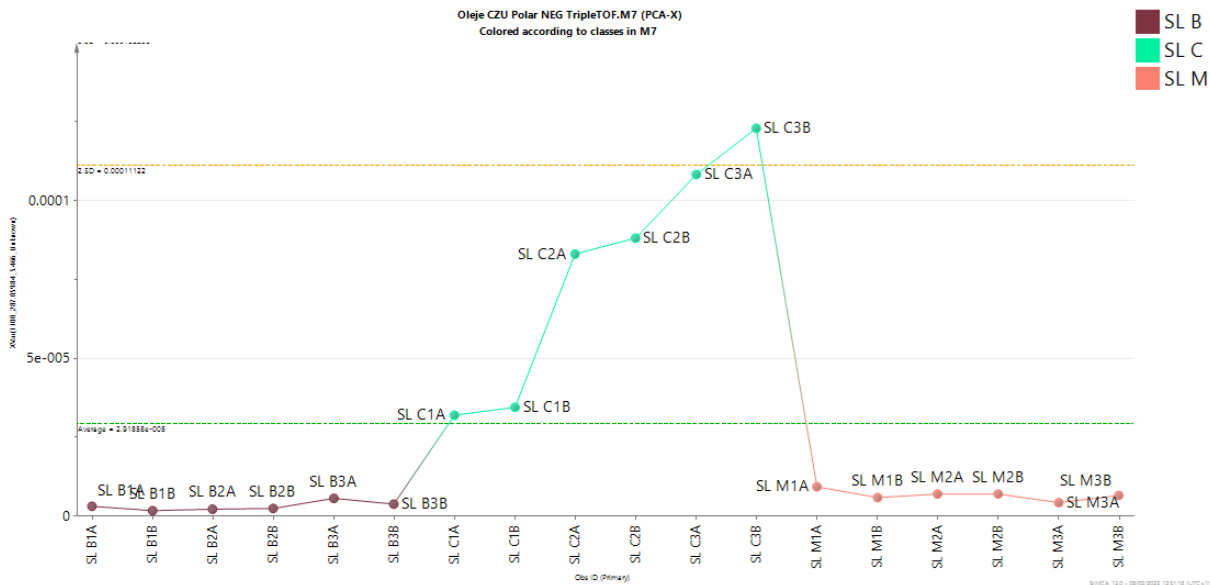


uvolňovat a mohou ovlivňovat změny oleje během smažení. Zároveň je vidět vliv faktoru počet smažení a prostorová orientace shluků ve směru s rostoucím počtem smažení.

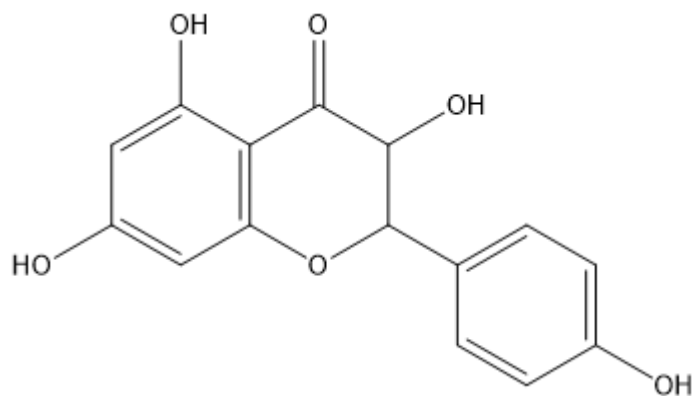


**Obrázek 35:** Necílová analýza: Polární extrakt; ESI-; vepřové sádlo (PCA score); M = fialové, C = červené, B = žluté hlízy brambor

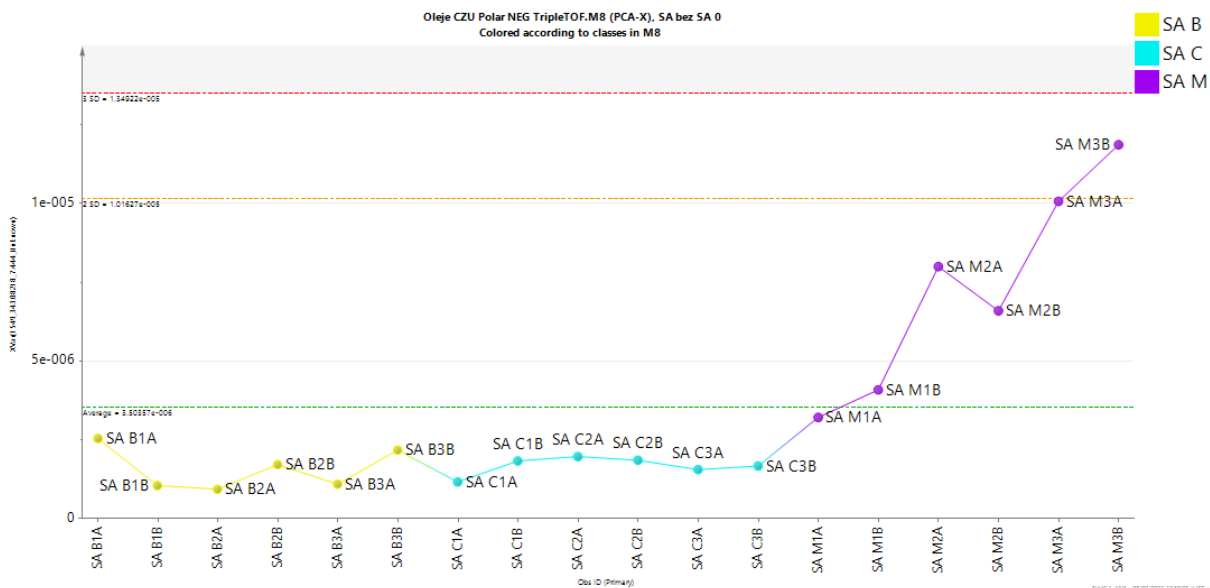
Na obrázku 35 je vidět, že i v případě sádla po jednotlivých smaženích můžeme pozorovat shlukování vzorků dle barvy hlízy smažených brambor. Při smažení u modrých brambor je vidět i stejná tendence vlivu počtu smažení jako u slunečnicového oleje. U ostatních vzorků při smažení brambor jiných barev se vzorky už tak zřetelně neoddělovaly dle počtu smažení.



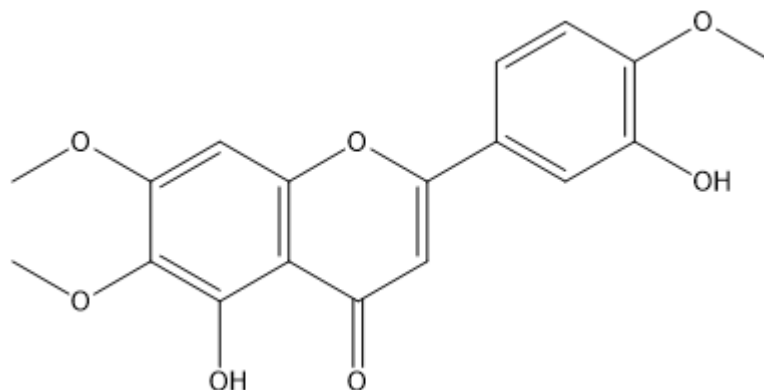
**Obrázek 36:** Identifikace markerů (polární extrakt; ESI-): ID 1100;  $m/z$  287.0577; RT 5.47 min – Dihydrokaempferol (či jeho izomer)



**Obrázek 37:** Dihydrokaempferol



**Obrázek 38:** Identifikace markerů (polární extrakt; ESI-): ID 1549;  $m/z$  343.0822; RT 7.44 min – Eupatorin (či jeho izomer)



**Obrázek 39:** Eupatorin

Při zjišťování markerů, dle kterých se vzorky shlukují, byla jako jedna z látek identifikován dihydrokaempferol (obrázek 37). Byl nalezen ve výrazně vyšším množství ve slunečnicovém oleji po smažení červených brambor, přičemž s počtem smažení se jeho obsah ve smažicím médiu zvyšoval, což je patrné z obrázku 36. Ve vepřovém sádle se nám ukazuje jako marker oddělující vzorky po smažení modrých brambor fenolová sloučenina eupatorin (obrázek 39), jehož množství se rovněž s počtem smažení v médiu zvyšovalo (obrázek 38). Obě tyto sloučeniny patří k významným antioxidantům a mohly by tak přispívat ke zvýšené stabilitě

smažicího média. Jedná se však zatím o první výsledky našeho společného výzkumu na VŠCHT a další analýzy budou teprve probíhat.

#### **4.4 Experiment IV: Nutriční hodnota a oxidační stabilita rybích olejů a doplňků stravy obsahujících n-3 PUFA**

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

Stanovení profilů MK je zpracováno do dvou tabulek. Přehled hlavních MK analyzovaných v doplňcích stravy je uveden v tabulce 14. Celkový obsah SFA se u vzorků pohyboval v rozmezí 7,28 % až 38,70 %, celkový obsah MUFA v rozmezí 18,27 % až 44,54 % a celkový obsah PUFA v rozmezí 20,71 % až 54,71 %. V tabulce 15 je uveden součet EPA a DHA, celkové množství omega-3 a omega-6 PUFA a některé poměry.

**Tabulka 14:** Přehled hlavních MK (%) v analyzovaných doplňcích stravy s n–3 PUFA.

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkrácený zápis</b>	<b>Reflex Nutrition Omega 3</b>	<b>Reflex Nutrition Krill Oil</b>	<b>Health Institute Opti Omega-3 orange</b>	<b>Zinzino Balance Oil+</b>	<b>Möller's rybí olej z tresčích jater</b>
<b>kaprylová</b>	C8:0	0,31	0,52	0,29	1,38	0,98
<b>kaprinová</b>	C10:0	0,27	0,36	-	-	0,17
<b>laurová</b>	C12:0	-	0,14	0,14	0,10	0,20
<b>myristová</b>	C14:0	0,11	8,86	8,02	5,31	4,43
<b>pentadekanová</b>	C15:0	-	0,49	0,56	0,35	0,36
<b>palmitová</b>	C16:0	0,64	25,92	11,45	10,94	9,62
<b>heptadekanová</b>	C17:0	0,28	0,15	0,33	0,22	0,11
<b>stearová</b>	C18:0	2,95	1,60	2,52	2,80	2,22
<b>arachová</b>	C20:0	1,94	0,42	0,59	0,64	0,21
<b>heneikosanová</b>	C21:0	0,48	0,24	0,49	0,25	0,63
<b>behenová</b>	C22:0	0,30	-	0,10	0,12	0,11
<b>celkem SFA</b>		7,28	38,70	24,49	22,11	19,04
<b>myristolejová</b>	C14:1	-	0,11	0,14	0,15	0,11
<b>palmitolejová</b>	C16:1	0,56	5,42	8,53	6,91	8,31
<b>heptadecenová</b>	C17:1	0,13	0,17	0,16	0,14	0,28
<b>olejová</b>	C18:1 n-9	9,55	17,91	13,78	35,17	16,61
<b>asklepová</b>	C18:1 n-11 <i>cis</i>	1,57	0,40	-	-	-
<b>eikosenová</b>	C20:1 n-9	2,58	0,57	1,06	1,12	12,96
<b>cetolejová</b>	C22:1 n-11	2,50	-	0,44	0,39	-
<b>eruková</b>	C22:1 n-9	0,55	0,63	0,17	0,27	1,25
<b>nervonová</b>	C24:1	0,83	0,15	0,56	0,39	0,65
<b>celkem MUFA</b>		18,27	25,36	24,84	44,54	40,17

**Tabulka 14:** Přehled hlavních MK (%) v analyzovaných doplňcích stravy s n-3 PUFA – pokračování.

<b>Mastná kyselina</b>	<b>Zkrácený zápis</b>	<b>Reflex Nutrition Omega 3</b>	<b>Reflex Nutrition Krill Oil</b>	<b>Health Institute Opti Omega-3 orange</b>	<b>Zinzino Balance Oil+</b>	<b>Möller's rybí olej z tresčích jater</b>
<b>ALA</b>	C18:3 n-3	1,16	0,77	0,99	0,75	0,76
<b>eikosatrienová</b>	C20:3 n-3	0,30	0,12	0,11	-	0,17
<b>EPA</b>	C20:5 n-3	28,90	16,41	17,29	12,40	7,94
<b>DPA</b>	C22:5 n-3	1,80	-	2,52	1,46	1,28
<b>DHA</b>	C22:6 n-3	22,55	8,82	13,36	6,48	10,56
<b>LA</b>	C18:2 n-6 <i>cis</i>	1,04	2,31	1,33	3,12	2,15
<b>linolelaidová</b>	C18:2 n-6 <i>trans</i>	0,59	0,28	0,18	0,21	0,36
<b>eikosadienová</b>	C20:2 n-6	1,94	1,78	3,42	1,87	2,64
<b>dokosadienová</b>	C22:2 n-6	1,62	0,29	0,93	0,61	0,67
<b>GLA</b>	C18:3 n-6	0,15	0,15	0,29	0,16	0,15
<b>dihomo-<math>\gamma</math>-linolenová</b>	C20:3 n-6	0,31	-	0,21	0,14	6,52
<b>AA</b>	C20:4 n-6	2,35	0,56	1,13	0,93	0,45
<b>celkem PUFA</b>		62,71	31,49	41,76	28,13	33,65

Ostatní MK detekovány v množství pod 0,5 %.

**Tabulka 15:** Součet EPA a DHA, celkové množství omega-3 a omega-6 PUFA a jejich poměry.

	<b>Reflex Nutrition Omega 3</b>	<b>Reflex Nutrition Krill Oil</b>	<b>Health Institute Opti Omega-3 orange</b>	<b>Zinzino Balance Oil+</b>	<b>Möller's rybí olej z tresčích jater</b>
<b>EPA + DHA</b>	51,45	25,23	30,65	18,88	18,50
<b>omega-3 celkem</b>	54,71	26,12	34,27	21,09	20,71
<b>omega-6 celkem</b>	7,41	5,09	3,89	6,83	12,58
<b>omega-3 : omega-6</b>	7,38:1	5,13:1	8,81:1	3,09:1	1,65:1
<b>SFA : MUFA : PUFA</b>	1:2,51:8,61	1,53:1:1,24	1:1,01:1,71	1:2,01:1,27	1:2,11:1,77

#### 4.4.2 Stanovení obsahu sušiny

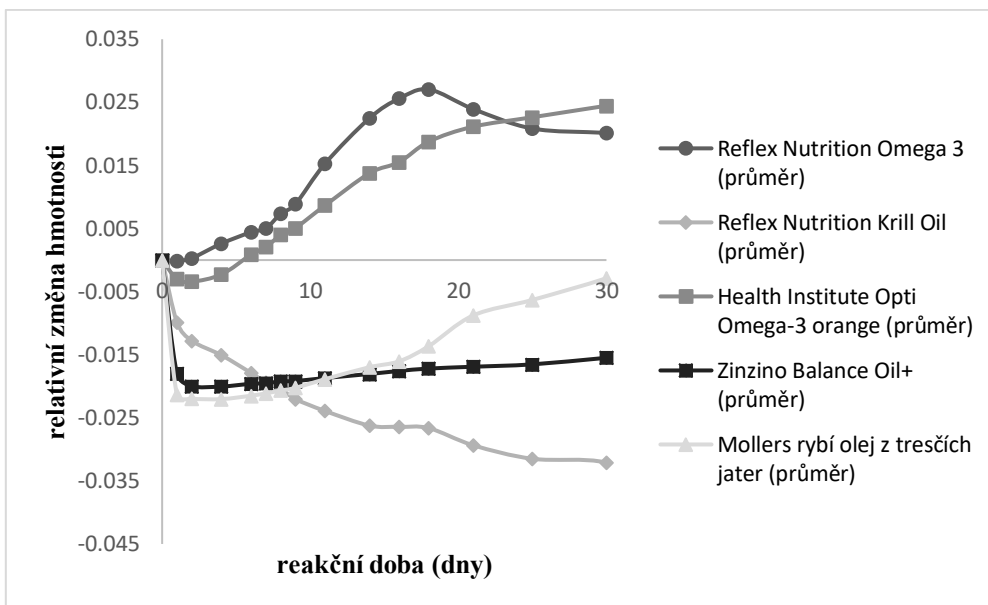
Stanovený obsah vody a sušiny v analyzovaných doplňcích stravy s n-3 PUFA je uveden v tabulce 16. Obsah sušiny se u vzorků pohyboval v rozmezí od 96,5 % do 99,9 %. Nejméně sušiny obsahoval Reflex Nutrition Krill Oil, naopak nejvíce sušiny Reflex Nutrition Omega 3.

**Tabulka 16:** Stanovený obsah sušiny a vody (v %) u doplňků stravy s n-3 PUFA ( $\pm$ SD).

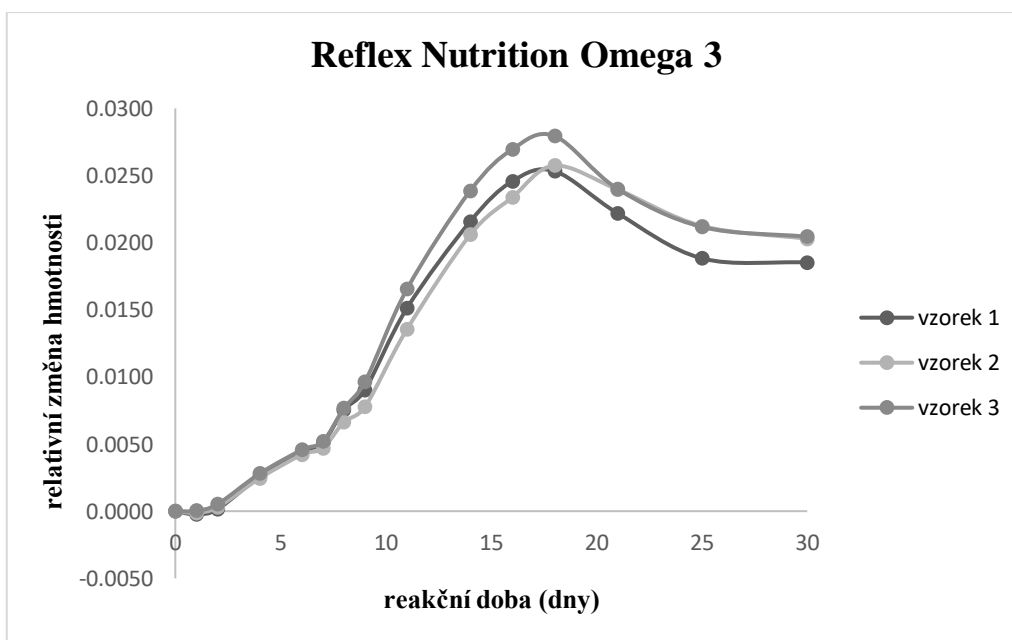
Vzorek	Obsah vody (%)	Průměr (%) $\pm$ SD	Obsah sušiny (%)	Průměr (%)
<b>Reflex Nutrition Omega 3</b>	- 0,0483	0,0483	- 99,9517	99,9
<b>Reflex Nutrition Krill Oil</b>	3,5188 3,4446	3,4817 $\pm$ 0,0371	96,4812 96,5554	96,5
<b>Health Institute Opti Omega-3 orange</b>	0,0295 0,1490	0,0893 $\pm$ 0,0598	99,9705 99,8510	99,9
<b>Zinzino BalanceOil+</b>	0,9317 0,9560	0,9438 $\pm$ 0,0121	99,0683 99,0440	99,0
<b>Möller's rybí olej z tresčích jater</b>	1,4045 1,5903	1,4974 $\pm$ 0,0929	98,5955 98,4097	98,5

#### 4.4.3 Stanovení oxidační stability Schaalovým testem

V obrázku 40 jsou souhrnně znázorněny křivky Schaalova testu všech analyzovaných vzorků. Z křivek vynesných na grafech na obrázku 41-45 byly odečteny indukční periody (IP), které jsou zaznamenány v tabulce 17. Na základě indukčních period byla porovnána oxidační stabilita jednotlivých vzorků.

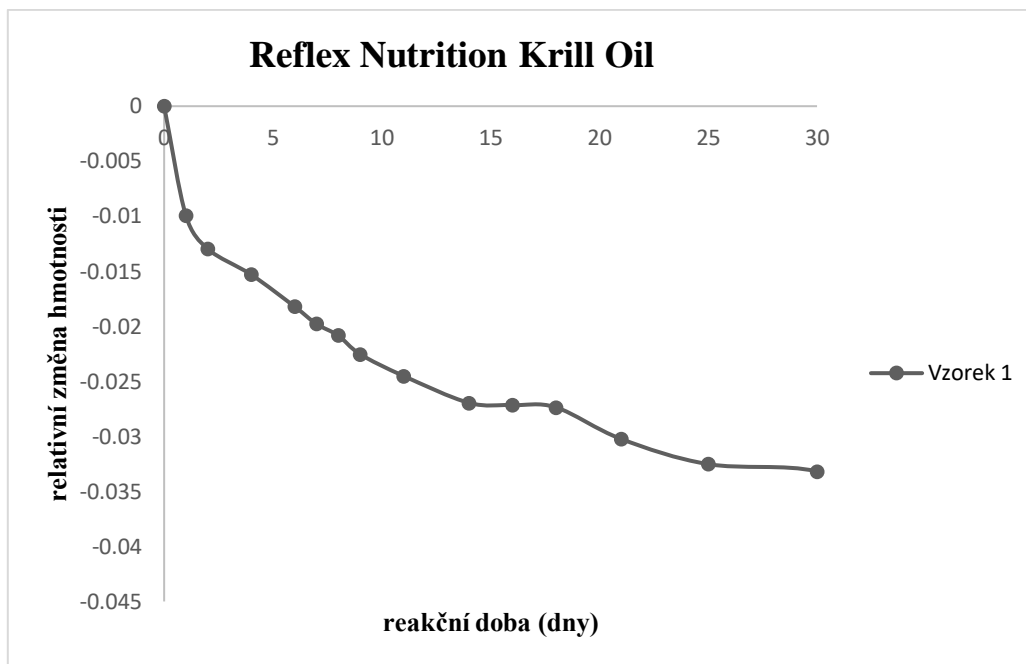


**Obrázek 40:** Oxidační stabilita všech analyzovaných doplňků stravy.

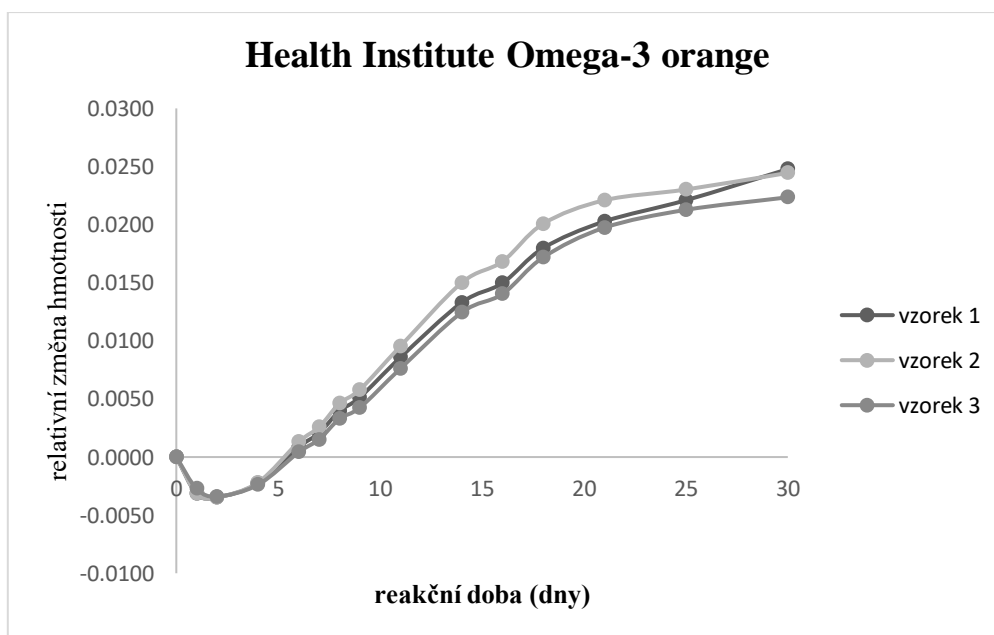


**Obrázek 41:** Oxidační stabilita doplňku stravy Reflex Nutrition Omega 3 (3 vzorky).

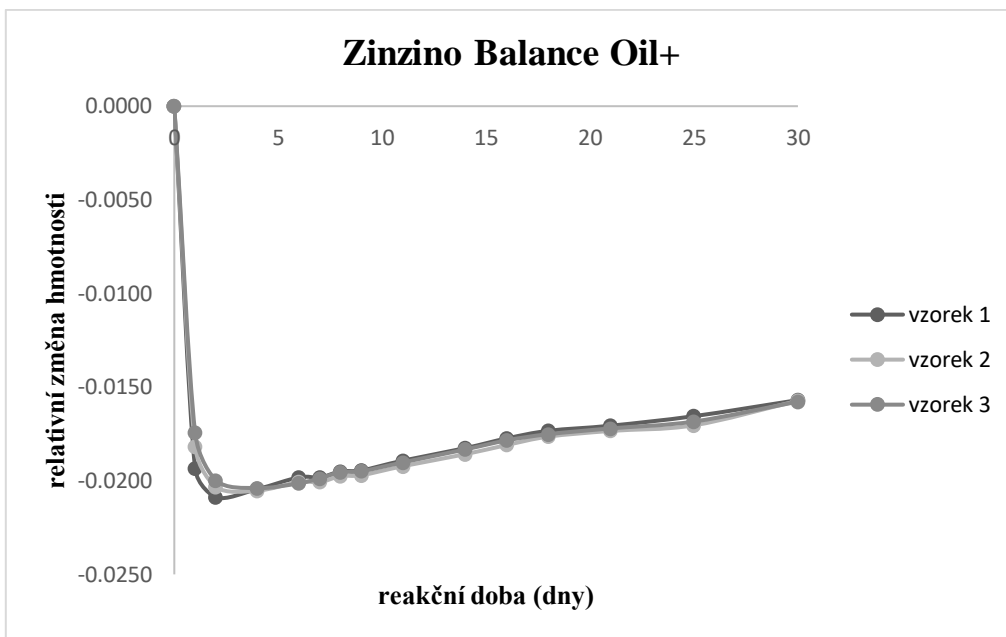




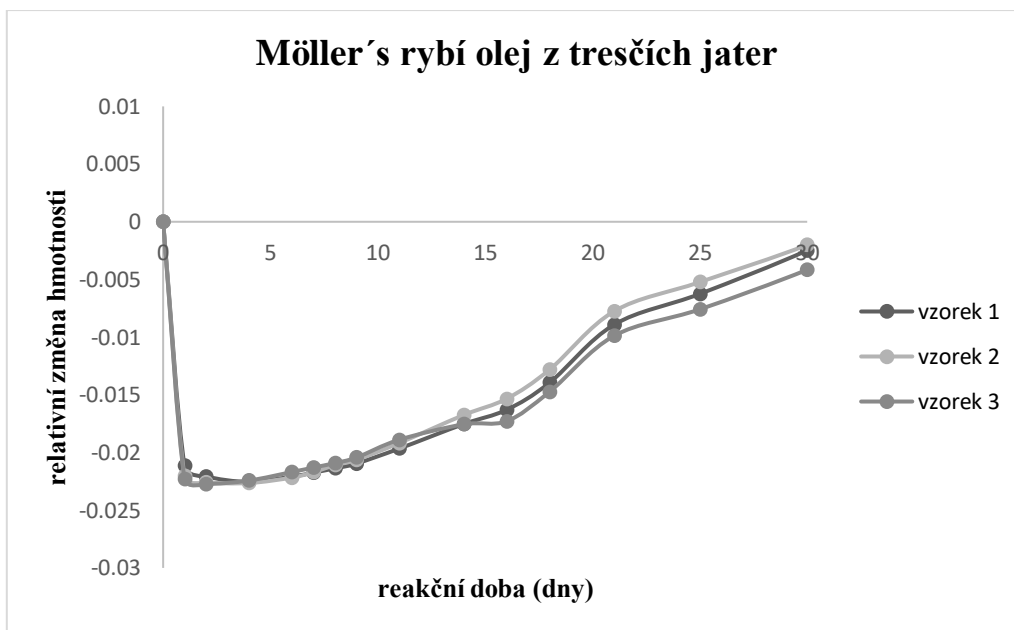
**Obrázek 42:** Oxidační stabilita doplňku stravy Reflex Nutrition Krill Oil.



**Obrázek 43:** Oxidační stabilita doplňku stravy Health Institute Omega-3 orange (3 vzorky).



**Obrázek 44:** Oxidační stabilita doplňku stravy Zinzino Balance Oil+ (3 vzorky).



**Obrázek 45:** Oxidační stabilita doplňku stravy Möller's rybí olej z tresčích jater (3 vzorky).

**Tabulka 17:** Indukční periody (dny) stanovené z relativního nárůstu hmotnosti.

Doplněk stravy	IP (dny)
<b>Reflex Nutrition Omega 3</b>	2
<b>Reflex Nutrition Krill Oil</b>	-
<b>Health Institute Opti Omega-3 orange</b>	4
<b>Zinzino BalanceOil+</b>	>30
<b>Möller's rybí olej z tresčích jater</b>	8

Řada studií publikovaných za poslední tři desetiletí uvádí, že podstatná část doplňků stravy obsahujících EPA a DHA na trhu obsahuje nižší množství těchto složek, než je uvedeno na etiketě (Shim et al. 2003; Opperman et al. 2011; Opperman & Benade, 2013; Albert et al. 2015; Galuch et al. 2017), nebo mají úrovně oxidace, které naznačují žluknutí a/nebo jsou vyšší než průmyslové nebo farmakologické standardy (Chee et al. 1990; Fantoni et al. 1996; Turner et al. 2006; Opperman et al. 2011; Opperman & Benade 2013; Rupp et al. 2013; Albert et al. 2015; Jackowski et al. 2015; Lee et al. 2016). Jiné studie naopak uvádějí, že nesoulad v uvedení EPA/DHA je nízký (Ackman et al. 1989; Fantoni et al. 1996; Hamilton et al. 2010; Bengtson Nash et al. 2014; Kleiner et al. 2015; Nichols et al. 2016; Sprague et al. 2018; Bannenberg et al. 2020), a nesoulad s ohledem na oxidaci není pro většinu složek EPA/DHA a hotových výrobků zásadním problémem (Lise Halvorsen & Blomhoff 2011; Nichols et al. 2016; de Boer et al. 2018; Sprague et al. 2018; Heller et al. 2019; Bannenberg et al. 2020). Tato nesrovnalost v hodnocení může potenciálně zmást spotřebitele a narušit jejich důvěru.

Výrobek Reflex Nutrition Omega 3 obsahoval 99,9 % sušiny. Přepočtem procentuálního zastoupení n-3 PUFA na gramy zjistíme, že 100 g výrobku obsahovalo 54,44 g n-3 PUFA, z toho 28,75 g EPA a 22,44 g DHA (celkem 51,19 EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství (250 mg EPA + DHA za den), museli bychom zkonzumovat 0,49 g tohoto výrobku (~ půlka želatinové kapsle). Pro příjem 2 g EPA + DHA, které přispívají k udržení správné hladiny triglyceridů v krvi, bychom museli zkonzumovat 3,91 g tohoto výrobku (~ 4 želatinové kapsle), a pro příjem 3 g EPA + DHA, které přispívají k udržení normálního krevního tlaku, bychom museli zkonzumovat 5,86 g tohoto výrobku (~ 6 želatinových kapslí). Výrobce deklarované množství v jedné želatinové kapsli (vážící 1000 mg) je 550 mg EPA + DHA

(viz tabulka 1). Podle naší analýzy 1000 mg výrobku obsahuje 512 mg EPA + DHA, tedy výrobcem deklarované množství by nebylo splněno.

Výrobek Reflex Nutrition Krill oil obsahoval 96,5 % sušiny. Přepočtem procentuálního zastoupení n-3 PUFA na gramy zjistíme, že 100 g výrobku obsahovalo 25,21 g n-3 PUFA, z toho 15,84 g EPA a 8,51 g DHA (celkem 24,35 g EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství, museli bychom zkonsumovat 1,03 g tohoto výrobku (~ 2 želatinové kapsle). Pro příjem 2 g EPA + DHA, bychom museli zkonsumovat 8,21 g tohoto výrobku (~ 16 želatinových kapslí), a pro příjem 3 g EPA + DHA, museli bychom zkonsumovat 12,32 g tohoto výrobku (~ 24 želatinových kapslí). Deklarované množství výrobcem v jedné želatinové kapsli (vážíci 500 mg) je 92 mg EPA + DHA (viz tabulka 2). Podle naší analýzy 500 mg výrobku obsahuje 120 mg EPA + DHA, tedy výrobcem deklarované množství bylo splněno.

Výrobek Health Institute Opti Omega-3 orange obsahoval 99,9 % sušiny. Přepočtem procentuálního zastoupení n-3 PUFA na gramy zjistíme, že 100 g výrobku obsahovalo 34,24 g n-3 PUFA, z toho 17,27 g EPA a 13,35 g DHA (celkem 30,62 g EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství, museli bychom zkonsumovat 0,82 g tohoto výrobku (~ 1/5 čajové lžičky). Pro příjem 2 g EPA + DHA bychom museli zkonsumovat 6,53 g tohoto výrobku (~ 1 čajová lžička), a pro příjem 3 g EPA + DHA bychom museli zkonsumovat 9,80 g tohoto výrobku (~ 2 čajové lžičky). Výrobce deklaruje ve 100 g tohoto výrobku 29,8 – 32,6 g EPA + DHA (viz tabulka 3). Podle naší analýzy je ve 100 g obsaženo 30,62 g EPA + DHA, tedy výrobcem deklarované množství bylo splněno.

Výrobek Zinzino BalanceOil+ obsahoval 99,0 % sušiny. Přepočtem procentuálního zastoupení n-3 PUFA na gramy zjistíme, že 100 g výrobku obsahovalo 20,88 g n-3 PUFA, z toho 12,28 g EPA a 6,42 g DHA (celkem 18,7 g EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství, museli bychom zkonsumovat 1,34 g tohoto výrobku (~ 1/5 čajové lžičky). Pro příjem 2 g EPA + DHA bychom museli zkonsumovat 10,70 g tohoto výrobku (~ 2 čajové lžičky), a pro příjem 3 g EPA + DHA bychom museli zkonsumovat 16,04 g tohoto výrobku (~ 3 čajové lžičky). Pokud 1 ml oleje odpovídá zhruba 1 g oleje, potom výrobcem deklarované množství ve 12 g tohoto výrobku je 1,97 g EPA + DHA (viz tabulka 4). Podle naší analýzy je ve 12 g obsaženo 2,24 g EPA + DHA, tedy výrobcem deklarované množství bylo splněno.

Výrobek Möller's rybí olej z tresčích jater obsahoval 98,5 % sušiny. Přepočtem procentuálního zastoupení n-3 PUFA na gramy zjistíme, že 100 g výrobku obsahovalo 20,40 g n-3 PUFA, z toho 7,82 g EPA a 10,40 g DHA (celkem 18,22 g EPA + DHA). Abychom přijali doporučené množství, museli bychom zkonzumovat 1,37 g tohoto výrobku (~ 1/5 čajové lžičky). Pro příjem 2 g EPA + DHA bychom museli zkonzumovat 10,98 g tohoto výrobku (~ 2 čajové lžičky), a pro příjem 3 g EPA + DHA bychom museli zkonzumovat 16,47 g tohoto výrobku (~ 3 čajové lžičky). Pokud 1 ml oleje odpovídá zhruba 1 g oleje, potom výrobcem deklarované množství v 5 g tohoto výrobku je 1,00 g EPA + DHA (viz tabulka 5). Podle naší analýzy je v 5 g obsaženo 0,91 g EPA + DHA, tedy výrobcem deklarované množství by nebylo splněno.

Na základě naměřených indukčních period lze konstatovat, že nejméně stabilním vzorkem byl Reflex Nutrition Omega 3 (IP = 2), jak bylo vzhledem k vysokému počtu PUFA a nepřítomnosti antioxidantů předpokládáno. Jako druhý v pořadí začal prudce oxidovat rybí olej Health Institute Opti Omega-3 orange obohacený o směs tokoferolů (IP = 4). Z křivky na obrázku 43 je vidět, že ze začátku došlo k mírnému poklesu hmotnosti vzorku (pravděpodobně z důvodu vypaření vody a/nebo některých těkavých látek). Přesné množství tokoferolů obsažené ve výrobku není na obalu uvedeno, přičemž podle vyhlášky č. 58/2018 Sb. O doplňcích stravy a složení potravin musí být pro spotřebitele na obalu uveden číselný údaj o množství (vztažené na doporučenou denní dávku) a údaje o obsahu v procentech referenční hodnoty příjmu. Jako třetí v pořadí (IP = 8) začal prudce oxidovat Möller's rybí olej z tresčích jater s obsahem 3 mg vitamínu E a 250 µg vitamínu A (na počátku došlo opět k poklesu hmotnosti (obrázek 45), pravděpodobně ze stejného důvodu jako u předchozího vzorku). Z křivky znázorněné na obrázku 42 je patrné, že u doplňku stravy Reflex Nutrition Krill Oil docházelo stále k poklesu hmotnosti (proto nemohla být odečtena indukční perioda). Krillový olej byl pravděpodobně již zoxidovaný, i přesto, že minimální trvanlivost uvedená na výrobku byla do května 2023. Indukční perioda nebylo možné odečíst ani u výrobku Zinzino BalanceOil+, neboť Schaalův test byl plánovaně ukončen po 30 dnech a rybí olej se nedostal do fáze prudkého nárůstu. Pokud by Schaalův test pokračoval dál, s největší pravděpodobností by indukční perioda tohoto oleje byla nejdelší, neboť obsahoval nejnižší množství PUFA, a díky přítomnosti olivového oleje s vysokým obsahem polyfenolů by byl oxidační proces zpomalen.

## **5 Závěry a doporučení pro využití poznatků v praxi pro další rozvoj vědního oboru**

Experiment zaměřený na sledování stability různých rostlinných olejů potvrdil významný vliv zastoupení monoenových a polyenových mastných kyselin na stabilitu olejů vůči žluknutí během skladování. Mezi obsahem olejové kyseliny a peroxidovým číslem byla silná negativní korelace. Stejně byla tak silná pozitivní korelace mezi peroxidovým číslem a obsahem linolové kyseliny. Stabilita rostlinných olejů klesala s rostoucím podílem polyenových mastných kyselin. Počáteční obsah volných mastných kyselin významně neovlivnil stabilitu oleje.

Z druhé části výzkumu vyplývá, že smažení významně neovlivnilo obsah tuku v rybích prstech a bramborových kroketách. Kromě toho nebyly po opakovaném smažení rybích prstů nebo bramborových kroket v různých olejích pozorovány žádné významné rozdíly v obsahu tuku. Smažení ovlivnilo zejména obsah sušiny bramborových kroket, ale nikoli rybích prstů. Rozdíly pozorované v obsahu popela nejsou z hlediska příjmu energie důležité, ale bylo by zajímavé je prozkoumat v budoucím výzkumu. Rýžový olej vykazoval nejvyšší oxidační stabilitu při opakovaném smažení, a proto byl považován za nejlepší smažící médium mezi testovanými oleji, zatímco méně nasycený slunečnicový olej vykazoval nejnižší stabilitu. Během smažení rybích prstů měly všechny oleje tendenci po každém smažení tmavnout, ale toto tmavnutí nebylo statisticky významné. Z nutričního hlediska ukázaly naše výsledky mnohem nižší příjem tuku prostřednictvím jedné porce smažených rybích prstů nebo bramborových kroket v porovnání s údaji z databáze EuroFIR.

Experiment zaměřený na smažení hranolků z brambor majích žluté a barevné hlízy přinesl informace jak o porovnání sensorické jakosti smažené potraviny, tak i o vlivu látek obsažených v barevných odrůdách na stabilitu smažicího média. Co se barvy a vzhledu týče, hranolky z fialových odrůd brambor byly respondenty uvedeny jako nejméně vyhovující (to lze připisovat i dlouholeté tradici hranolek, připravujících se ze žlutých hlíz). Vzhledem k tomu, že mezi fialovými a žlutými hranolky nebyl statisticky průkazný rozdíl v chuti hranolek, mohlo by se jednat o potencionální náhradu tradičně žlutých hranolků. Obyvatelstvo by však muselo být informováno o vyšším obsahu zdraví prospěšných látek u fialových brambor. Fialové odrůdy brambor mají oproti žlutým odrůdám vyšší obsah fenolových antioxidantů, což má pravděpodobně vliv na inhibici oxidace lipidů. U fialových odrůd nastal významný rozvoj

oxidace sádla jako smažicího média mezi 10. a 11. dnem, oproti odrudám žlutým s hodnotami indukčních peiod 2,4-5,8 dnů, což potvrzuje naši hypotézu v experimentu číslo IIa. Některé z produktů oxidace lipidů způsobují nežádoucí žluklé příchutě, jež byly respondenty detekovány v převládajícím množství u hranolek ze žlutých odrůd brambor. Za posledních 20 let se celková konzumace brambor téměř nezměnila. Můžeme však předpokládat, že do budoucna se konzumace fialových brambor zvýší, protože v dnešní společnosti se lidé stále více zajímají o potraviny (častokrát i varianty nutričně bohatší a poskytující určité zdravotní benefity), a také si žádají pestrost jídla. Proto by mohly být fialové hranolky možnou alternativou, i vzhledem k tomu, že obsahují vyšší obsah antioxidantů a mohou pozitivně působit na zpomalení oxidace smažicího média (což může být ekonomicky zajímavé i pro výrobce). V navazujícím výzkumu IIIb se neprokázal statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými smažicími médii v závislosti na typu smažených brambor při skladovacím Schaalově testu. Významný rozdíl byl pouze v oxidační stabilitě smažicího média dle jeho nasycenosti mastných kyselin, kdy vepřové sádlo jako reprezentant tuku s vyšším obsahem nasycených mastných kyselin vykazovalo lepší oxidační stabilitu než rafinovaný slunečnicový olej obsahující významné množství polyenových mastných kyselin. Peroxidové číslo a číslo kyselosti se též významně lišily v závislosti na použitém smažicím médiu – číslo kyselosti bylo nižší u slunečnicového oleje a peroxidové číslo nižší ve vepřovém sádle. Obsah tokoferolů ve smažicím médiu klesal s každým dalším smažením. Nejvyšší byl obsah  $\alpha$ -tokoferolu. Vliv smažicího média se projevil i na obsahu MCPD esterů a polymerních triacylglycerolů. Zajímavé výsledky přinesla necílová analýza vzorků sádla a oleje po smažení brambor, kde se vzorky shlukovaly dle barvy hlízy brambor. Jako markery byly zatím nalezeny dvě fenolové sloučeniny, které jsou významnými antioxidanty.

V posledním experimentu byla u rybích olejů s vyšším zastoupením  $n-3$  PUFA zjištěna kratší indukční perioda a oleje podléhaly mnohem rychleji oxidačnímu žluknutí. Naopak u olejů s nižším množstvím  $n-3$  PUFA a s přidavkem antioxidantů došlo k prodloužení indukční periody a zpomalení oxidačního procesu. Kolik  $n-3$  PUFA výsledný produkt obsahoval záviselo především na druhu, původu a způsobu zpracování výchozí suroviny. Bylo zjištěno, že krilový olej od značky Reflex Nutrition byl pravděpodobně již zoxidovaný, i přesto, že minimální trvanlivost uvedená na obalu byla do května 2023. Také bylo zjištěno, že na výrobu Health Institute Opti Omega-3 orange nebylo uvedeno množství obsažených tokoferolů, což je dle vyhlášky č. 58/2018 Sb. o doplňcích stravy a složení potravin povinné. Do budoucna by

bylo dobré tyto výrobky z mořských živočichů a řas otestovat i na obsah těžkých kovů a jiných toxických látek, které se mohou v těchto zdrojích potenciálně vyskytovat. Zároveň by mohla být věnována větší pozornost antioxidantům, které by mohly mít pozitivní vlivu na oxidační stabilitu produktů s vysokým obsahem PUFA.



## 6 Seznam použité literatury

- Abdulkarim SM, Long K, Lai OM, Muhammad SKS, Gazali HM. 2007. Frying quality and stability of high-oleic *Moringa oleifera* seed oil in comparison with other vegetables oils. *Food Chemistry* **105**: 1382-1389.
- Abraham K, Andres S, Palavinskas R, Berg K, Appel KE, Lampen A. 2011. Toxicology and risk assessment of acrolein in food. *Molecular Nutrition & Food Research* **55** (9): 1270-1290.
- Ackman RG, Ratnayake, WMN, Macpherson EJ. 1989. EPA and DHA contents of encapsulated fish oil products. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **66**: 1162-1164.
- Adcox C, Boyd L, Oehrl L, Allen J, Fenner G. 2001. Comparative Effects of Phytosterol Oxides and Cholesterol Oxides in Cultured Macrophage-Derived Cell Lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (4): 2090-2095.
- Ahmed J, Ramaswamy HS, Kasapis S, Boye JI. 2010. *Novel Food Processing: Effects on Rheological and Functional Properties (Electro-Technologies for Food Processing Series)*. CRC Press. Boca Raton.
- Ahmed M, Pickova J, Ahmad T, Liaquat M, Farid A, Jahangir M. 2016. Oxidation of Lipids in Foods. *Sarhad Journal of Agriculture* **32** (3): 230-238.
- Albert BB, Derraik JGB, Cameron-Smith D, Hofman PL, Tumanov S, Villas-Boas SG, Garg M L, Cutfield WS. 2015. Fish oil supplements in New Zealand are highly oxidised and do not meet label content of n-3 PUFA. *Scientific Reports* **5** (1): 7928, DOI: 10.1038/srep07928.
- Al-Fatlawi ALM, Abbas NM. 2010. Investigating peroxides and acid value in used edible vegetable oils. *The Iraqi Journal of Agricultural Sciences* **41** (4): 123-132.
- Ali MA, Daud ASM, Latip, RA, Othman NH, Islam MA. 2014. Impact of chicken nugget presence on the degradation of canola oil during frying. *International Food Research Journal* **21** (2): 1119-1124.
- Allaire J, Harris WS, Vors C, Charest A, Marin J, Jackson KH, Tchernof A, Couture P, Lamarche B. 2017. Supplementation with high-dose docosahexaenoic acid increases the Omega-3 Index more than high-dose eicosapentaenoic acid. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **120**: 8-14.
- Allendorf ME. 2010. Application of a handheld portable infrared sensor to monitor oil quality [PhD. Thesis]. Ohio State University. Ohio.
- Almrhag OM, Abooklesh FL. 2016. Evaluation of Oxidative Stability of Vegetable Oils during Deep Frying. *The Arab Journal of Sciences & Research Publishing* **2** (2): 90-97.
- Andrikopoulos NK, Boskou G, Dedoussis GVZ, Chiou A, Tzamtzis VA, Papathanasiou A. 2003. Quality assessment of frying oils and fats from 63 restaurants in Athens, Greece. *Food Service Technology* **3** (2): 49-59.
- Arab-Tehrany E, Jacquot M, Gaiani C, Imran M, Desobry S, Linder M. 2012. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. *Trends in Food Science & Technology* **25** (1): 24-33.
- Asghari L, Zeynali F, Sahari MA. 2013. Effects of boiling, deep-frying, and microwave treatment on the proximate composition of rainbow trout fillets: changes in fatty acids, total protein, and minerals. *Journal of Applied Ichthyology* **29** (4): 847-853.
- Atinafu DG, Bodemo B. 2011. Estimation of total free fatty acid and cholesterol content in some commercial edible oils in Ethiopia, Bahir DAR. *Journal of Cereals and Oilseeds* **2** (6): 71-76.

- Avallone S, Rojas-Gonzalez JA, Trystram G, Bohuon P. 2009. Thermal Sensitivity of Some Plantain Micronutrients during Deep-Fat Frying. *Journal of Food Science* **74** (5): 339-347.
- Aydeniz B, Yilmaz E. 2016. Performance of Different Natural Antioxidant Compounds in Frying Oils. *Food Technology and Biotechnology* **54** (1): 21-30.
- Bannenberg G, Rice HB, Bernasconi A, Ferrari A, Mallon C, Navarrete L, Hughes R, Igarashi J, Persons K, Latynski L, Phung A, Wang S, Ismail A. 2020. Ingredient label claim compliance and oxidative quality of EPA/DHA omega-3 retail products in the U.S. *Journal of Food Composition and Analysis* **88**: 103435, DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103435.
- Barrera-Arellano D, Ruiz-Méndez V, Velasco J, MárquezRuiz G, Dobarganes C. 2002. Loss of tocopherols and formation of degradation compounds at frying temperatures in oils differing in degree of unsaturation and natural antioxidant content. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **82** (14): 1696–1702.
- Barriuso B, Astiasarán I, Ansorena D. 2013. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *European Food Research and Technology* **236** (1): 1-15.
- Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. 2001. Thermal Oxidation of Olive Oil, Sunflower Oil and a Mix of Both Oils during Forty Discontinuous Domestic Fryings of Different Foods. *Food Science and Technology International* **7** (1): 15-21.
- Beals KA. 2019. Potatoes, Nutrition and Health. *American Journal of Potato Research* **96**: 102-110.
- Becalski A, Lau BP-Y, Lewis D., Seaman SW. 2003. Acrylamide in Foods: Occurrence, Sources, and Modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (3): 802-808.
- Bengtson Nash S, Schlabach M, Nichols P. 2014. A Nutritional-Toxicological Assessment of Antarctic Krill Oil versus Fish Oil Dietary Supplements. *Nutrients* **6** (9): 3382-3402.
- Bensmira M, Jiang B, Nsabimana C, Jian T. 2007. Effect of Lavender and Thyme Incorporation in Sunflower Seed Oil on its Resistance to Frying Temperatures. *Food Research International*. **40** (3). 341–346.
- Bheemreddy RM, Chinnan MS, Pannu KS, Reynolds AE. 2002. Active Treatment of Frying Oil for Enhanced Fry-life. *Journal of Food Science* **67** (4): 1478-1484.
- Bispo P, Batista I, Bernardino RJ, Bandarra NM. 2014. Preparation of Triacylglycerols Rich in Omega-3 Fatty Acids from Sardine Oil Using a *Rhizomucor miehei* Lipase: Focus in the EPA/DHA Ratio. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **172** (4): 1866-1881.
- Björck I, Asp N-G. 1994. Controlling the nutritional properties of starch in foods — a challenge to the food industry. *Trends in Food Science & Technology* **5** (7): 213-218.
- Bognár A. 1998. Comparative study of frying to other cooking techniques influence on the nutritive value. *Grasas y Aceites* **49** (3–4). <https://doi.org/10.3989/gya.1998.v49.i3-4.746>
- Bordin K, Kunitake, MT, Aracava, KK, Favaro Trindade, CS. 2013. Changes in food caused by deep fat frying-A review. *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN*. **63** (1): 5-11.
- Boskou D, Morton ID. 1976. Effect of plant sterols on the rate of deterioration of heated oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **27** (10): 928-932.
- Bouchon P. 2009. Chapter 5 Understanding Oil Absorption During Deep-Fat Frying. *Advances in Food and Nutrition Research*. **57**: 209-234.
- Brzeska M, Szymczyk K, Szterk A. 2016. Current Knowledge about Oxysterols: A Review. *Journal of Food Science* **81** (10): R2299-R2308.

- Budryn G, Nebesny E, Zyzelewicz D. 2011. Oxidative stability of lard and sunflower oil supplemented with coffee extracts under storage conditions. *Grasas y Aceites* **62** (2): 155-161.
- Bvenura C, Witbooi H, Kambizi L. 2022. Pigmented Potatoes: A Potential Panacea for Food and Nutrition Security and Health? *Foods* **11** (2): 175.
- Capuano E, Fogliano V. 2011. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Science and Technology* **44** (4): 793-810.
- Carlson BL, Tabacchi MH. 1986. Frying Oil Deterioration and Vitamin Loss During Foodservice Operation. *Journal of Food Science* **51** (1): 218-221.
- Carlson DL, Hites RA. 2005. Polychlorinated biphenyls in salmon and salmon feed: Global differences and bioaccumulation. *Environmental Science and Technology* **39**: 7389–7395.
- Carocho M, Morales P, Ferreira ICFR. 2018. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology* **71**: 107-120.
- Casarotti SN, Jorge N. 2014. Antioxidant Activity of Rosemary Extract in Soybean Oil Under Thermoxidation. *Journal of Food Processing and Preservation* **38** (1): 136-145.
- Chandrasekar V, Belur PD, Regupathi I. 2016. Effect of hydroxybenzoic acids antioxidants on the oxidative stability of sardine oil. *Resource-Efficient Technologies* **2** (1): S114-118.
- Che Man YB, Jaswir I. 2000. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. *Food Chemistry* **69** (3): 301-307.
- Che Man YB, Tan CP. 1999. Effects of natural and synthetic antioxidants on changes in refined, bleached, and deodorized palm olein during deep-fat frying of potato chips. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **76** (3): 331-339.
- Che Man YB, Wanhussein WR 1998. Comparison of the frying performance of refined, bleached and deodorized palm oleic and coconut oil. *Journal of Food Lipids*. **5** (3): 197–210.
- Chee KM, Gong JX, Good Rees DM, Meydanl M, Ausman L, Johnson J, Siguel EN, Schaefer EJ. 1990. Fatty acid content of marine oil capsules. *Lipids* **25** (9): 523-528.
- Chen SD, Chen HH, Chao YC, Lin RS. 2009: Effect of batter formula on qualities of deepfat and microwave fried fish nuggets. *Journal of Food Engineering* **95**: 359–364.
- Choe E, Min DB. 2006a. Chemistry and Reactions of Reactive Oxygen Species in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **46** (1): 1-22.
- Choe E, Min DB. 2006b. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **5** (4): 169-186.
- Choe E, Min DB. 2007. Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science* **72** (5): R77-R86.
- Christopoulou CN, Perkins EG. 1989. Isolation and characterization of dimers formed in used soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **66** (9): 1360-1370.
- Chung J, Lee J, Choe E. 2006. Oxidative Stability of Soybean and Sesame Oil Mixture during Frying of Flour Dough. *Journal of Food Science* **69** (7): 574-578.
- Cocan I, Negrea M, Cozma A, Alexa E, Poiana M-A, Raba D, Danciu C, Popescu I, Cadariu A, Obistioiu D, Radulov I. 2021. Chili and Sweet Pepper Seed Oil Used as a Natural Antioxidant to Improve the Thermo-Oxidative Stability of Sunflower Oil. *Agronomy*. **11** (12): 2579.

- Corazza MZ, Tarley CRT. 2016. Development and feasibility of emulsion breaking method for the extraction of cadmium from omega-3 dietary supplements and determination by flow injection TS-FF-AAS. *Microchemical Journal* **127**: 145-151.
- Dacaranhe CD, Terao J. 2001. Effect of Phosphatidic Acid and Phosphatidylserine on Lipid Oxidation in Beef Homogenate During Storage and in Emulsified Sardine Oil. *Journal of Food Science* **66** (3): 422-427.
- Dana D, Blumenthal MM, Saguy IS. 2003. The protective role of water injection on oil quality in deep fat frying conditions. *European Food Research and Technology* **217** (2): 104-109.
- de Alzaa F, Guillaume C, Ravetti L. 2018. Evaluation of Chemical and Physical Changes in Different Commercial Oils during Heating. *Acta Scientific Nutritional Health* 2 (6): 2-11.
- de Boer AA, Ismail A, Marshall K, Bannenberg G, Yan KL, Rowe WJ. 2018. Examination of marine and vegetable oil oxidation data from a multi-year, third-party database. *Food Chemistry* **254**: 249-255.
- de Jong A, Plat J, Mensink RP. 2003. Metabolic effects of plant sterols and stanols (Review). *The Journal of Nutritional Biochemistry* **14** (7): 362-369.
- de Roos B, Mavrommatis Y, Brouwer IA. 2009. Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids: new insights into mechanisms relating to inflammation and coronary heart disease. *British Journal of Pharmacology* **158** (2): 413-428.
- Debnath S, Rastogi NK, Gopala Krishna AG, Lokesh BR. 2012. Effect of frying cycles on physical, chemical and heat transfer quality of rice bran oil during deep-fat frying of poori: An Indian traditional fried food. *Food and Bioproducts Processing* **90**: 249–256.
- Dhaka V, Gulia N, Ahlawat KS, Khatkar BS. 2011. Trans fats—sources, health risks and alternative approach - A review. *Journal of Food Science and Technology* **48** (5): 534-541.
- Dobarganes C, Márquez-Ruiz G, Velasco J. 2000. Interactions between fat and food during deep-frying. *European Journal of Lipid Science and Technology* **102** (8–9): 521-528.
- Dobarganes C, Márquez-Ruiz G. 2003. Oxidized fats in foods. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 6 (2): 157-163.
- Dobarganes MC, Velasco J, Dieffenbacher A. 2000. Determination of polar compounds, polymerized and oxidized triacylglycerols, and diacylglycerols in oils and fats: results of collaborative studies and the standardized method (Technical report). *Pure and Applied Chemistry* **72** (8). 1563-1575.
- Dutta PC, Przybylski R, Eskin MNA, Appelqvist P. 2007. Formation, Analysis, and Health Effects of Oxidized Sterols in Frying Fat in Deep Frying. *AOCS Lipid Library* **2007**: 111-164.
- Eggersdorfer M, Wyss A. 2018. Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **652**: 18-26.
- El-Anany A. 2013. Antioxidative effect of tea extracts on oxidation of soybean oil during deep-fat frying process Regeneration of Used Frying Palm Oil with Coffee Silverskin (CS), CS Ash (CSA) and Nanoparticles of CS (NCS) View project. *Advances in Food Sciences* **35** (4): 181.
- Endo Y, Hayashi C, Yamanaka T, Takayose K, Yamaoka M, Tsuno T, Nakajima S. 2013. Linolenic Acid as the Main Source of Acrolein Formed During Heating of Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **90** (7): 959-964.
- Ergönül PG, Köseoğlu O. 2014. Changes in  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherol contents of mostly consumed vegetable oils during refining process, CyTA - *Journal of Food* **12** (2): 199-202.

- Ersoy B, Özeren A. 2009. The effect of cooking methods on mineral and vitamin contents of African catfish. *Food Chemistry* **115** (2): 419-422.
- Esterbauer H. 1993. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *57* (5): 779S-785S.
- EuroFIR. 2020. Food Data. European Food Information Resource (EuroFIR). Available at <https://www.eurofir.org/food-information/> (accessed September 2020).
- Ezekiel R, Singh N, Sharma S, Kaur A. 2013. Beneficial phytochemicals in potato - a review. *Food Research International* **50**: 487-496.
- Fantoni CM, Cuccio AP, Barrera-Arellano D. 1996. Brazilian encapsulated fish oils: Oxidative stability and fatty acid composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **73** (2): 251-253.
- Feng H, Sam R, Jiang L, Li Y, Cao W. 2016. High-performance size-exclusion chromatography studies on the formation and distribution of polar compounds in camellia seed oil during heating. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B* **17** (11): 882-891.
- Fišnar J, Sabolová M, Réblová Z. 2018. Relationship Between Tocopherols Depletion and Polymerised Triacylglycerols Formation During Heating of Vegetable Oils. *Czech Journal of Food Sciences*. **36** (6): 441-451.
- Foran SE, Flood JG, Lewandrowski KB. 2003. Measurement of mercury levels in concentrated over-the-counter fish oil preparations: is fish oil healthier than fish? *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* **127**: 1603-1605.
- Foster R, Williamson CS, Lunn J. 2009. Culinary oils and their health effects. *Nutrition Bulletin* 34. British Nutrition Foundation **34** (1): 4-47.
- Frankel EN, Warner K, Moulton KJ. 1985. Effects of Hydrogenation and Additives on Cooking Oil Performance of Soybean Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **62**: 1354-1358.
- Freeman IP, Padley FB, Sheppard WL. 1973. Use of silicones in frying oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **50** (4): 101-103.
- Frega N, Mozzon M, Lercker G. 1999. Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **76** (3): 325-329.
- Galuch M, Carbonera F, Magon T, da Silveira R, dos Santos P, Pizzo J, Santos O, Visentainer J. 2017. Quality Assessment of Omega-3 Supplements Available in the Brazilian Market. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **29** (3): 631-638.
- Gebauer SK, Psota TL, Harris WS, Kris-Etherton PM. 2006. n-3 Fatty acid dietary recommendations and food sources to achieve essentiality and cardiovascular benefits. *The American Journal of Clinical Nutrition* **83** (6): 1526S-1535S.
- Ghidurus M, Turtoi M, Boskou G, Niculita P, Stan V. 2010. Nutritional and health aspects related to frying (I). *Romanian Biotechnological Letters* **15** (6): 5675-5682.
- Ginty AT, Conklin SM. 2015. Short-term supplementation of acute long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids may alter depression status and decrease symptomology among young adults with depression: A preliminary randomized and placebo controlled trial. *Psychiatry Research* **229** (1-2): 485-489.
- Goh KM, Wong YH, Tan CP, Nyam KL. 2021. A summary of 2-, 3-MCPD esters and glycidyl ester occurrence during frying and baking processes. *Current Research in Food Science* **4**: 460-469.
- Gokoglu N, Yerlikaya P, Cengiz E. 2004. Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry* **84** (1): 19-22.

- Gordon MH, Kouřimská L. 1995. The effects of antioxidants on changes in oils during heating and deep frying. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **68** (3): 347-353.
- Gordon MH, Magos P. 1984. Products from the autoxidation of  $\Delta^5$ -avenasterol. *Food Chemistry* **14** (4): 295-301.
- Goyens PLL, Spilker ME, Zock PL, Katan MB, Mensink RP. 2005. Compartmental modeling to quantify  $\alpha$ -linolenic acid conversion after longer term intake of multiple tracer boluses. *Journal of Lipid Research* **46** (7): 1474-1483.
- Grilo EC, Costa PN, Sânzio Gurgel CS, de Lima Beserra AF, de Souza Almeida FN, Dimenstein, R. 2014. Alpha-tocopherol and gamma-tocopherol concentration in vegetable oils. *Food Science and Technology* **34** (2): 379-385.
- Grosdemange A-G. 2010. Vue d'ensemble des techniques de production d'huile de poisson. *Oilseeds and Fats, Crops and Lipids* **17** (4): 219–222.
- Günel-Köroğlu D, Turan S, Kiralan M, Ramadan MF. 2019. Enhancement of sunflower oil stability during deep-frying using extracts from olive oil by-products and soy lecithin. *International Food Research Journal* **26** (4): 1269-1277.
- Gunstone FD. 2008. Chapter 8, Oils and Fats in the Food Industry, 1st Ed. Wiley-Blackwell. Dundee, UK.
- Gupta V, Downs SM, Ghosh-Jerath S, Lock K, Singh A. 2016. Unhealthy Fat in Street and Snack Foods in Low-Socioeconomic Settings in India: A Case Study of the Food Environments of Rural Villages and an Urban Slum. *Journal of Nutrition Education and Behavior* **48** (4): 269-279.
- Hamilton K, Brooks P, Holmes M, Cunningham J, Russel FD. 2010. Evaluation of the composition of omega-3 fatty acids in dietary oil supplements. *Nutrition & Dietetics* **67** (3): 182-189.
- Hammouda IB, Márquez-Ruiz G, Holgado F, Freitas F, Gomes Da Silva MDR, Bouaziz M. 2019. Comparative study of polymers and total polar compounds as indicators of refined oil degradation during frying. *European Food Research and Technology* **245**: 967–976.
- Hejtmánková K, Pivec V, Trnková E, Hamouz K, Lachman J. 2009. Quality of Coloured Varieties of Potatoes. *Czech Journal of Food Sciences* **27**: 310-313.
- Heller M, Gemming L, Tung C, Grant R. 2019. Oxidation of fish oil supplements in Australia. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **70** (5): 540-550.
- Henry CK. 1998. Impact of fried foods on macronutrient intake, with special reference to fat and protein. *Grasas y Aceites* **49** (3–4): 336-339.
- Hidalgo FJ, Zamora R. 2000. The role of lipids in nonenzymatic browning. *Grasas y Aceites* **51** (1–2): 35-49.
- Holownia KI, Chinnan MS, Erickson MC, Mallikarjunan P. 2000. Quality Evaluation of Edible Film-Coated Chicken Strips and Frying Oils. *Journal of Food Science* **65** (6): 1087-1090.
- Houhoula DP, Oreopoulou V, Tzia C. 2003. The effect of process time and temperature on the accumulation of polar compounds in cottonseed oil during deep-fat frying. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **83** (4): 314-319.
- Hovenkamp E, Demonty I, Plat J, Lütjohann D, Mensink RP, Trautwein EA. 2008. Biological effects of oxidized phytosterols: A review of the current knowledge. *Progress in Lipid Research* **47** (1): 37-49.
- Hrebień-Filisińska A. 2021. Application of natural antioxidants in the oxidative stabilization of fish oils: A mini-review. *Journal of Food Processing and Preservation*. **45** (4). e15342 DOI: 10.1111/jfpp.15342

- IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. & International Agency for Research on Cancer. 1999. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. **71**. ISBN-13: 978-92-832-1271-3
- Irwandi J, Cheman YB, Kitts DD. 2000. Synergistic effect of rosemary and sage extracts and citric acid on fatty acid retention of RBD palm olein during deep-fat frying. *Journal of American Oil Chemists' Society*. **77** (5): 527–533.
- Ismail R. 2005. Palm oil and palm olein frying applications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. **14** (4): 414–419.
- Jackowski SA, Alvi AZ, Mirajkar A, Imani Z, Gamalevych Y, Shaikh NA, Jackowski G. 2015. Oxidation levels of North American over-the-counter n-3 (omega-3) supplements and the influence of supplement formulation and delivery form on evaluating oxidative safety. *Journal of Nutritional Science* **4**: e30 DOI: 10.1017/jns.2015.21
- Jacobsen C, Hartvigsen K, Lund P, Thomsen MK, Skibsted LH, Hølmer G, Adler-Nissen J, Meyer AS. 2001. Oxidation in fish oil-enriched mayonnaise: calcium disodium ethylenediaminetetraacetate, but not gallic acid, strongly inhibited oxidative deterioration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (2): 1009-1019.
- Jaswir I, Man YBC, Kitts DD. 2000. Synergistic effects of rosemary, sage, and citric acid on fatty acid retention of palm olein during deep-fat frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **77** (5): 527-533.
- Jiménez-Monreal AM, García-Diz L, Martínez-Tomé M, Mariscal M, Murcia MA. 2009. Influence of Cooking Methods on Antioxidant Activity of Vegetables. *Journal of Food Science* **74** (3): H97-H103.
- Jung MY, Min DB. 1990. Effects of  $\alpha$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -Tocopherols on Oxidative Stability of Soybean Oil. *Journal of Food Science* **55** (5): 1464-1465.
- Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47** (10): 3954-3962.
- Kaleem A, Aziz S, Iqtedar M, Abdullah R, Aftab M, Rashid F, Shakoori FR, Naz S. 2015. INVESTIGATING CHANGES AND EFFECT OF PEROXIDE VALUES IN COOKING OILS SUBJECT TO LIGHT AND HEAT. *Fuuast Journal of Biology*. **5** (2): 191-196.
- Kalita D, Jayanty SS. 2013. Reduction of acrylamide formation by vanadium salt in potato French fries and chips. *Food Chemistry* **138** (1): 644-649.
- Kamal-Eldin A. 2006. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology* **108**: 1051–1061.
- Kampa M, Nifli A-P, Notas G, Castanas E. 2007. Polyphenols and cancer cell growth. In *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Springer Berlin Heidelberg. **159**: 79-113.
- Kaspar KL, Park JS, Brown CR, Weller K, Ross CF, Mathison BD, Chew BP. 2013. Sensory evaluation of Pigmented Flesh Potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Food and Nutrition Sciences* **4**:77-81.
- Katan MB, Grundy SM, Jones P, Law M, Miettinen T, Paoletti R. 2003. Efficacy and Safety of Plant Stanols and Sterols in the Management of Blood Cholesterol Levels. *Mayo Clinic Proceedings* **78** (8): 965-978.
- Kennedy TA, Liebler DC. 1992. Peroxyl radical scavenging by beta-carotene in lipid bilayers. Effect of oxygen partial pressure. *Journal of Biological Chemistry* **267** (7): 4658-4663.

- Khor YP, Hew KS, Abas F, Lai OM, Cheong LZ, Nehdi IA, Sbihi HM, Gewik MM, Tan CP. 2019. Oxidation and Polymerization of Triacylglycerols: In-Depth Investigations towards the Impact of Heating Profiles. *Foods* **8** (10): 475.
- Kim I, Choe E. 2004. Oxidative stability and antioxidant content changes in roasted and bleached sesame oil during heating. *Food Science and Biotechnology* **13** (6): 762–767.
- Kimura M, Itokawa Y, Fujiwara M. 1990. Cooking Losses of Thiamin in Food and Its Nutritional Significance. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* **36** (4-Suppl 1): 17-24.
- Kiritsakis AK. 1998. Flavor components of olive oil-A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **75** (6): 673-681.
- Kita A, Bąkowska-Barczak A, Hamouz K, Kułakowska K, Lisińska G. 2013. The effect of frying on anthocyanin stability and antioxidant activity of crisps from red- and purplefleshed potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Food Composition and Analysis* **32**: 169-175.
- Kita A, Lisińska G, Gołubowska G. 2007: The effects of oils and frying temperatures on the texture and fat content of potato crisps. *Food Chemistry* **102**: 1–5.
- Kita A., Lisińska G., Powolny M. 2005: The influence of frying medium degradation on fat uptake and texture of French fries. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **85**: 1113–1118.
- Kleiner AC, Cladis DP, Santerre CR. 2015. A comparison of actual versus stated label amounts of EPA and DHA in commercial omega-3 dietary supplements in the United States. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **95** (6): 1260-1267.
- Kołąkowska A, Bartosz G. 2014. Oxidation of food components: An introduction. In G. Bartosz (Ed.), *Chemical, biological, and functional properties*. CRC Press. 1-20.
- Kolanowski W, Jaworska D, Weißbrodt J. 2007. Importance of instrumental and sensory analysis in the assessment of oxidative deterioration of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid-rich foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **87** (2): 181-191.
- Kris-Etherton P, Taylor DS, Yu-Poth S, Huth P, Moriarty K, Fishell V, Hargrove R L, Zhao G, Etherton TD. 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition* **71** (1): 179S-88S.
- Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. 2002. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation* **106** (21): 2747-2757.
- Krokida MK, Oreopoulou V, Maroulis ZB, Marinos D. 2001: Colour changes during deep fat frying. *Journal of Food Engineering* **48**: 219–225.
- Kurhade A, Waghmare J. 2014. Effect of banana peel oleoresin on oxidative stability of sunflower and soybean oil. *Journal of Food Processing and Preservation* **39** (6): 1788-1797.
- Kutzner L, Ostermann AI, Konrad T, Riegel D, Hellhake S, Schuchardt JP, Schebb NH. 2017. Lipid Class Specific Quantitative Analysis of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Food Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **65** (1): 139-147.
- Lachman J, Orsak M, Hamouz K. 2005. Red and purple potatoes - A significant antioxidant source in human nutrition. *Chemicke Listy* **99**: 474-482.
- Landers RE, Rathmann DM. 1981. Vegetable oils: Effects of processing, storage and use on nutritional values. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **58** (3 Part 1): 255.
- Lazarick K. 2012. Cause of color component formation in oils during frying. [PhD. Thesis]. Lethbridge, University of Lethbridge, Department of Chemistry and Biochemistry.



- Lee EC, Min DB. 1988. Quenching Mechanism of  $\beta$ -Carotene on the Chlorophyll Sensitized Photooxidation of Soybean Oil. *Journal of Food Science* **53** (6): 1894-1895.
- Lee J, Kim M, Choe E. 2006. Effects of Carrot Powder in Dough on the Lipid Oxidation and Carotene Content of Fried Dough during Storage in the Dark. *Journal of Food Science* **69** (5). C411-414.
- Lee J, Lee S, Lee H, Park K, Choe E. 2002. Spinach (*Spinacia oleracea*) Powder as a Natural Food-Grade Antioxidant in Deep-Fat-Fried Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (20): 5664-5669.
- Lee J-B, Kim MK, Kim B-K, Kim J-Y, Lee K-G. 2016. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs), heavy metals and omega-3 fatty acids in commercially available Korean functional fish oil supplements. *International Journal of Food Science and Technology* **51** (10): 2217–2224
- Lee KS, Kim GH, Kim HH, Seong BJ, Kim SI, Han SH, Lee SS, Lee GH. 2013. Physicochemical properties of frying ginseng and oils derived from deepfrying ginseng. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* **42**: 941–947.
- Liao M, Zou B, Chen J, Yao Z, Huang L, Luo Z, Wang Z. 2019. Effect of domestic cooking methods on the anthocyanins and antioxidant activity of deeply purple-fleshed sweetpotato GZ9. *Heliyon*. **5** (4). e01515.
- Lise Halvorsen B, Blomhoff R. 2011. Determination of lipid oxidation products in vegetable oils and marine omega-3 supplements. *Food & Nutrition Research* **55**: DOI: 10.3402/fnr.v55i0.5792
- Lu R, Yang Z, Song H, Zhang Y, Zheng S, Chen Y, Zhou N. 2016. The Aroma-Active Compound, Acrylamide and Ascorbic Acid Contents of Pan-Fried Potato Slices Cooked by Different Temperature and Time. *Journal of Food Processing and Preservation* **40**: 183- 191.
- Lužaić TZ, Grahovac NL, Hladni NT, Romanić RS. 2022. Evaluation of oxidative stability of new cold-pressed sunflower oils during accelerated thermal stability tests. *Food Science and Technology* **42**: DOI: 10.1590/fst.67320.
- Ma L, He Q, Qiu Y, Liu H, Wu J, Liu G, Brennan C, Brennan MA, Zhu L. 2021. Food matrixes play a key role in the distribution of contaminants of lipid origin: A case study of malondialdehyde formation in vegetable oils during deep-frying. *Food Chemistry* **347**: DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129080.
- Ma L, Liu G, Liu X. 2019. Amounts of malondialdehyde do not accurately represent the real oxidative level of all vegetable oils: a kinetic study of malondialdehyde formation. *International Journal of Food Science & Technology* **54** (2): 412-423.
- Ma R, Gao T, Song L, Zhang L, Jiang Y, Li J, Zhang X, Gao F, Zhou G. 2016: Effects of oil-water mixed frying and pure-oil frying on the quality characteristics of soybean oil and chicken chop. *Food Science and Technology* **36**: 329–336.
- Mamat H, Nor Aini I, Said M, Jamaludin R. 2005. Physicochemical characteristics of palm oil and sunflower oil blends fractionated at different temperatures. *Food Chemistry* **91** (4): 731-736.
- Man C, Hussain W. 1998. Comparison of frying and performance of refined bleached and deodorised palm olein and coconut oil. *Journal of Food Lipids* **5** (3): 197–210.
- Marinova E, Toneva A, Yanishlieva N. 2008. Synergistic antioxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol and myricetin on the autoxidation of triacylglycerols of sunflower oil. *Food Chemistry* **106** (2): 628-633.
- Marinova EM, Seizova KA, Totseva IR, Panayotova SS, Marekov IN, Momchilova SM. 2012. Oxidative changes in some vegetable oils during heating at frying temperature. *Bulgarian Chemical Communications*. **44** (1): 57–63.

- Marmesat S, Morales A, Velasco J, Dobarganes MC. 2010. Action and fate of natural and synthetic antioxidants during frying. *Grasas y Aceites*. **61** (4): 333–340.
- Martin-Rubio AS, Sopelana P, Ibargoitia ML, Guillén MD. 2018. Prooxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol on soybean oil. Global monitoring of its oxidation process under accelerated storage conditions by <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance. *Food Chemistry* **245**: 312-323.
- Maskan M, Bağcı Hİ. 2003. The recovery of used sunflower seed oil utilized in repeated deep-fat frying process. *European Food Research and Technology* **218** (1): 26-31.
- Maskan M. 2003. Change in colour and rheological behaviour of sunflower seed oil during frying and after adsorbent treatment of used oil. *European Food Research and Technology*. **218** (1): 20–25.
- Maszewska M, Florowsk A, Matysiak K, Marciniak-Lukasiak K, Dłuzewska E. 2018b: The study of palm and rapeseed oil stability during frying. *Journal of Applied Botany and Food Quality* **91**: 103–108.
- Maszewska M, Florowska A, Dłuzewska E, Wroniak M, Marciniak-Lukasiak K, Zbikowska A. 2018a: Oxidative stability of selected edible oils. *Molecules* **23**: 1746.
- Matthäus B, Haase NU, Vosmann K. 2004. Factors affecting the concentration of acrylamide during deep-fat frying of potatoes. *European Journal of Lipid Science and Technology* **106** (11): 793-801.
- 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** (9): 847-853.
- Melanson SF, Lee Lewandrowski E, Flood JG, Lewandrowski KB. 2005. Measurement of organochlorines in commercial over-the-counter fish oil preparations: implications for dietary and therapeutic recommendations for omega-3 fatty acids and a review of the literature. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* **129** (1): 74–77.
- Mellema M. 2003. Mechanism and reduction of fat uptake in deep-fat fried foods. *Trends in Food Science & Technology* **14** (9): 364-373.
- Meltzer JB, Frankel EN, Bessler TR, Perkins EG. 1981. Analysis of thermally abused soybean oils for cyclic monomers. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **58** (7): 779-784.
- Miao Y, Zhang H, Zhang L, Wu S, Sun Y, Shan Y, Yuan Y. 2014. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation in reconstituted potato chips during frying. *Journal of Food Science and Technology* **51** (12): 4005-4011.
- Mishra SK, Belur PD, Iyyaswami R. 2021. Use of antioxidants for enhancing oxidative stability of bulk edible oils: a review. *International Journal of Food Science & Technology* **56** (1): 1-12.
- Mistry BS, Min, DB. 1987. Effects of Fatty Acids on the Oxidative Stability of Soybean Oil. *Journal of Food Science* **52** (3): 831-832.
- Miyashita K, Takagi T. 1986. Study on the oxidative rate and prooxidant activity of free fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **63** (10): 1380-1384.
- Miyoshi N, Iuliano L, Tomono S, Ohshima H. 2014. Implications of cholesterol autoxidation products in the pathogenesis of inflammatory diseases. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **446** (3): 702-708.
- Morales MT, Rios JJ, Aparicio R. 1997. Changes in the Volatile Composition of Virgin Olive Oil during Oxidation: Flavors and Off-Flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45** (7): 2666–2673.
- Moreira RG, Sun X, Chen Y. 1997. Factors Affecting Oil Uptake in Tortilla Chips in Deep-fat Frying. *Journal of Food Engineering*. **31** (4): 485-498.

- Moreno MC, Bouchon P. 2013: Microstructural characterization of deep-fat fried formulated products using confocal scanning laser microscopy and a non-invasive double staining procedure. *Journal of Food Engineering* **118**: 238–246.
- Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, Rimm EB. 2004. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *The American Journal of Clinical Nutrition* **79** (4): 606-612.
- Muik B, Lendl B, Molina-Díaz A, Ayora-Cañada MJ. 2005. Direct monitoring of lipid oxidation in edible oils by Fourier transform Raman spectroscopy. *Chemistry and Physics of Lipids* **134** (2): 173-182.
- Nain CW, Berdal G, Thao PTP, Mignolet E, Buchet M, Page M, Larondelle Y. 2021. Green Tea Extract Enhances the Oxidative Stability of DHA-Rich Oil. *Antioxidants* **10** (6): 982.
- Nair V, Cooper CS, Vietti DE, Turner GA. 1986. The chemistry of lipid peroxidation metabolites: Crosslinking reactions of malondialdehyde. *Lipids* **21** (1): 6-10.
- Nawar WW. 1969. Thermal degradation of lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **17** (1): 18-21.
- Nawar WW. 1984. Chemical Changes in Lipids Produced by Thermal Processing. **61** (4): 299-302.
- Nayak PK, Dash U, Rayaguru K, Krishnan KR. 2015. Physio-Chemical Changes During Repeated Frying of Cooked Oil: A Review. *Journal of Food Biochemistry*. **40** (3): 371-390.
- Nayik G, Majid I, Gull A, Muzaffar K. 2015. Rice bran oil, the future edible oil of India: A mini review. *Journal of Rice Research* **3** (4): DOI: 10.4172/2375-4338.1000151.
- Naz S, Siddiqi R, Sheikh H, Sayeed SA. 2005. Deterioration of olive, corn and soybean oils due to air, light, heat and deep-frying. *Food Research International* **38** (2): 127-134.
- Negishi H, Nishida M, Endo Y, Fujimoto K. 2003. Effect of a modified deep-fat fryer on chemical and physical characteristics of frying oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **80** (2): 163-166.
- Negrone M, D'Agostin A, Arnoldi A. 2001. Effects of Olive, Canola, and Sunflower Oils on the Formation of Volatiles from the Maillard Reaction of Lysine with Xylose and Glucose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (1): 439-445.
- Nemés A, Pęksa A. 2018. Polyphenols of coloured-flesh potatoes as native antioxidants in stored fried snacks. *LWT – Food Science and Technology* **97**: 597-602.
- Nichols P, Dogan L, Sinclair A. 2016. Australian and New Zealand Fish Oil Products in 2016 Meet Label Omega-3 Claims and Are Not Oxidized. *Nutrients* **8** (11): 703.
- Nor FM, Mohammed S, Idris NA, Ismail R. 2008. Antioxidative properties of Pandanus amaryllifolius leaf extracts in accelerated oxidation and deep-frying studies. *Food Chemistry* **110** (2): 319–327.
- Normand L, Eskin NMA, Przybylski R. 2001. Effect of tocopherols on the frying stability of regular and modified canola oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **78** :369–373.
- Opperman M, Benade S. 2013. Analysis of the omega-3 fatty acid content of South African fish oil supplements: a follow-up study: cardiovascular topics. *Cardiovascular Journal Of Africa* **24** (8): 297-302.
- Opperman M, Marais DW, Benade AJS. 2011. Analysis of omega-3 fatty acid content of South African fish oil supplements. *Cardiovascular Journal of Africa* **22** (6): 324-329.
- Oroian M, Escriche I. 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International* **74**: 10-36.

- Osório VM, de Lourdes Cardeal Z. 2011. Determination of acrolein in french fries by solid-phase microextraction gas chromatography and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*: **1218** (21): 3332-3336.
- Otaegui-Arrazola A, Menéndez-Carreño M, Ansorena D, Astiasarán I. 2010. Oxysterols: A world to explore. *Food and Chemical Toxicology* **48** (12): 3289-3303.
- Papastergiadis A, Fatouh A, Jacxsens L, Lachat C, Shrestha K, Daelman J, Kolsteren P, van Langenhove H, de Meulenaer B. 2014. Exposure assessment of Malondialdehyde, 4-Hydroxy-2-(E)-Nonenal and 4-Hydroxy-2-(E)-Hexenal through specific foods available in Belgium. *Food and Chemical Toxicology* **73**: 51-58.
- Park J-M, Kim J-M. 2016. Monitoring of Used Frying Oils and Frying Times for Frying Chicken Nuggets Using Peroxide Value and Acid Value. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* **36** (5): 612-616.
- Paul S, Mittal GS, Chinnan MS. 1997. Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **37** (7): 635-662.
- Pedreschi F, Moyano P, Kaack K, Granby K. 2005. Color changes and acrylamide formation in fried potato slices. *Food Research International* **38** (1): 1-9.
- Peers KE, Swoboda PAT. 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** (4): 389-395.
- Pérez-Camino MC, Márquez-Ruiz G, Ruiz-Méndez MV, Dobarganes MC. 1991. Lipid changes during frying of frozen prefried foods. *Journal of Food Science* **56**: 1644-1647.
- Plourde M, Cunnane SC. 2007. Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use as supplements. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* **32** (4): 619-634.
- Poiana M-A. 2012. Enhancing Oxidative Stability of Sunflower Oil during Convective and Microwave Heating Using Grape Seed Extract. *International Journal of Molecular Sciences*. **13** (7): 9240-9259.
- Prabsangob N, Benjakul S. 2019. Effect of tea catechin derivatives on stability of soybean oil/tea seed oil blend and oxidative stability of fried fish crackers during storage. *Food Science and Biotechnology* **28** (3): 679-689.
- Przybylski R, Eskin NAM. 1988. A comparative study on the effectiveness of nitrogen or carbon dioxide flushing in preventing oxidation during the heating of oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **65** (4): 629-633.
- Randall S. 2014. The French fry. *Open House* (0312-5998):12-12.
- Rangana S. 2005. *Handbook of Analysis and Quality Control*, 2nd Ed. Tata McGraw Hill Publishing Company Limited. New Delhi, India.
- Rimac-Brnčić S, Lelas V, Rade D, Šimundić B. 2004. Decreasing of oil absorption in potato strips during deep fat frying. *Journal of Food Engineering* **64** (2): 237-241.
- Ritter JCS, Budge SM, Jovica F. 2013. Quality analysis of commercial fish oil preparations. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **93** (8): 1935-1939.
- Roby HMH, Sarhan AM, Selim K-A-H, Khalel KI. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products* **43**: 827-831.

- Rojas-Gonzalez JA, Avallone S, Brat P, Trystram G, Bohuon P. 2006. Effect of deep-fat frying on ascorbic acid, carotenoids and potassium contents of plantain cylinders. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **57** (1–2): 123-136.
- Rojo JA, Perkins EG. 1987. Cyclic fatty acid monomer formation in frying fats. I. Determination and structural study. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **64** (3): 414-421.
- Romero A, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. 2007. Cyclic fatty acids in sunflower oils during frying of frozen foods with oil replenishment. *European Journal of Lipid Science and Technology* **109**: 165–173.
- Romero A, Cuestaa C, Sánchez-Muniz.FJ. 1998. Effect of Oil Replenishment During Deep-Fat Frying of Frozen Foods in Sunflower Oil and High-Oleic Acid Sunflower Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **75**: 161–167.
- Rudzińska M, Korczak J, Wsowicz E. 2005. Changes in phytosterols and their oxidation products during frying of French fries in rapeseed oil.. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* **14** (4): 381-387.
- Rupp TP, Rupp KG, Alter P, Rupp H. 2013. Replacement of Reduced Highly Unsaturated Fatty Acids (HUFA Deficiency) in Dilative Heart Failure: Dosage of EPA/DHA and Variability of Adverse Peroxides and Aldehydes in Dietary Supplement Fish Oils. *Cardiology* **125** (4): 223-231.
- Rytel E, Tajner-Czopek A, Kita A, Kucharska AZ, Sokół-Łętowska A, Hamouz K. Content of anthocyanins and glycoalkaloids in blue-fleshed potatoes and changes in the content of  $\alpha$ -solanine and  $\alpha$ -chaconine during manufacture of fried and dried products. *International Journal of Food Science and Technology* **53**: 719–727.
- Sabolová M, Zeman V, Lebedová G, Doležal M, Soukup J, Réblová Z. Relationship between the fat and oil composition and their initial oxidation rate during storage. *Czech Journal of Food Sciences* **38** (6): 404-409.
- Saguy IS, Dana D. 2003. Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. *Journal of Food Engineering* **56** (2–3): 143-152.
- Salehi F. 2019. Color changes kinetics during deep fat frying of kohlrabi (*Brassica oleracea* var. gongyloides) slice. *International Journal of Food Properties* **22**: 511–519.
- San Andrés MP, Otero J, Vera S. 2011. High performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of  $\alpha$ -,  $\gamma$ - and  $\delta$ -tocopherol in vegetable oils in presence of hexadecyltrimethylammonium bromide/n-propanol in mobile phase. *Food Chemistry* **126** (3): 1470-1474.
- Sánchez-Muniz FJ, Cuesta C, Garrido-Polonio C. 1993. Sunflower oil used for frying: Combination of column, gas and high-performance size-exclusion chromatography for its evaluation. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **70** (3): 235-240.
- Schneider S. 2016. Quality Analysis of Virgin Olive Oils – Part 4. Agilent Technologies, Inc, Waldbronn, Germany. USA, May 1, 2016. Available from <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-2180EN.pdf> (accessed January 2023).
- Schram LB, Nielsen CJ, Porsgaard T, Nielsen NS, Holm R, Mu H. 2007. Food matrices affect the bioavailability of (n–3) polyunsaturated fatty acids in a single meal study in humans. *Food Research International* **40** (8): 1062-1068.
- Schroeder MT, Becker EM, Skibsted LH. 2006. Molecular Mechanism of Antioxidant Synergism of Tocotrienols and Carotenoids in Palm Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (9): 3445-3453.

- Schuten HJ, van Gijssel J, Slotboom D. 2004: Effect of Frying Conditions on the Fat Content of French Fries. *Agrotechnology & Food Innovations* (Wageningen UR), OPD 03/336. Available at <https://edepot.wur.nl/35103> (accessed September 2021).
- Seppanen CM, Saari Csallany A. 2002. Formation of 4-hydroxynonenal, a toxic aldehyde, in soybean oil at frying temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **79** (10): 1033-1038.
- Sghaier L, Vial J, Sassiati P, Thiebaut D, Watiez M, Breton S, Rutledge DN, Cordella CBY. 2016. Analysis of target volatile compounds related to fishy off-flavor in heated rapeseed oil: A comparative study of different headspace techniques. *European Journal of Lipid Science and Technology* **118** (6): 906-918.
- Shadyro OI, Sosnovskaya AA, Edimecheva IP. 2017. Flaxseed oil stabilization using natural and synthetic antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology* **119** (10): 1700079.
- Shahidi F, Zhong Y. 2010. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews* **39** (11): 4067-4079.
- Shaker MA. 2014. Air frying a new technique for produce of healthy fried potato strips. *Journal of Food and Nutrition Sciences* **2** (4): 200–206.
- Shim SM, Santerre CR, Burgess JR, Deardorff DC. 2003. Omega-3 Fatty Acids and Total Polychlorinated Biphenyls in 26 Dietary Supplements. *Journal of Food Science* **68** (8): 2436-2440.
- Shiota M, Konishi H, Tatsumi K. 1999. Oxidative Stability of Fish Oil Blended with Butter. *Journal of Dairy Science* **82** (9): 1877-1881.
- Silva L, Pinto J, Carrola J, Paiva-Martins F. 2010. Oxidative stability of olive oil after food processing and comparison with other vegetable oils. *Food Chemistry* **121**: 1177–1187.
- Simonne AH, Eitenmiller RR. 1998. Retention of Vitamin E and Added Retinyl Palmitate in Selected Vegetable Oils during Deep-Fat Frying and in Fried Breaded Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46** (12): 5273-5277.
- Smith SA, King RE, Min DB. 2007. Oxidative and thermal stabilities of genetically modified high oleic sunflower oil. *Food Chemistry* **102**: 1208–1213.
- Somsub W, Kongkachuichai R, Sungpuag P, Charoensiri R. 2008. Effects of three conventional cooking methods on vitamin C, tannin, myo-inositol phosphates contents in selected Thai vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* **21** (2): 187-197.
- Sottero B, Leonarduzzi G, Testa G, Gargiulo S, Poli G, Biasi F. 2019. Lipid Oxidation Derived Aldehydes and Oxysterols Between Health and Disease. *European Journal of Lipid Science and Technology* **121** (1): 1700047.
- Speek A. 1988. Total carotenoid and  $\beta$ -carotene contents of Thai vegetables and the effect of processing. *Food Chemistry* **27** (4): 245-257.
- Sprague M, Cooper S, Tocher DR, Betancor MB. 2018. Encapsulated Fish Oil Products Available in the UK Meet Regulatory Guidelines With Respect to EPA + DHA Contents and Oxidative Status. *European Journal of Lipid Science and Technology* **120** (10): 1800105.
- Srigley CT, Rader JI. 2014. Content and Composition of Fatty Acids in Marine Oil Omega-3 Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **62** (29): 7268-7278.
- Srivastava Y, Semwal AD. 2015: A study on monitoring of frying performance and oxidative stability of virgin coconut oil (VCO) during continuous/prolonged deep fat frying process using chemical and FTIR spectroscopy. *Journal of Food Science and Technology* **52**: 984–991.

- Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy PA, Robert M-C, Riediker S. 2002. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature* **419**: 449-450.
- Staprāns I, Rapp JH, Pan X-M, Hardman DA, Feingold KR. 1996. Oxidized Lipids in the Diet Accelerate the Development of Fatty Streaks in Cholesterol-Fed Rabbits. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* **16** (4): 533-538.
- Stevenson SG, Vaisey-Genser M, Eskin NAM. 1984. Quality control in the use of deep frying oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **61** (6): 1102-1108.
- Suliman ME, El-Makhzangi A, Ramadan MF. 2006. Antiradical performance and physicochemical characteristics of vegetable oils upon frying French fries: A preliminary comparative study. *Journal of Food Lipids* **13** (3): 259–276.
- Taghvaei M, Jafari SM. 2015. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. *Journal of Food Science and Technology* **52** (3): 1272-1282.
- Tarmizi AH, Niranjan K, Gordon M. 2013. Physicochemical changes occurring in oil when atmospheric frying is combined with post frying vacuum application. *Food Chemistry* **136** (2): 902–908.
- Tian J, Chen J, Lv F, Chen S, Chen J, Liu D, Ye X. 2016. Domestic cooking methods affect the phytochemical composition and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes. *Food Chemistry* **197**: 1264-1270.
- Tompkins C, Perkins EG. 2000. Frying performance of low-linolenic acid soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **77** (3): 223-229.
- Tsaknis J, Lalas S. 2002. Stability during frying of *Moringa oleifera* seed oil variety “Periyakulam 1”. *Journal of Food Composition and Analysis* **15**: 79–101.
- Tseng Y-C, Moreira R, Sun X. 1996. Total frying-use time effects on soybean-oil deterioration and on tortilla chip quality. *International Journal of Food Science and Technology* **31** (3): 287-294.
- Tsikis D. 2017. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry* **524**: 13-30.
- Tsuzuki W, Matsuoka A, Ushida K. 2010. Formation of trans fatty acids in edible oils during the frying and heating process. *Food Chemistry* **123** (4): 976-982.
- Tudela JA, Espín JC, Gil MI. 2002. Vitamin C retention in fresh-cut potatoes. *Postharvest Biology and Technology* **26**: 75-84.
- Turner R, McLean CH, Silvers KM. 2006. Are the health benefits of fish oils limited by products of oxidation? *Nutrition Research Reviews* **19** (1): 53-62.
- Tyagi VK, Vasishtha AK. 1996. Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **73** (4): 499-506.
- Urbancic S, Kolar MH, Dimitrijevic D, Demsar L, Vidrih R. 2014. Stabilization of sunflower oil and reduction of acrylamide formation of potato with rosemary extract during deep-fat frying. *LWT – Food Science and Technology* **57** (2): 671–678.
- Velíšek J. 2014. *The Chemistry of Food*. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, United Kingdom. 87–197.
- Verleyen T, Kamal-Eldin A, Mozuraityte R, Verhé R, Dewettinck K, Huyghebaert A, De Greyt W. 2002. Oxidation at elevated temperatures: Competition between  $\alpha$ -tocopherol and unsaturated triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**: 228–233.

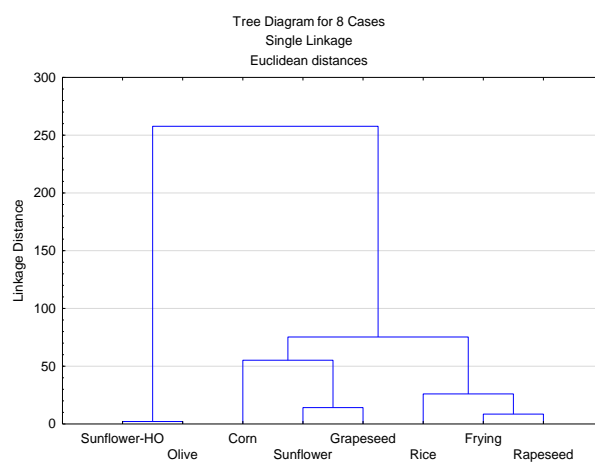
- Vitrac O, Trystram G, Raoult-Wack A-L. 2000. Deep-fat frying of food: heat and mass transfer, transformations and reactions inside the frying material. *European Journal of Lipid Science and Technology* **102** (8–9): 529-538.
- Warner K, Knowlton S. 1997. Frying quality and oxidative stability of high-oleic corn oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **74** (10): 1317-1322.
- Warner K, Moser J. 2009: Frying stability of purified mid-oleic sunflower oil triacylglycerols with added pure tocopherols and tocopherol mixtures. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **86**: 1199–1207.
- Warner K, Mounts TL. 1993. Frying stability of soybean and canola oils with modified fatty acid compositions. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **70** (10): 983-988.
- Warner K, Nelsen T. 1996. AOCS Collaborative Study on Sensory and Volatile Compound Analyses of Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **73** (2): 157-166.
- Warner K, Orr P, Parrott L, Glynn M. 1994. Effects of frying oil composition on potato chip stability. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **71** (10): 1117-1121.
- Wegener CB, Jansen G, Jurgens H-U, Schutze W. 2009. Special quality traits of coloured potato breeding clones: Anthocyanins, soluble phenols and antioxidant capacity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **89**: 206-215.
- Wei Q, Wu G, Xing J, Mao D, Hutz RJ, Shi F. 2019. Roles of poly (ADP-ribose) polymerase 1 activation and cleavage in induction of multi-oocyte ovarian follicles in the mouse by 3-nitropropionic acid. *Reproduction, Fertility and Development* **31** (5): 1117-1132.
- Wen Y, Xu L, Xue C, Jiang X, Wei Z. 2020. Assessing the Impact of Oil Types and Grades on Tocopherol and Tocotrienol Contents in Vegetable Oils with Chemometric Methods. *Molecules* **25** (21): 5076 DOI: 10.3390/molecules25215076.
- White PJ. 1991. An overview of methods for measuring changes in deep-fat frying oils. *Food Technology*. **45** (8): 75–80.
- WHO. 2020. Healthy Diet. World Health Organization (WHO). Available at <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet> (accessed September 2020)
- Winkler JK, Warner K, Glynn MT. 2007. Effect of deep-fat frying on phytosterol content in oils with differing fatty acid composition. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society* **84** (11): 1023–1030.
- Wong YH, Goh KM, Nyam KL, Cheong LZ, Wang Y, Nehdi IA, Mansour L, Tan CP. 2020. Monitoring of heat-induced carcinogenic compounds (3-monochloropropane-1,2-diol esters and glycidyl esters) in fries. *Scientific Reports* **10**: DOI: 10.1038/s41598-020-72118-z
- Wong YH, Lai OM, Abas F, Nyam KL, Nehdi IA, Muhamad h, Tan CP. 2017. Factors Impacting the Formation of 3-MCPD Esters and Glycidyl Esters During Deep Fat Frying of Chicken Breast Meat. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **94**: 759–765.
- Wroniak M, Florowska A, Rekas A. 2015. Effect of oil flushing with nitrogen on the quality and oxidative stability of cold-pressed rapeseed and sunflower oils. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* **15**: 79–87.
- Wu C-M, Chen S-Y. 1992. Volatile compounds in oils after deep frying or stir frying and subsequent storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **69** (9): 858-865.



- Xu M, Thompson A, Chen B. 2022. Dynamic changes of 3-MCPD esters and glycidyl esters contents as well as oil quality during repeated deep-frying. *LWT - Food Science and Technology* **153**: 112568, DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112568.
- Xua X-Q, Trana VH, Palmer M, White K, Salisbury P. 1999. Chemical and Physical Analyses and Sensory Evaluation of Six Deep-Frying Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **76** (9): 1091–1099.
- Yamaguchi N, Gazzard D, Scholey G, Macdonald DW. 2003. Concentrations and hazard assessment of PCBs, organochlorine pesticides and mercury in fish species from the upper Thames: River pollution and its potential effects on top predators. *Chemosphere* **50** (3): 265–273.
- Yang Y, Song X, Sui X, Qi B, Wang Z, Li Y, Jiang L. 2016. Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products* **80**: 141-147.
- Yasuhara A, Tanaka Y, Hengel M, Shibamoto T. 2003. Gas Chromatographic Investigation of Acrylamide Formation in Browning Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (14): 3999-4003.
- Zeb A. 2011. Effects of  $\beta$ -carotene on the thermal oxidation of fatty acids. *African Journal of Biotechnology* **10** (68): 15346–15352.
- Zhang H, Tsao R. 2016. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and antiinflammatory effects. *Current Opinion in Food Science* **8**: 33-42.
- Zhang Y, Wu WZ, Wu XQ, Zhang XL, Zhang Y. 2007. Addition of antioxidant from bamboo leaves as an effective way to reduce the formation of acryl amide in fried chicken wings. *Food Additives and Contaminants* **24** (3): 242–251.
- Zhang Y, Zhang G, Zhang Y. 2005. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods. *Journal of Chromatography A* **1075** (1–2): 1-21.
- Ziaififar AM, Achir N, Courtois F, Trezzani I, Trystram G. 2008. Review of mechanisms, conditions, and factors involved in the oil uptake phenomenon during the deep-fat frying process. *International Journal of Food Science & Technology* **43** (8): 1410-1423.

## 7 Přílohy

**Příloha 1:** Hierarchická shluková analýza výsledků olejů 0-40 den.



**Příloha 2:** Senzorický dotazník

## **HODNOCENÍ SMAŽENÝCH BRAMBOROVÝCH HRANOLKŮ**

Jméno:

Číslo vzorku:

Datum:

ÚKOL: pozorujte a ochutnejte předložené hranolky, sousto dobře rozžvýkejte a ohodnoťte na grafické stupnici

### VZHLED

Velmi špatný \_\_\_\_\_ Vynikající

### BARVA

Špatná \_\_\_\_\_ Vynikající

### KŘUPAVOST

Zcela vláčný \_\_\_\_\_ Křupavý

### ZVUKY PŘI PRVNÍM SKOUSNUTÍ

Neslyšitelné \_\_\_\_\_ Velmi silné

### CHUŤ CELKOVĚ

Velmi špatná \_\_\_\_\_ Vynikající

### INTENZITA SMAŽENÉ CHUTI

Velmi silná \_\_\_\_\_ Neznatelná

### ŽLUKLÁ PŘÍCHUŤ

Neznatelná \_\_\_\_\_ Převládající

### INTENZITA PACHUTÍ CELKOVĚ

Neznatelná \_\_\_\_\_ Velmi silná

**Příloha 3: Výsledky senzoričkého dotazníku dle odrůd**

<b>VALKÝRA</b>	<b>Hodnotitel 1</b>	<b>Hodnotitel 2</b>	<b>Hodnotitel 3</b>	<b>Hodnotitel 4</b>	<b>Hodnotitel 5</b>	<b>Hodnotitel 6</b>	<b>Průměr</b>
<b>Vzhled</b>	99	78	98	92	81	80	<b>88,0</b>
<b>Barva</b>	96	67	97	90	66	50	<b>77,7</b>
<b>Křupavost</b>	56	62	35	63	44	52	<b>52,0</b>
<b>Skousnutí</b>	87	44	85	54	35	32	<b>56,2</b>
<b>Chuť</b>	90	87	85	65	42	59	<b>71,3</b>
<b>Smažená chuť</b>	55	41	51	76	69	63	<b>59,2</b>
<b>Žluklost</b>	1	44	8	39	12	40	<b>24,0</b>
<b>Pachutě</b>	2	29	8	34	16	48	<b>22,8</b>

<b>ANTONIA</b>	<b>Hodnotitel 1</b>	<b>Hodnotitel 2</b>	<b>Hodnotitel 3</b>	<b>Hodnotitel 4</b>	<b>Hodnotitel 5</b>	<b>Hodnotitel 6</b>	<b>Průměr</b>
<b>Vzhled</b>	94	57	100	70	85	87	<b>82,2</b>
<b>Barva</b>	90	55	100	76	82	85	<b>81,3</b>
<b>Křupavost</b>	72	82	51	58	87	48	<b>66,3</b>
<b>Skousnutí</b>	77	34	40	70	95	47	<b>60,5</b>
<b>Chuť</b>	87	27	70	46	75	34	<b>56,5</b>
<b>Smažená chuť</b>	77	53	59	35	66	37	<b>54,5</b>
<b>Žluklost</b>	2	52	10	16	50	23	<b>25,5</b>
<b>Pachutě</b>	3	58	68	18	20	19	<b>31,0</b>

<b>VALMONT</b>	<b>Hodnotitel 1</b>	<b>Hodnotitel 2</b>	<b>Hodnotitel 3</b>	<b>Hodnotitel 4</b>	<b>Hodnotitel 5</b>	<b>Hodnotitel 6</b>	<b>Průměr</b>
<b>Vzhled</b>	37	29	36	62	30	24	<b>36,3</b>
<b>Barva</b>	36	36	80	55	33	14	<b>42,3</b>
<b>Křupavost</b>	49	28	45	11	20	38	<b>31,8</b>
<b>Skousnutí</b>	98	82	46	10	88	41	<b>60,8</b>
<b>Chuť</b>	77	4	44	65	21	44	<b>42,5</b>

<b>Smažená chuť</b>	50	67	79	56	87	70	<b>68,2</b>
<b>Žluklost</b>	3	26	20	32	88	81	<b>41,7</b>
<b>Pachutě</b>	4	43	76	47	36	75	<b>46,8</b>

<b>VAL BLUE</b>	<b>Hodnotitel 1</b>	<b>Hodnotitel 2</b>	<b>Hodnotitel 3</b>	<b>Hodnotitel 4</b>	<b>Hodnotitel 5</b>	<b>Hodnotitel 6</b>	<b>Průměr</b>
<b>Vzhled</b>	65	20	29	44	56	14	<b>38,0</b>
<b>Barva</b>	35	18	41	40	70	25	<b>38,2</b>
<b>Křupavost</b>	50	45	40	46	47	25	<b>42,2</b>
<b>Skousnutí</b>	60	48	71	68	67	75	<b>64,8</b>
<b>Chuť</b>	75	20	40	58	27	46	<b>44,3</b>
<b>Smažená chuť</b>	82	35	68	70	42	27	<b>54,0</b>
<b>Žluklost</b>	2	10	28	3	2	32	<b>12,8</b>
<b>Pachutě</b>	1	72	36	2	1	40	<b>25,3</b>

<b>BLUE STAR</b>	<b>Hodnotitel 1</b>	<b>Hodnotitel 2</b>	<b>Hodnotitel 3</b>	<b>Hodnotitel 4</b>	<b>Hodnotitel 5</b>	<b>Hodnotitel 6</b>	<b>Průměr</b>
<b>Vzhled</b>	65	30	47	23	13	28	<b>34,3</b>
<b>Barva</b>	57	25	31	18	24	41	<b>32,7</b>
<b>Křupavost</b>	60	75	72	67	65	30	<b>61,5</b>
<b>Skousnutí</b>	65	90	38	25	21	58	<b>49,5</b>
<b>Chuť</b>	84	76	74	42	40	46	<b>60,3</b>
<b>Smažená chuť</b>	80	49	43	56	25	39	<b>48,7</b>
<b>Žluklost</b>	0	15	15	1	1	20	<b>8,7</b>
<b>Pachutě</b>	0	42	12	1	1	20	<b>12,7</b>

<b>VALFI</b>	<b>Hodnotitel 1</b>	<b>Hodnotitel 2</b>	<b>Hodnotitel 3</b>	<b>Hodnotitel 4</b>	<b>Hodnotitel 5</b>	<b>Hodnotitel 6</b>	<b>Průměr</b>
<b>Vzhled</b>	71	45	24	84	27	57	<b>51,3</b>
<b>Barva</b>	30	35	20	51	30	68	<b>39,0</b>

<b>Křupavost</b>	55	35	33	37	17	20	<b>32,8</b>
<b>Skousnutí</b>	65	55	58	60	82	87	<b>67,8</b>
<b>Chuť</b>	70	34	48	87	21	51	<b>51,8</b>
<b>Smažená chuť</b>	85	66	60	63	34	20	<b>54,7</b>
<b>Žluklost</b>	3	25	23	3	1	30	<b>14,2</b>
<b>Pachutě</b>	2	63	23	3	2	30	<b>20,5</b>

**Příloha 4:** Publikované články

## THE EFFECT OF FATTY ACID PROFILE ON THE STABILITY OF NON-TRADITIONAL AND TRADITIONAL PLANT OILS

*Josef Soukup, Lenka Kouřimská*

### ABSTRACT

The effect of fatty acid composition on the autoxidation of selected plant oils (rapeseed (canola) oil, corn oil, frying oil, grapeseed oil, pomace olive oil, rice bran oil, sunflower oil and high oleic sunflower oil) during their storage was studied. Oils were purchased in retail food stores. Oxidative stability of plant oils was monitored during the storage under the Schaal test conditions at 60 °C in 100 mL beakers and the dark for 40 days. The weight changes, the peroxide and acid values were analysed during the storage. Changes in the composition of fatty acids were analyzed by the gas chromatography-mass spectrometry. The results obtained by monitoring the weight changes of oils correlated with their peroxide values. The induction period in case of grapeseed and sunflower oils was 27 and 28 days respectively. The induction period for frying and rapeseed oils were around 35 days. The remaining four oils had induction periods over 40 days. The acid values at the end of experiment correspond to both the relative weight gain and the the peroxide values. The stability of oils depended mainly on the degree of fatty acids unsaturation. A strong negative correlation between oleic acid content and oil stability expressed as the peroxide value was found. The significant positive correlation was found in case of linoleic acid. The relative content of polyunsaturated fatty acids decreased during the storage while the content of saturated and monounsaturated fatty acids increased. The highest relative increase in oleic acid was found at the least stable oils, grapeseed and sunflower oils, by 37.5% and 25.3% respectively. The initial content of free fatty acids monitored by the acid value did not affect the oxidation rate. With consideration to all monitored parameters the grapeseed and the sunflower oils were the least stable. The most stable ones were olive pomace and high oleic sunflower oils.

**Keywords:** plant oil; autooxidation; oxidative stability; fatty acid; Schaal test

### INTRODUCTION

Vegetable oils differ in both their origin and composition. They are made from seeds, grains, sprouts, nuts, etc. They consist mainly of triacylglycerols (97%) which serve as a solvent for other lipophilic substances present in oils (sterols, fat-soluble vitamins – mainly tocopherols and tocotrienols, pigments including chlorophylls and carotenoids, phenolic compounds, phospholipids, free fatty acids and mono- and diacylglycerols). Oils differ in the degree of unsaturation, the type of triacylglycerol-forming fatty acids as well as the amount and type of unsaponifiable substances. These differences in composition are responsible for differences in oxidative stability of oils and their sensory and technological properties (Kamal-Eldin, 2006).

Oil stability is a resistance to oxidation during the processing and storage (Guillen and Cabo, 2002). It can be expressed as the time required to reach the critical point of oxidation, either in terms of sensory properties or the sudden acceleration of the oxidation process. Oxidation stability is an important indicator to determine the oil quality and its shelf life as the oxidation produces low-molecular compounds that affect sensory quality. These

compounds cause oil to become less acceptable or totally unacceptable both for consumers and for industrial use. During the oxidation, essential fatty acids are degraded and toxicologically undesirable compounds and oxidized polymers could be formed. Oxidation has a great effect on the taste, nutritional quality and safety of oils (Choe and Min, 2006; Matthäus, 2010; Angelovič et al., 2015).

Oil oxidation is influenced by many factors including fatty acid composition, processing, energy of heat or light, the presence, concentration and type of oxygen (triplet –  $^3\text{O}_2$  and singlet –  $^1\text{O}_2$ ), free fatty acids, mono- and diacylglycerols, transition metals, peroxides, thermally oxidized compounds, pigments, and antioxidants. These factors interactively affect the oxidation of oil and it is hard to differentiate the individual effect of each of them. Edible oil is oxidized during autoxidation (triplet oxygen –  $^3\text{O}_2$  reacts with the oil) and photosensitized oxidation (singlet oxygen –  $^1\text{O}_2$  reacts with the oil). Autoxidation of oils requires radical forms of acylglycerols, whereas photosensitized oxidation does not require lipid radicals –  $^1\text{O}_2$  reacts directly with double bonds (Choe and Min, 2006; Matthäus, 2010; Žabčiková and Červenka, 2015).

In order to minimize the oxidation of edible oil during the processing and storage, it is advisable to lower the temperature, exclude light and oxygen, remove metals and oxidized compounds, and use appropriate concentrations of antioxidants such as tocopherols and phenolic compounds (Choe and Min, 2006).

### Scientific hypothesis

The stability of plant oils during the storage under increased temperature is affected by the composition of fatty acids.

## MATERIAL AND METHODOLOGY

### Assessment of oil stability using the Schaal test

The oils were stored in open 100 mL beakers at 60 °C and the weight changes indicating the amount of oxygen absorbed in the oil were recorded. The increase in mass reflects the degree of oxidation of the monitored oil.

### Materials and analytical equipment

Oils were purchased in retail food stores. They were in one-liter clear plastic or colored glass bottles. All samples were odourless without any rancidity off-flavour and their expiry date was more than 10 months.

**Corn oil:** Made by Olitalia, via Meucci 22/A, Forli, Italy. The declared composition (per 100 mL of product) – 91 g of total fat, 13 g of saturated fatty acids (SFA), 23 g of monounsaturated (MUFA) and 55 g of polyunsaturated fatty acids (PUFA).

**Grape seed oil:** Made by Olitalia, via Meucci 22/A, Forli, Italy. The declared composition (per 100 mL of product) – 91 g of total fat total, 10 g of SFA, 19 g of MUFA and 62 g of PUFA fatty acids.

**Frying oil:** Made by Palma Group, a.s., Račianska 76, Bratislava, Slovak Republic. Mixture of low-erucic rapeseed oil (canola oil) and high oleic sunflower oil. The declared composition (per 100 mL of product) – 91.3 g of total fat, 7.2 g of SFA, 75.8 g of MUFA and 8.3 g of PUFA.

**Olive-pomace oil:** Made by Ondoliva, Urzante S.L., Ciudad, Agroalimentaria, Tudela (Navarra), Spain. The declared composition (per 100 mL of product) – 100 g of fat total, 13 g of SFA, 79 g of MUFA and 8 g of PUFA.

**Rice oil:** Made by Olitalia, via Meucci 22/A, Forli, Italy. The declared composition (per 100 mL of product) – 91 g of total fat, 22 g of SFA, 38 g of MUFA and 31 g of PUFA, 200 mg of  $\gamma$ -oryzanol and 16 mg of vitamin.

**Rapeseed (canola) oil:** Made by COP, Prins Albertlaan 12, Izegem, Belgium. The declared composition (per 100 mL of product) – 100 g of total fat, 8 g of SFA, 62 g of MUFA and 30 g of PUFA.

**Sunflower oil:** Made by Fabio Produkt spol. s.r.o., Holin 92, Jičín, Czech Republic. The declared composition (per 100 mL of product) – 92 g of total fat, 10 g of SFA.

**Sunflower oil with increased oleic acid content (organic farming product):** Made by Rapunzel Naturkost, Legau, Germany. The declared composition (per 100 mL of product) – 100 g of total fat, 6 g of SFA, 79 g of MUFA (of which 79 g is oleic acid) and 15 g of PUFA.

### Analytical equipment

Analytical balances AND, FR 200 MK II; capacity 210 g, resolution  $d = 0.1$  mg; thermostats Memmert 54853 and POL-EKO ST.

### Procedure

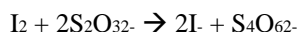
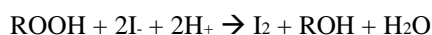
Approximately 25 g of oil was weighed (with the accuracy to four decimal places) into the 100 mL beakers (two parallel samples from each oil). The beakers were placed in the thermostat set at 60 °C for 40 days. One series of samples was regularly weighed and another series of the same samples was regularly sampled for the peroxide and acid values determinations. The relative weight gain ( $\Delta m$ ) was calculated according to the formula:

$$\Delta m = \frac{m_x - m_p}{m_x}$$

where  $m_x$  is the weight of the oil at the day of weighing and  $m_p$  is the weight of the oil at the beginning of the storage (day = 0).

### Peroxide value determination

Peroxide value was used to monitor the amount of primary oxidation products produced during the Shaal tests. The determination is based on the reaction of the sample with potassium iodide solution in acetic acid and chloroform solution according to the **ISO 3960:2017**. The released iodine is then titrated with standard sodium thiosulphate. Determination is based on the reactions:



The results were expressed in millimoles of active oxygen per kilogram of oil. The peroxide number was measured at 0; 5; 10; 20; 30 and 40 days of storage.

### Chemicals

Glacial acetic acid p.a. 99.8% (PENTA), chloroform p.a. (Lachner), potassium iodide p.a. (PENTA), sodium thiosulphate pentahydrate p.a. (Lachner), potassium dichromate, hydrochloric acid 35% (Lachin), starch soluble p.a. (Lachema), distilled water.

### Acid value determination

The acid value determination was used to monitor the changes in the amount of free fatty acids during the Shaal test. The method is based on the neutralization of free fatty acids by ethanolic potassium hydroxide solution according to the **ISO 660:2009**. The acid value was measured at days 0; 20 and 40.

### Chemicals

Diethylether p.a. (PENTA), ethanol 99.8%, potassium hydroxide p.a. (Lachema), phenolphthalein (Lachin), oxalic acid dihydrate p.a. (Lachema).



### Determination of fatty acids profile by gas chromatography

Gas chromatography was used to determine the fatty acid representation in fresh oils and oils stored for 40 days at 60 °C and to determine the changes of the fatty acid saturation during the oils rancidification. The base esterification method using 0.5M methanolic potassium hydroxide (KOH) was used for fatty acid derivatisation. Methyl esters of the fatty acids were then analysed using gas chromatography-mass spectrometry Agilent 7890A GC coupled to Agilent 5975C single-quadrupole mass detector equipped with an Rt-2560 column (100 m × 0.25 mm ID, 0.25 µm film, Restek Corporation, Bellefonte, USA). Hexane was used as the solvent and 1 µL of the sample was injected in the split mode (ratio 50:1) into the injector, which was heated to 225 °C. Starting at 70 °C for 2 min, the oven temperature was increased at a rate of 5 °C.min<sup>-1</sup> to 225 °C where it was kept constant for 9 min, and then subsequently increased at a rate of 5 °C.min<sup>-1</sup> to a maximum of 240 °C where it was maintained for 25 min. Helium was used as the carrier gas at a flow rate of 1.2 mL.min<sup>-1</sup>. The MS analysis was carried out in full scan mode with a mass range of 40 – 400 m.z<sup>-1</sup>, and the electron ionization energy was set at 70 eV. The methylated fatty acids were identified using a Restek Food Industry FAME mix (cat. No. 35077) and by comparing their mass spectra with those reported in the National Institute of Standards and Technology Library (NIST, USA). The proportions of the fatty acids were calculated using the area normalisation method and expressed as relative percentage of all fatty acids.

#### Chemicals and equipment

Methanol (Scharlau), potassium hydroxide p.a. (Lachema), n-heptane (MERCCK), sodium chloride p.a. (PENTA), sodium sulphate anhydrous pure (Lachema).

#### Statistical analysis

The data were processed using Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, Seoul, Korea) and statistically evaluated using the Statistica 13.2 software (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) using a correlation matrix with a significance level of  $\alpha = 0.05$  and a tree-clustering analysis.

## RESULTS AND DISCUSSION

The difference in weight increase of individual oils during the storage could be seen in Figure 1, the peroxide and acid values changes are in Figure 2 and Figure 3. Representation of SFA, MUFA and PUFA in oils at the beginning and at the end of the storage are in Figures 4 and Figure 5. Relative contents of the main fatty acids at the beginning (day 0) and at the end of experiment (day 40) are given in Table 1. The results of tree-clustering analysis are seen in Figure 6.

Figure 1 shows that according to the relative weight increase the tested oils could be divided into three groups: very oxidizable unstable oils – grapeseed and sunflower oils, medium stable oils – frying, rapeseed, corn and rice oils, and very stable oils – olive pomace and sunflower-HO oils. Peroxide number values (Figure 2) again clearly separated very stable oils from the others. Figure 3 shows that though rice and olive oils had higher acid value before the storage

test these oils were not subject to such great hydrolytic changes as sunflower and grapeseed oils.

The results of the Schaal tests showed the lowest increase in weight gain in olive oil and sunflower oil with increased oleic acid content. On the contrary, the highest increase was in traditional sunflower oil and grape seed oil. **Foster, Williamson and Lunn (2009)** explained the low oxidative stability of sunflower oil by high levels of linoleic acid and low  $\gamma$ -tocopherol content. Low  $\gamma$ -tocopherol content may also contribute to the low stability of grape seed oil as well as its high linoleic acid representation. The increased stability of sunflower-HO oil is due to its high content of oleic acid and the low content of polyunsaturated fatty acids (**Smith, King and Min, 2007**). The high oleic acid content supported by the presence of a number of non-saponifiable components is responsible for the high stability of olive oil (**Gunstone, 2005; Firestone, 2005**). Olive oil, compared to conventional sunflower oil, also shows good stability under oxidation at 180 °C for 60 minutes, which **Silva et al. (2010)** attributed to the high content of phenolic compounds.

The results obtained by monitoring the weight changes of oils correlated with their peroxide values ( $R_2 = 0.83$ ). It is seen from Figure 2 that sunflower and grape seed oils showed a peroxide value decrease after reaching its maximum at about 30 days, i.e., hydroperoxides (primary oxidation products) have already begun to convert to the secondary oxidation products. Corn and frying oils seem to reach their peroxide value maxima while the rapeseed and rice oils still exhibited the increase in the peroxide number at the day 40. On the other hand, the increase in the peroxide value of olive oil and high oleic sunflower oil was very small and at the end of the measurement it was far from the propagation stage of the radical chain autooxidation reaction.

It was possible to determine the induction period (IP) in case of grapeseed and sunflower oils, which was 27 (grapeseed oil) and 28 (sunflower oil) days. The IP for frying and rapeseed oils could be estimated around 35 days. The remaining four oils did not show the clear beginning of fast radical chain reaction and had IP over 40 days.

The acid values at the end of experiment correspond to both the relative weight gain ( $R_2 = 0.97$ ) and the peroxide values ( $R_2 = 0.90$ ). Oils exhibited faster oxidative decomposition have achieved significantly higher acid value (indicating the hydrolytic changes extension) than stable oils at the end of the measurement. Sunflower-HO and olive oils did not show a significant increase in the acid value. On the other hand, the increase between the 20th and the 40th day was significant for other oils. Although the low content of free fatty acids is one of the factors influencing the stability of oils, it is clear from the high initial acidity value of olive oil that this is not the only one determining factor.

Regarding to fatty acid composition (Table 1), the largest decrease during the storage was in PUFA. On the contrary, oleic and palmitic acids relative contents increased. For olive oil, which showed high stability in all previous tests, the change in composition was minimal compared to other oils. It has been confirmed that oils containing less than 10% of PUFA are significantly more stable than those containing more double bonds (**Velišek, 2014**).

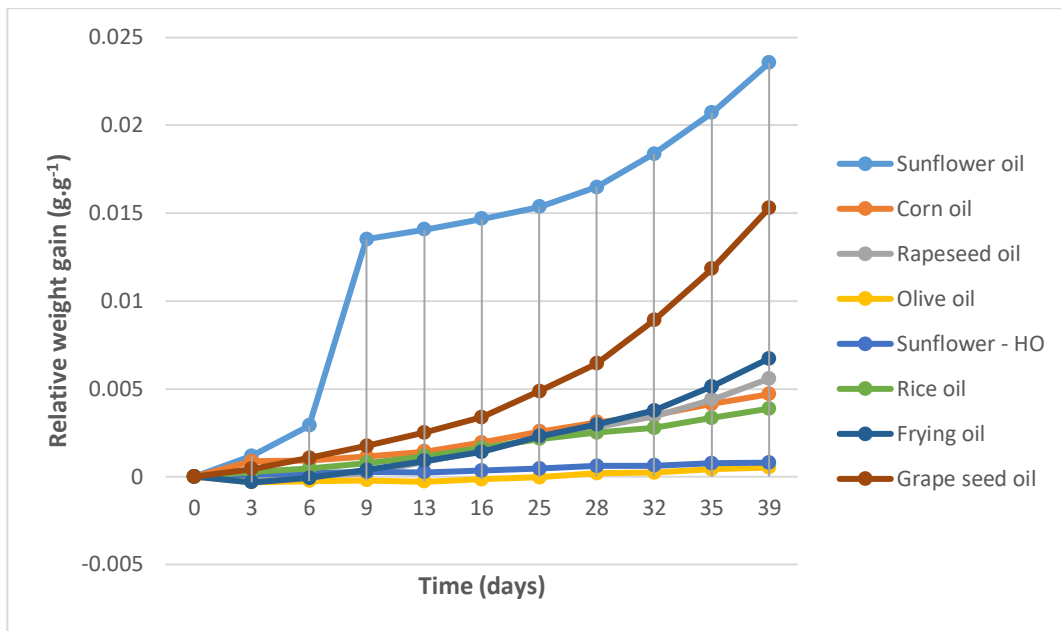


Figure 1 The relative weight changes of individual oils during the Schaal test.

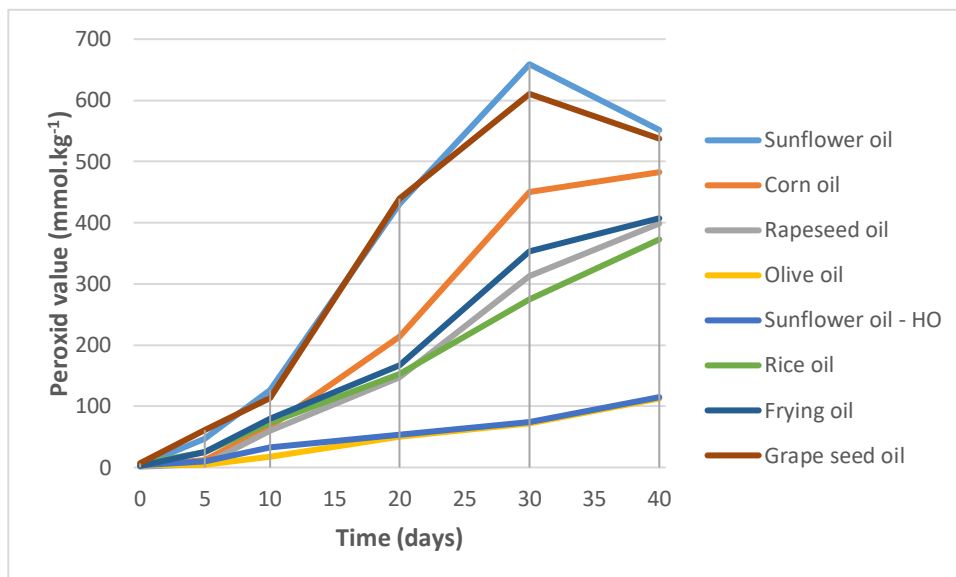


Figure 2 The peroxide value changes of individual oils during the Schaal test.

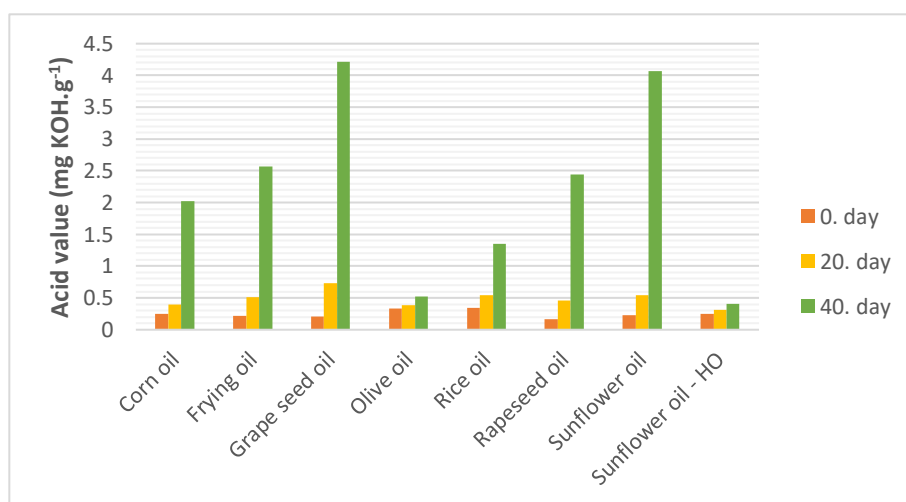


Figure 3 The acid value changes of individual oils during the Schaal test.

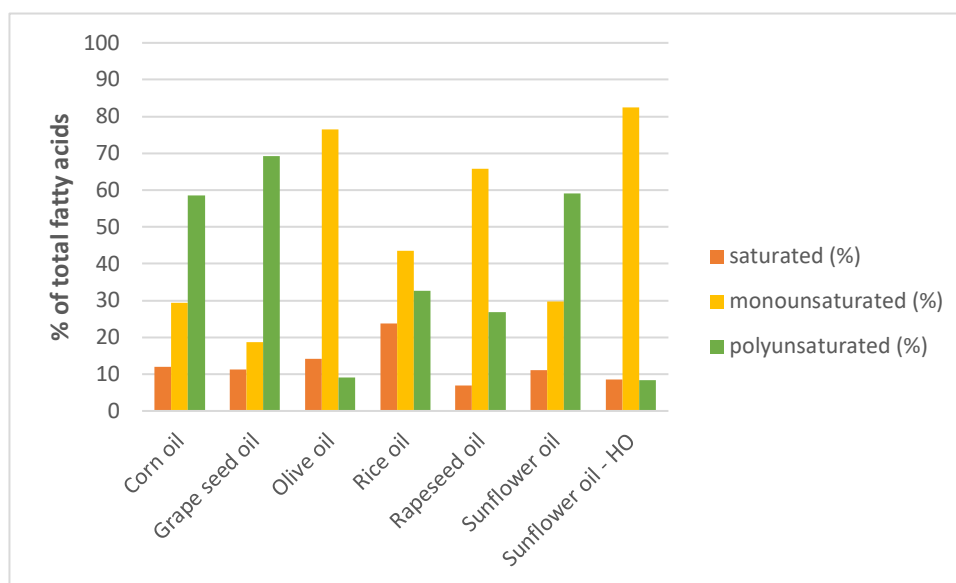


Figure 4 Representation of fatty acids – day 0.

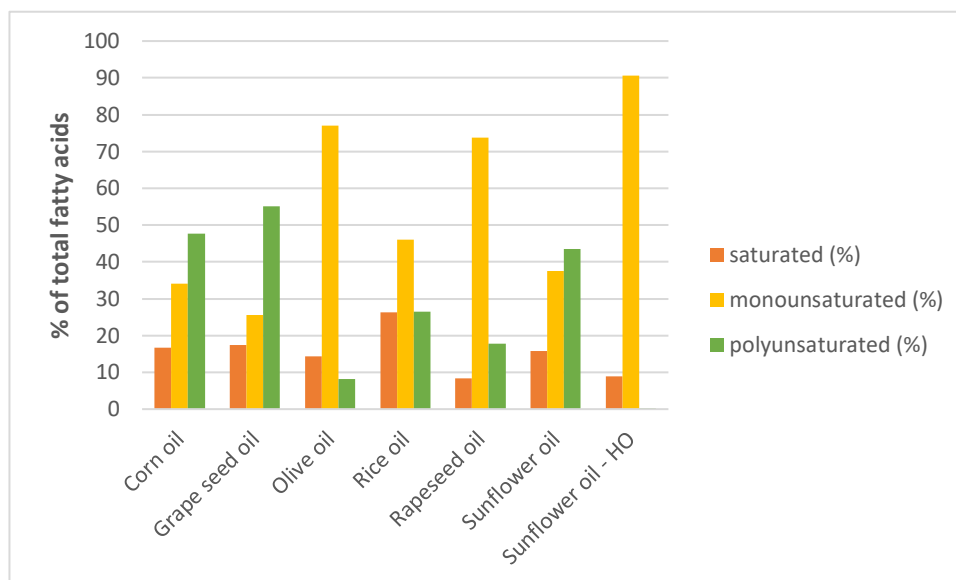


Figure 5 Representation of fatty acids – day 40.

Table 1 Changes of the main fatty acids in oils during the Schaal test.

Oil	Fatty acid content (% of all FA)				
	C16:0 day 0/day 40	C18:0 day 0/day 40	C18:1 cis-9 day 0/day 40	C18:2 cis 9.12 day 0/day 40	C18:3 cis-9.12.15 day 0/day 40
Corn	9.3/13.7	1.8/2.2	22.9/33.6	57.2/47.2	0.7/0.4
Grapeseed	6.8/10.3	4.3/6.4	18.4/25.3	69.1/54.8	0.1/<0.1
Olive	10.1/10.3	3.1/3.1	75.5/76.0	8.4/7.6	0.6/0.5
Rice	19.3/21.9	2.2/2.3	42.6/45.2	31.5/25.8	1.1/0.7
Rapeseed	4.3/5.3	1.6/1.9	63.4/71.5	18.6/13.8	7.8/3.8
Sunflower	5.7/8.8	3.8/5.0	29.5/37.2	58.4/42.9	0.6/0.3
Sunflower-HO	3.8/4.3	2.8/2.9	82.6/90.6	8.1/0.3	0.3/<0.1

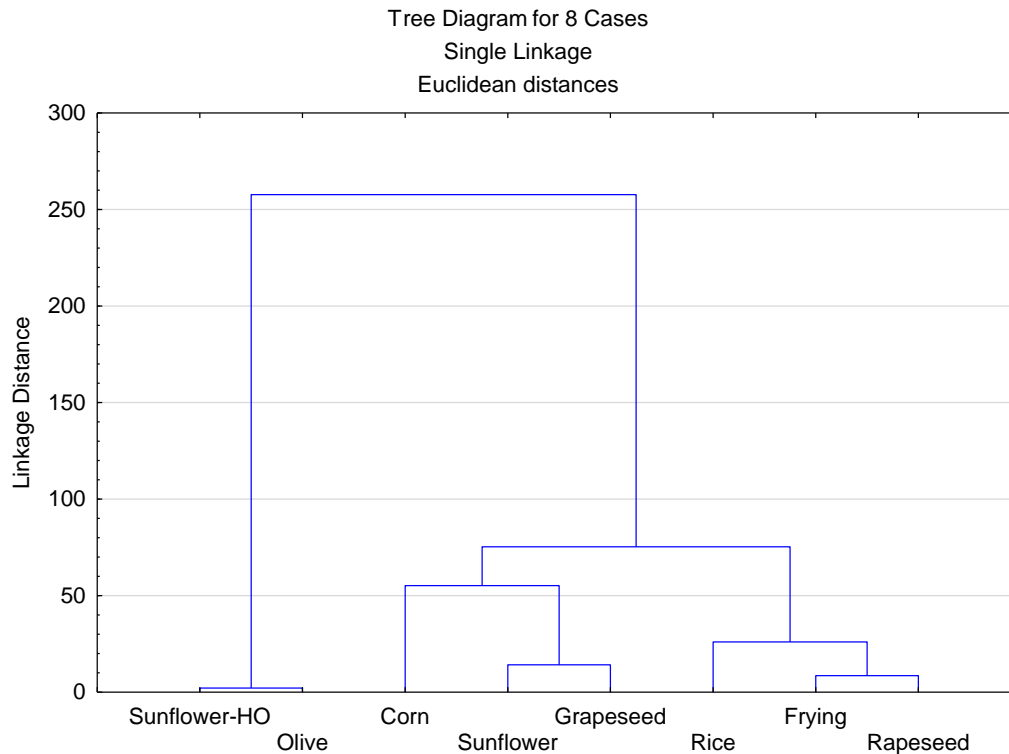


Figure 6 Cluster analysis results of oils - day 40.

A strong negative correlation ( $R_2 = -0.93$ ) between oleic acid content and oil stability expressed as the peroxide value was found. The significant positive ( $R_2 = 0.93$ ) correlation was found in case of linoleic acid. This confirms the assumption that the oil unsaturation decreases its stability.

Considering the weight gain, peroxide and acid values at the end of experiment altogether in cluster analysis (Figure 6) it can be clearly seen that oils with dominating oleic acid (olive and sunflower-HO) and low degree of polyunsaturation are very distant from all other samples.

## CONCLUSION

The decrease in polyunsaturated acids and the increase in saturated and monounsaturated acids were observed in different kind of oils during their storage at 60 °C. There was a strong negative correlation between oleic acid content and stability expressed by the peroxide value. As well as a strong positive correlation between linoleic acid content. The stability of vegetable oils therefore decreases with increasing amounts of polyunsaturated fatty acids. The initial free fatty acid content does not significantly affect the stability of the oil. In case of the least stable oils (sunflower oil and grapeseed oil), the hydroperoxides began to change to some secondary oxidation products during the monitoring period.

## REFERENCES

Angelovič, M., Jablonický, J., Tkáč, Z., Angelovič, M. 2015. Oxidative stability of fatty acid alkyl esters: A review. *Potravinarstvo*, vol. 9, no. 1, p. 417-426. <https://doi.org/10.5219/500>

Firestone, D. 2005. Olive oil. In Shahidi F *Bailey's Industrial Oil and Fat Products (6th Edition)*. New Jersey : John Wiley & Sons. p. 213-267 ISBN: 978-0-471-38460-1.

and their health effects. *Nutrition Bulletin*, vol. 34, no. 1, p. 4-47. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2008.01738.x>

Guillen, M. D., Cabo, N. 2002. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry*, vol. 77, no. 4, p. 503-510. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00371-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00371-5)

Gunstone, F. D. 2005. Vegetable oils. In Shahidi F. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products (6th Edition)*. New Jersey : John Wiley & Sons. p. 213-267 ISBN: 978-0-471-38460-1.

Choe, E., Min, D. B. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, vol. 5, no. 4, p. 169-186. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.00009.x>

ISO 3960:2017. *Animal and vegetable fats and oils – Determination of peroxid value – Iodometric (visual) endpoint determination*.

ISO 660:2009. *Animal and vegetable fats and oils – Determination of acid value and acidity*.

Kamal-Eldin, A. 2006. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, vol. 108, no. 12, p. 1051-1061. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600090>

Matthäus, B. 2010. Oxidation of edible oils. In Decker, E., Elias, R., McClements, D. J. *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications. Management in Different Industry Sectors*. Cambridge : Woodhead Publishing. p. 183-238. ISBN: 978-1-84569-983-3. <https://doi.org/10.1533/9780857090331.2.183>

Silva, L., Pinto, J., Carrola, J., Paiva-Martins, F. 2010. Oxidative stability of olive oil after food processing and comparison with other vegetable oils. *Food Chemistry*, vol.

121, no. 4, p. 1177-1187.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.001>

Smith, S. A., King, R. E., Min, D. B. 2007. Oxidative and thermal stabilities of genetically modified high oleic sunflower oil. *Food Chemistry*, vol. 102, no. 4, p. 1208-1213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.058>

Velíšek J. 2014. *The Chemistry of Food*. 1st ed. Chichester, UK : Wiley-Blackwell, 1124 p. ISBN: 978-1-118-38381-0.

Žabčíková, S., Červenka, L. 2015. Modified carbon paste electrode as a tool for the evaluation of oxidative stability of rapeseed oil. *Potravinarstvo*, vol. 9, no. 1, p. 347-351. <https://doi.org/10.5219/432>

### Acknowledgments:

We would like to thank Ing. Kristina Bryanová for the analysis of samples. This work was supported from European Regional Development Fund No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000845 and by

METROFOOD-CZ research infrastructure project (MEYS Grant No: LM2018100) including access to its facilities.

### Contact address:

Josef Soukup, Czech University of Life Sciences (CULS), Faculty of Agrobiological Sciences, Department of Microbiology, Nutrition and Dietetics, Kamýčká 129, 165 00 Suchbát, Prague, Czech Republic, Tel.: +420 777 572 119,

E-mail: [soukupjosef@af.czu.cz](mailto:soukupjosef@af.czu.cz)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7015-9573>

\*Lenka Kouřimská, Czech University of Life Sciences (CULS), Faculty of Agrobiological Sciences, Department of Microbiology, Nutrition and Dietetics, Kamýčká 129, 165 00 Suchbát, Prague, Czech Republic, Tel.: +420 224 383 507,

E-mail: [kourimska@af.czu.cz](mailto:kourimska@af.czu.cz)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1102-7239>

<https://doi.org/10.17221/235/2021-CJFS>

## Effects of frying oil type on its stability and composition of fried food

JOSEF SOUKUP<sup>1\*</sup>, LENKA KOUŘIMSKÁ<sup>1</sup>, MONIKA SABOLOVÁ<sup>1</sup>, MONIKA OKROUHLÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Nutrition and Dietetics, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Prague, Czech Republic

\*Corresponding author: [soukupjosef@af.czu.cz](mailto:soukupjosef@af.czu.cz)

**Citation:** Soukup J., Kouřimská L., Sabolová M., Okrouhlá M. (2022): Effects of frying oil type on its stability and composition of fried food. Czech J. Food Sci., 40: 323–330.

**Abstract:** The stability of three frying oils (rapeseed, sunflower, and rice) and their effect on the nutritional value of deep-fried fish fingers (FF) and potato croquettes (PC) was evaluated, considering the nutritional importance of reducing the amount of oil absorbed by fried foods. Ten frying cycles were performed for each food to mimic the repeated frying conditions. Dry matter content of fried foods was determined gravimetrically; fat extraction was performed using a Soxhlet apparatus. Oil stability changes were evaluated using the Schaal test; colour changes were monitored spectrophotometrically. Repeated frying had no significant effect ( $P > 0.05$ ) on the fat content of the tested foods but influenced the dry matter content of PC. The highest and lowest oxidative stabilities during repeated frying were observed for rice and sunflower oil, respectively. During the frying of FF, all oils tended to darken after each frying, which was not observed for PC. The intake of fat owing to the consumption of one portion of the fried FF (150 g) or PC (200 g) approximately equals 9 g and 5 g, respectively. This demonstrates that fried foods themselves (not only the oil soaked) could be a considerable source of fat.

**Keywords:** fish fingers; potato croquettes; fat absorption; oil oxidation; oil colour

Fried foods are widely popular because of their crunchy crust, characteristic smell and taste, and golden-brown colour resulting from the Maillard reaction (Bouchon 2009). Potato croquettes (PC) and fish fingers (FF) are some of the most popular foods prepared by deep frying, during which foods are immersed into a thick layer of oil pre-heated to 150–200 °C (Khaled et al. 2015).

When choosing frying oil, one should consider that its type affects the organoleptic properties and nutritional value of fried foods (Rossi et al. 2007). The main factors affecting the quality of frying oil are its fatty acid composition, presence of unsaponifiable accompanying compounds and antioxidants, age, fried food

composition, and frying technology (Choe and Min 2007). During frying, oil gets absorbed by the prepared food and thus increases its energy value.

Vegetable oils rich in linoleic acid endow fried food with its characteristic aroma and taste but are less oxidatively stable than those rich in saturated and monounsaturated fatty acids. Sunflower oil is rich in polyunsaturated linoleic (40–74%) and oleic (13–40%) acids and is, therefore, less oxidatively stable than oils predominantly containing monounsaturated fatty acids. Rapeseed oil contains oleic (52–67%), linoleic (16–25%), and linolenic (6–14%) acids (Velíšek 2014). Rice oil is produced from sprouts or bran and contains oleic

Supported by the METROFOOD-CZ research infrastructure project [Ministry of Education, Youth and Sports (MEYS), Project No. LM2018100], including access to its facilities.

(42%), linoleic (39%), and palmitic (15%) acids as well as tocochromanols and  $\gamma$ -oryzanol, therefore having a high nutritional value (Nayik et al. 2015).

The excessive intake of fried foods adversely affects human health and promotes the development of conditions such as obesity, cardiovascular diseases, and cancer (Stott-Miller et al. 2013). Therefore, much attention is currently directed at reducing fat intake, e.g. by decreasing the amount of oil absorbed by food during frying (Ziaifar et al. 2008).

Herein, we examined the effect of the frying oil type and repeated frying on the fat content of fried food, testing if deep frying affects the fat content of fried food; oil absorption is affected by the type of frying oil and fried food and oil stability during repeated frying is affected by the oil type.

## MATERIAL AND METHODS

**Sample preparation.** Sunflower (Fabio Product, Holín, Czech Republic), rapeseed (Glencore Agriculture Czech, Ústí nad Labem, Czech Republic), and rice (Gaston, Prague, Czech Republic) oils were used as frying media for pre-fried FF and PC (Bidfood, Opava, Czech Republic). Frying was performed at the temperature recommended by the fryer manufacturer (Nova, Belgium), at 180 °C for 3 min for FF (one piece per frying, ~25 g) and at 170 °C for 5 min for PC (two pieces per frying, ~21.5 g). Ten batches of frying for each food type were prepared to mimic the repeated frying conditions of (fast food) restaurants. During frying, the oil was not refilled. The oil volume and drip-off time for each food equalled 2 L and 15 min, respectively.

After frying, the samples were frozen at –80 °C, lyophilised [cooling unit (CoolSafe 110-4; SCANVAC, Denmark) and rotary vane pump (FB65460; ILMAC, Germany)], and homogenised for 1–2 min using an IKA laboratory grinder (Yellowline A10; Ilabo, Czech Re-

public). In total, 66 samples were analysed: 10 batches of FF and 10 batches of PC per each oil type, non-fried FF ( $n = 3$ , control), and non-fried PC ( $n = 3$ , control).

**Fried foods analyses.** Dry matter was determined by drying at  $103 \pm 2$  °C to constant weight (UFB 500 oven; Memmert GmbH + Co.KG, Germany). Fat content was determined using the Soxhlet method (SER 148; VELP Scientifica, Italy). A homogenised sample (2.5 g) was extracted with petroleum ether (70 mL; Lachner, Czech Republic) at 40–65 °C for 110 min.

**Schaal test.** After a certain number of frying cycles (1, 3, 5, 7, and 10), ~25 g of oil were weighed into a 100 mL beaker, placed into a thermostat (Binder 2.0; Binder, Germany) at 60 °C for 77 days, and weighed twice per week on analytical balances (KERN ABJ 120-4NM; KERN & Sohn, Germany). The observed weight changes indicated the amount of oxygen absorbed by the oil, i.e. the degree of oil oxidation. The relative change in weight was calculated as the difference between the weight of the sample on a given day and its weight on day zero divided by the weight on day zero.

**Oil colour changes.** The colour of the oil was determined by spectrophotometer Minolta Spectra Magic TM NX (Konica Minolta Sensing, Inc., Japan) after each frying cycle. The system of the CIELAB colour space ( $L^*a^*b^*$ ) was used.

**Statistical analysis.** The data were evaluated by the Statistica 12 software (StatSoft, Inc., USA) using Student's *t*-test, analysis of variance (ANOVA), and Sheffe's post-hoc test at a probability level of 0.05.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Dry matter and fat contents.** Dry matter and fat contents were significantly affected ( $P < 0.0001$ ) by the fried food type. Therefore, the effect of the frying medium was evaluated separately for each food type.

The oil type had no effect ( $P > 0.05$ ) on the dry matter and fat contents of the fried FF (Table 1). The re-

Table 1. Average dry matter and fat contents of 10 batches of fish fingers (FF) fried in different oils (mean  $\pm$  SD;  $n = 10$  for oils and  $n = 3$  for control)

Oil	Dry matter		Fat	
	[g (100 g sample) <sup>-1</sup> ]	[g (100 g sample) <sup>-1</sup> ]	[g (100 g dry matter) <sup>-1</sup> ]	[g (100 g dry matter) <sup>-1</sup> ]
Rapeseed	39.03 $\pm$ 1.18 <sup>a</sup>	6.17 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	15.81 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	
Sunflower	39.99 $\pm$ 1.79 <sup>a</sup>	6.22 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	15.55 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	
Rice	38.69 $\pm$ 0.77 <sup>a</sup>	6.05 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	15.64 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>	
Control	38.57 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	6.10 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	15.82 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup>Different superscript letters indicate statistically significant differences between variables at  $P < 0.05$  within the same column

<https://doi.org/10.17221/235/2021-CJFS>

sults of dry matter and fat content did not show any tendency (1<sup>st</sup>–10<sup>th</sup> frying) when frying the same food in the same type of oil; therefore, Tables 1, 2 show the average results.

In the case of PC, a difference in the dry matter content was observed between the control sample and samples fried in all types of oils. There were also differences in the dry matter and fat in dry matter contents among the tested samples.

The dry matter content of our pre-fried PC was different from the value of 30.00% determined for pre-fried potatoes by Romero et al. (2007), which can be ascribed to the different samples used. After the 10<sup>th</sup> frying of PC in sunflower oil, their dry matter content reached 40.00%, which was smaller than the value of 64.30% determined by Romero et al. (2007) for potatoes after the 16<sup>th</sup> frying. Despite the above disagreement in the dry matter content owing to the different sample types and methodologies used, prior works indicate that repeated deep frying increases the dry matter content of potatoes (Schuten et al. 2004; Ziaifar et al. 2008). However, in the case of our PC, frying had no significant effect on the dry matter content.

The water content of pre-fried FF did not significantly change after repeated frying. In contrast, Pérez-Camino et al. (1991) found that the moisture content of pre-fried cod in batter (58.20%) changed to 41.50% after the first deep frying in sunflower oil and stayed almost the same (42.00%) when deep frying was repeated in the already used sunflower oil. This difference can be ascribed to the fact that FF do not contain only fish meat, and the amount of water lost during frying is also affected by the crumb (coating) on the surface.

Chen et al. (2009) probed the effect of frying (180 °C in palm oil) on the content of fat in the crust of pre-fried fish pieces, revealing that it increased from 10.06% to 14.79% after frying. This higher (compared to our results) amount of absorbed fat is probably because the crust absorbs more fat than the whole sam-

ple (Ziaifar et al. 2008) and unlike Chen et al. (2009), we allowed the fat to drip off the fried products for 15 min, which could have decreased the total fat content, as confirmed by Ziaifar et al. (2008). Kita et al. (2005) reported that the fat content of pre-fried French fries increased by 6.00% after deep frying in rapeseed oil, while Kita et al. (2007) found that the amount of oil absorbed by potato chips during deep frying at 170 °C increased in the order of rapeseed < olive < sunflower oil. On the contrary, according to our results, PC absorbed the lowest amount of fat when fried in sunflower oil. The above discrepancies can be attributed to the different types of food samples used. In the case of FF, oil type had no statistically significant effect on the fat content calculated per 100 g of the sample or per 100 g of dry matter. On the other hand, the fat content per 100 g of dry matter of PC was affected by oil type (the smallest for sunflower oil). This is probably because most of the oil was absorbed by the crust, which accounts for a minor part of the total sample, as well as crust composition and surface morphology (Moreno and Bouchon 2013). Kita et al. (2005) wrote that fat absorption is higher when the amount of unsaturated fatty acid increases in oil. On the other hand, Vitrac et al. (2000) showed that oil uptake is weaker with an unsaturated oil such as cotton oil than with palm oil because of the former's weak viscosity during cooling and its ability to drain easily. These contradictions could be explained by the fact that oil viscosity is very influential in the oil absorption mechanism but is involved both in adhesion and draining dynamics. Fat content can be a sum of both, fat penetration into the crust and fat crystallisation on the surface (Ziaifar et al. 2008). However, the differences in the fat content per dry matter were not very big in absolute terms. So, this conclusion would need to be examined more in the future.

**Effect of frying on oil oxidative stability.** The results of the Schaal test (Figures 1–3) revealed that the

Table 2. Average dry matter and fat contents of 10 batches of potato croquettes (PC) fried in different oils (mean ± SD;  $n = 10$  for oils and  $n = 3$  for control)

Oil	Dry matter		Fat	
	[g (100 g sample) <sup>-1</sup> ]	[g (100 g sample) <sup>-1</sup> ]	[g (100 g dry matter) <sup>-1</sup> ]	[g (100 g dry matter) <sup>-1</sup> ]
Rapeseed	47.84 ± 0.77 <sup>a</sup>	2.62 ± 0.04 <sup>a</sup>	5.48 ± 0.08 <sup>b</sup>	
Sunflower	48.05 ± 1.51 <sup>a</sup>	2.58 ± 0.10 <sup>a</sup>	5.37 ± 0.15 <sup>c</sup>	
Rice	48.18 ± 0.79 <sup>a</sup>	2.63 ± 0.04 <sup>a</sup>	5.46 ± 0.11 <sup>b</sup>	
Control	46.22 ± 0.41 <sup>b</sup>	2.58 ± 0.01 <sup>a</sup>	5.59 ± 0.02 <sup>a</sup>	

<sup>a-c</sup>Different superscript letters indicate statistically significant differences between variables at  $P < 0.05$  within the same column



highest and lowest oxidative stabilities were observed for rice and sunflower oils, respectively. Figure 1 compares the stabilities of oils before frying, showing that, although a rapid and clear beginning of the propagation phase was observed for sunflower oil, no such sharp difference between the initiation and propagation phases was observed for rapeseed oil. The induction period (IP) was around 12 days for sunflower oil and 14 days for rapeseed oil. In the case of rice oil, the IP could not be determined, as a continuous increase in the sample weight due to oxidation was observed.

Figure 2 shows that the frying medium stability decreased after the first frying and demonstrates that the IPs of sunflower oil (11 days for FF and 10 days for PC) were close to those obtained for rapeseed oil (13 days for FF and 12 days for PC). For rice oil, no steep weight gain associated with the beginning of the propagation phase could be observed. The oil stability further decreased after the last (10<sup>th</sup>) frying (Figure 3). In this case, the IPs of sunflower/rapeseed oil were 8 days/9 days for FF and 9 days/12 days for PC, respectively. It was again difficult to detect the beginning of propagation phase in rice oil, but some change in the curve can be seen around 24 days and 20 days for FF and PC, respectively.

The short IP for sunflower oil reflects its high content of polyenoic fatty acids. Rapeseed and rice oil are less unsaturated and therefore more stable to oxidation. Of course, other factors are also important, such as natural antioxidants, the method of processing, and storage. It is also visible that the relative weight gain decreased after about 60 days, probably because the primary products of oxidation (peroxides, respectively hydroperoxides) already started to decrease and change into secondary oxidation products. These secondary oxidation products can also be volatile under the conditions of the Schaal test, so the weight of the monitored sample can decrease over a longer period. Wroniak et al. (2015) showed that sunflower oil had lower oxidative stability than rapeseed oil, which

is in line with our results. Maszewska et al. (2018a) found that rapeseed and rice oils had similar stabilities. In our study, rice oil showed significantly higher oxidation stability than rapeseed oil. Yang et al. (2016) identified rice oil as more stable than soybean and cottonseed oils, ascribing this increased stability to the natural antioxidant ( $\gamma$ -oryzanol) present in rice oil. In the study of Maszewska et al. (2018b), it was concluded that rapeseed oil was significantly less stable than palm oil, which is rich in saturated fatty acids.

**Effect of frying on oil colour.** In the statistical evaluation of all obtained data, no differences were found between the samples in terms of the colour parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$ ) depending on the number of frying batches. On the contrary, differences were found between the samples depending on the type of oil and fried food. During the frying of FF, all the tested oils tended to get slightly darker after each frying batch (decrease in the  $L^*$  value) (Figure 4), but the same tendency was not observed for PC. Contrarily, during the frying of PC in rice oil (until the 5<sup>th</sup> frying) and in sunflower oil (until the 7<sup>th</sup> frying) the oil slightly brightened. During frying in rapeseed oil, the oil became brighter after the first frying; then, it darkened from the 3<sup>rd</sup> to the 10<sup>th</sup> frying. There was a difference between the  $L^*$  values of the rice and sunflower oils and those of the rapeseed and sunflower oils (sunflower oil was brighter).

Evaluating parameter  $a^*$  [from red (+) to green (-)], it can be seen from Figure 5 that when the FF were fried in rice and rapeseed oils, the  $a^*$  value shifted from green toward red. Samples of PC fried in rice and rapeseed oils were different from other samples. Regarding the effect of the frying medium, there was a difference between the  $a^*$  values of the rice and sunflower oils and those of the rapeseed and sunflower oils (sunflower oil was less green).

As can be seen in Figure 6, there were slight changes in parameter  $b^*$  [from yellow (+) to blue (-)] during frying in all samples. Sunflower oil exhibited lower

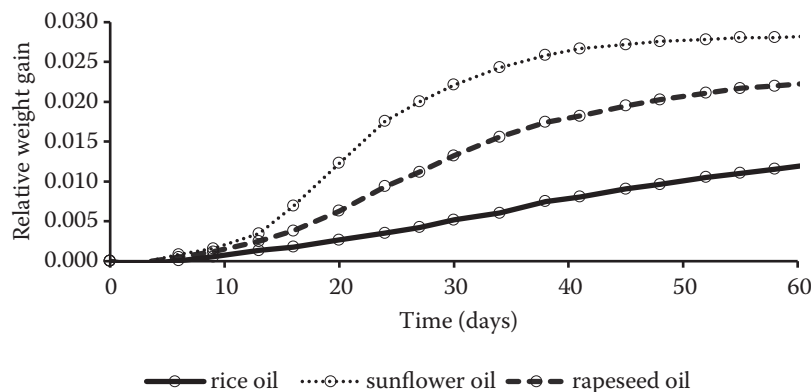


Figure 1. Oxidative stability of different oils before frying

<https://doi.org/10.17221/235/2021-CJFS>

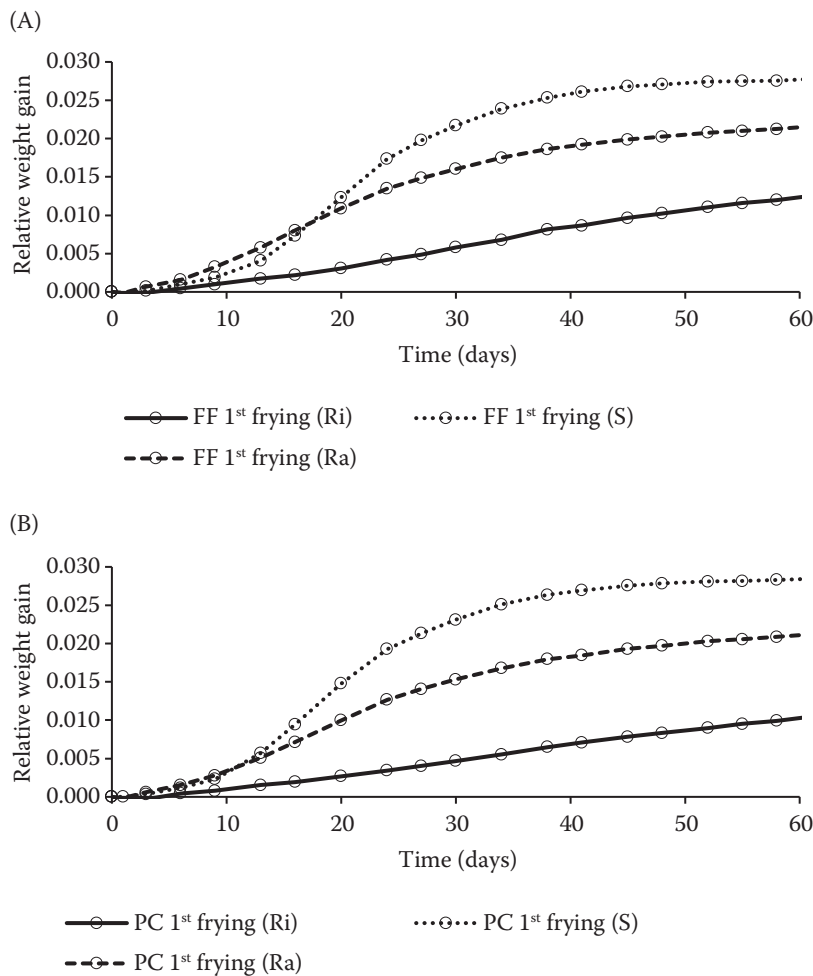


Figure 2. Oxidative stability of different oils after the first frying of (A) fish fingers (FF) and (B) potato croquettes (PC)

Ri – rice oil; Ra – rapeseed oil; S – sunflower oil

$b^*$  values compared to other samples and was less yellow. There were differences between all oils.

Oils, in which FF were fried, darkened after every frying batch, probably because breadcrumb particles from the FF leaked into the oil. This trend was not observed for PC, potentially because their surface was far smoother; thus, not many particles could penetrate into the oil and contribute to colour formation. Although, there was no statistically significant difference. This is in line with the observations and theories of Lazarick (2012) and Bordin et al. (2013). Lazarick (2012) found that protein products caused faster darkening and thermo-oxidative deterioration of the frying oil. This breakdown was further supported by the addition of other food components, such as glucose, amino acids, and lipid hydroperoxides, in concentrations higher than 5% of the frying oil. Breadcrumbs contributed to oil colour formation owing to particles from the food crust disintegrating into the frying oil to further accelerate browning reactions. In the work of Srivastava and Semwal (2015), colour values showed a decrease in  $L^*$  and an increase in the  $a^*$  and  $b^*$  values

after 8 h of continuous frying at  $180 \pm 5$  °C in virgin coconut oil. A linear decrease in  $L^*$  with increasing frying days of soybean oil was also noted by Ma et al. (2016).

Unfortunately, there is a lack of data on colour changes of oils tested in our work, as many authors focus on the colour changes of fried food (not the oil) (Krokida et al. 2001; Salehi 2019). In these cases, the  $L^*$  value often decreases (products become darker), and that could affect the oil colour itself.

**Nutritional evaluation.** According to current recommendations, the total fat intake should not exceed 30% of total energy intake for a lightly working adult, which is ~70 g per day (WHO 2020). Our results showed that the intake of fat through one serving of fried FF (150 g) or PC (200 g) corresponds to approximately 9 g and 5 g, respectively. In contrast, according to data from the EuroFIR (2020) database, the total fat content of pre-fried FF in different oils is 12–16 g (100 g)<sup>-1</sup> [18–24 g (150 g)<sup>-1</sup>], while that of pre-fried PC 13–18 g (100 g)<sup>-1</sup> [26–36 g (200 g)<sup>-1</sup>]. This may be due to the high hydrophobicity of the ingredients of the tested foods and the variation in their

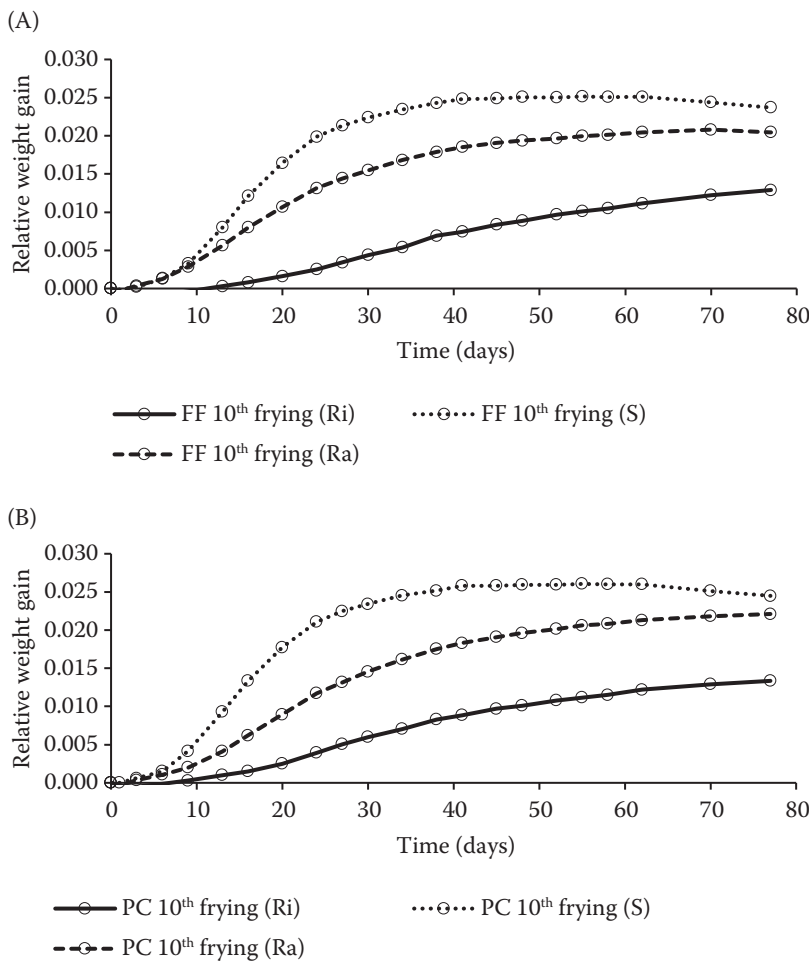


Figure 3. Oxidative stability of different oils after the 10th frying of (A) fish fingers (FF) and (B) potato croquettes (PC)

Ri – rice oil; Ra – rapeseed oil; S – sunflower oil

preparation styles (i.e. dripping fat before consumption of fried foods).

Our results show that rice oil is the most appropriate for frying FF, while sunflower oil is the best choice for PC. This difference may be owing to the different

matrices (more protein in FF and more starches in PC) and/or structures (compact round PC vs. less compact rectangular FF with starch granules on the top and lean protein inside) of these foods. Despite its favourable fatty acid composition, rapeseed oil is unstable

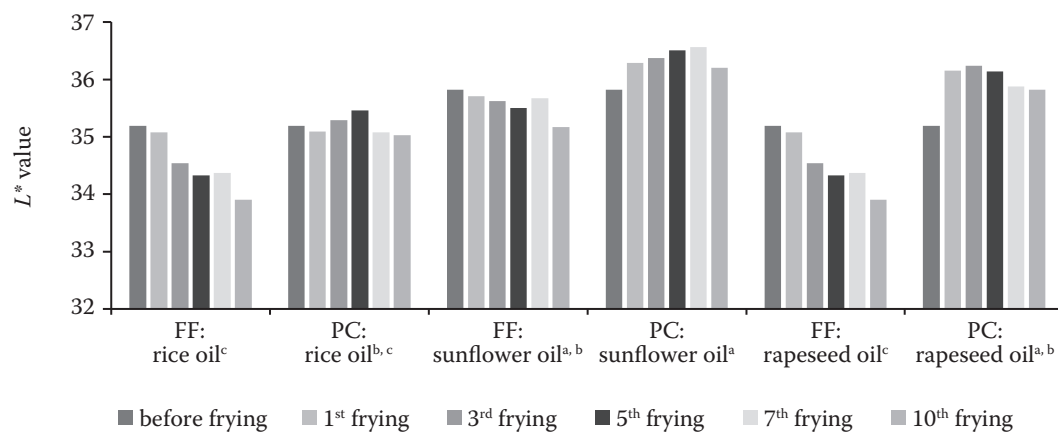


Figure 4. Perceptual lightness of each oil during frying –  $L^*$  value

<sup>a-c</sup>Different letters indicate statistically significant differences between variables (type of oil and fried food) at  $P < 0.05$ ; FF – fish fingers; PC – potato croquettes;  $L^*$  value – represents darkness to lightness with values ranging from 0 to 100

<https://doi.org/10.17221/235/2021-CJFS>

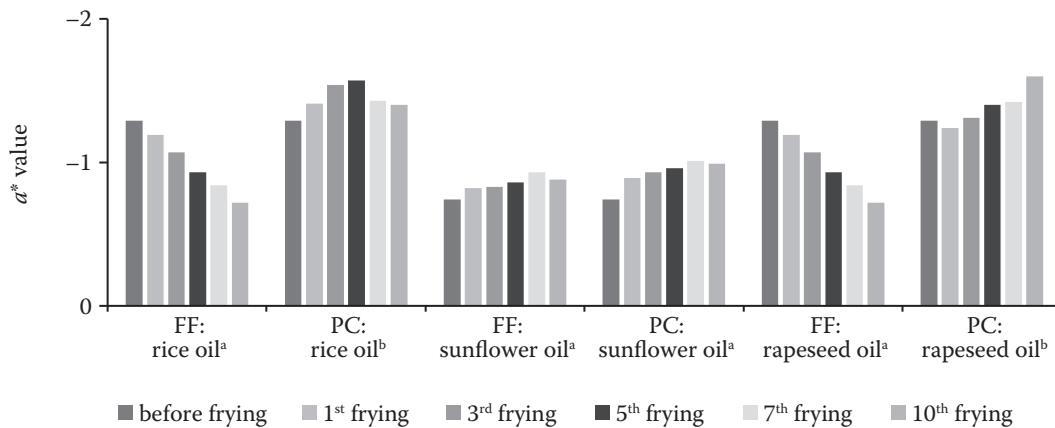


Figure 5. Redness (position between red and green) –  $a^*$  value

<sup>a-b</sup>Different letters in brackets indicate statistically significant differences between variables (type of oil and fried food) at  $P < 0.05$ ; FF – fish fingers; PC – potato croquettes;  $a^*$  value – represents greenness to redness with values from  $-128$  to  $+127$

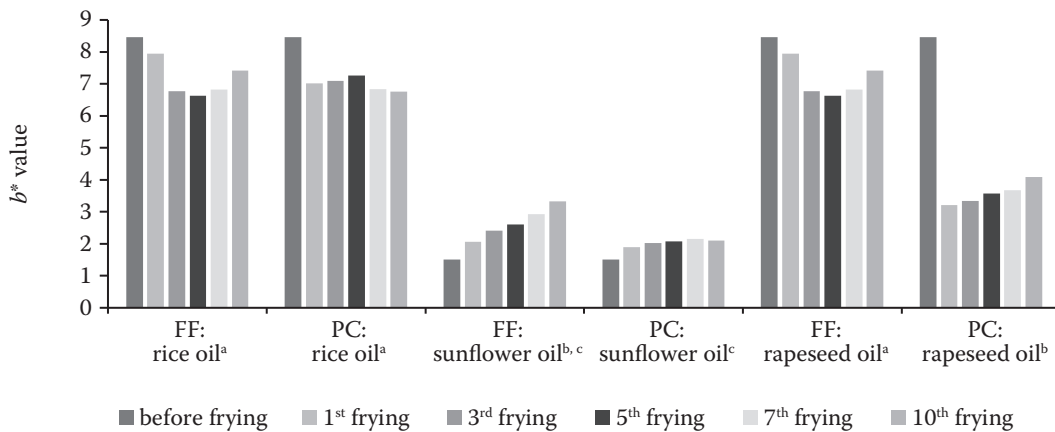


Figure 6. Yellowness (position between yellow and blue) –  $b^*$  value

<sup>a-c</sup>Different letters in brackets indicate statistically significant differences between variables (type of oil and fried food) at  $P < 0.05$ ; FF – fish fingers; PC – potato croquettes;  $b^*$  value – represents blueness to yellowness with values from  $-128$  to  $+127$

during prolonged heating. In contrast, rice oil is stable during heating but contains more saturated fatty acids (Nayik et al. 2015). Thus, their intake may be increased by the consumption of foods fried in rice oil. On the other hand, for technological purposes, rice oil seems to be a great option (saturated fatty acids are more stable during heating). For deep frying, one is advised to use oils from specially bred varieties of sunflower or rapeseed with an increased oleic acid content, as these oils are more stable during heating and have a favourable fatty acid composition (Velíšek 2014).

## CONCLUSION

Frying did not significantly affect the fat content of FF and PC. Moreover, no differences in the fat content were observed after the repeated frying of FF

or PC in different oils. Frying influenced the dry matter content of PC but not in FF. Rice oil showed the highest oxidative stability during repeated frying and was therefore concluded to be the best frying medium among the tested oils, while the less saturated sunflower oil exhibited the lowest stability. The darkening of the monitored oils during repeated frying of FF was not significant.

**Acknowledgement.** We would like to thank Ing. Aneta Venclová for the help with analysing samples.

## REFERENCES

Bordin K., Kunitake M.T., Aracava K.K., Trindade C.S.F. (2013): Changes in food caused by deep fat frying – A review. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63: 5–13.

<https://doi.org/10.17221/235/2021-CJFS>

- Bouchon P. (2009): Chapter 5: Understanding oil absorption during deep-fat frying. *Advances in Food and Nutrition Research*, 57: 209–234.
- Chen S.D., Chen H.H., Chao Y.C., Lin R.S. (2009): Effect of batter formula on qualities of deepfat and microwave fried fish nuggets. *Journal of Food Engineering*, 95: 359–364.
- Choe E., Min D.B. (2007): Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*, 72: R77–R86.
- EuroFIR (2020): Food Data. European Food Information Resource (EuroFIR). Available at <https://www.eurofir.org/food-information/> (accessed Sept, 2020).
- Khaled A.Y., Aziz S.A., Rokhani F.Z. (2015): Capacitive sensor probe to assess frying oil degradation. *Information Processing in Agriculture*, 2: 142–148.
- Kita A., Lisińska G., Gołubowska G. (2007): The effects of oils and frying temperatures on the texture and fat content of potato crisps. *Food Chemistry*, 102: 1–5.
- Kita A., Lisińska G., Powolny M. (2005): The influence of frying medium degradation on fat uptake and texture of French fries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1113–1118.
- Krokida M.K., Oreopoulou V., Maroulis Z.B., Marinou-Kouris D. (2001): Colour changes during deep fat frying. *Journal of Food Engineering*, 48: 219–225.
- Lazarick K. (2012): Cause of color component formation in oils during frying. [PhD. Thesis]. Lethbridge, University of Lethbridge, Department of Chemistry and Biochemistry.
- Ma R., Gao T., Song L., Zhang L., Jiang Y., Li J., Zhang X., Gao F., Zhou G. (2016): Effects of oil-water mixed frying and pure-oil frying on the quality characteristics of soybean oil and chicken chop. *Food Science and Technology*, 36: 329–336.
- Maszevska M., Florowska A., Dłuzewska E., Wroniak M., Marciniak-Lukasiak K., Zbikowska A. (2018a): Oxidative stability of selected edible oils. *Molecules*, 23: 1746.
- Maszevska M., Florowski A., Matysiak K., Marciniak-Lukasiak K., Dłuzewska E. (2018b): The study of palm and rapeseed oil stability during frying. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 91: 103–108.
- Moreno M.C., Bouchon P. (2013): Microstructural characterization of deep-fat fried formulated products using confocal scanning laser microscopy and a non-invasive double staining procedure. *Journal of Food Engineering*, 118: 238–246.
- Nayik G., Majid I., Gull A., Muzaffar K. (2015): Rice bran oil, the future edible oil of India: A mini review. *Journal of Rice Research*, 3: 10000151.
- Pérez-Camino M.C., Márquez-Ruiz G., Ruiz-Méndez M.V., Dobarganes M.C. (1991): Lipid changes during frying of frozen prefried foods. *Journal of Food Science*, 56: 1644–1647.
- Romero A., Bastida S., Sánchez-Muniz F.J. (2007): Cyclic fatty acids in sunflower oils during frying of frozen foods with oil replenishment. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109: 165–173.
- Rossi M., Alamprese C., Ratti S. (2007): Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 102: 812–817.
- Salehi F. (2019): Color changes kinetics during deep fat frying of kohlrabi (*Brassica oleracea* var. gongylodes) slice. *International Journal of Food Properties*, 22: 511–519.
- Schuten H.J., van Gijssel J., Slotboom D. (2004): Effect of Frying Conditions on the Fat Content of French Fries. *Agrotechnology & Food Innovations (Wageningen UR)*, OPD 03/336. Available at <https://edepot.wur.nl/351103> (accessed Sept, 2021).
- Srivastava Y., Semwal A.D. (2015): A study on monitoring of frying performance and oxidative stability of virgin coconut oil (VCO) during continuous/prolonged deep fat frying process using chemical and FTIR spectroscopy. *Journal of Food Science and Technology*, 52: 984–991.
- Stott-Miller M., Neuhauser M.L., Stanford J.L. (2013): Consumption of deep-fried foods and risk of prostate cancer. *Prostate*, 73: 960–969.
- Velíšek J. (2014). *The Chemistry of Food*. Chichester, United Kingdom, John Wiley & Sons, Ltd.: 87–197.
- Vitrac O., Trystram G., Raoult-Wack A.L. (2000): Deep-fat frying of food: Heat and mass transfer, transformations and reactions inside the frying material. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102: 529–538.
- WHO (2020): Healthy Diet. World Health Organization (WHO). Available at <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet> (accessed Sept, 2020)
- Wroniak M., Florowska A., Rekas A. (2015): Effect of oil flushing with nitrogen on the quality and oxidative stability of cold-pressed rapeseed and sunflower oils. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 15: 79–87.
- Yang Y., Song X., Sui X., Qi B., Wang Z., Li Y., Jiang L. (2016): Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products*, 80: 141–147.
- Ziaifar A.M., Achir N., Courtois F., Trezzani I., Trystram G. (2008): Review of mechanisms, conditions, and factors involved in the oil uptake phenomenon during the deep-fat frying process. *International Journal of Food Science and Technology*, 43: 1410–1423.

Received: November 2, 2021

Accepted: August 1, 2022

Published online: August 27, 2022

## Relationship between the fat and oil composition and their initial oxidation rate during storage

MONIKA SABOLOVÁ<sup>1\*</sup>, VÁCLAV ZEMAN<sup>1</sup>, GABRIELA LEBEDOVÁ<sup>2</sup>,  
MAREK DOLEŽAL<sup>2</sup>, JOSEF SOUKUP<sup>1</sup>, ZUZANA RÉBLOVÁ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Nutrition and Dietetics, Faculty of Agrobiological Sciences, University of South Bohemia in Brno, Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Food Analysis and Nutrition, Faculty of Food and Biochemical Technology, University of Chemistry and Technology Prague, Prague, Czech Republic

\*Corresponding author: [sabolova@af.czu.cz](mailto:sabolova@af.czu.cz)

**Citation:** Sabolová M., Zeman V., Lebedová G., Doležal M., Soukup J., Réblová Z. (2020): Relationship between the fat and oil composition and their initial oxidation rate during storage at slightly elevated temperature. *Czech J. Food Sci.*, 38: 404–409.

**Abstract:** Until now, the relationship between the fat and oil composition and their oxidation stability has been studied only at elevated temperatures (typically above 100 °C). Therefore, the initial oxidation rates of 19 edible fats and oils were determined as an increase in the peroxide value during storage in the dark at 35 °C with free access to air (oxygen). The initial oxidation rates of fats and oils were compared with parameters characterising these fats and oils (peroxide value, acid value, fatty acid composition, antioxidant capacity, and tocopherol content). Using a simple correlation analysis, the initial oxidation rate correlated the most strongly with the peroxide value of the analysed fats and oils ( $P < 0.01$ ). A highly reliable model ( $P < 0.0001$ ) was obtained by multivariate statistical analysis. According to this model, the initial oxidation rate is affected mainly by the peroxide value and then by total *trans* fatty acid content, and antioxidant capacity.

**Keywords:** tocopherols; antioxidant capacity; fatty acids; peroxide value; acid value

The oxidative stability is an important parameter in the quality assessment of individual fats and oils, particularly when determining their usefulness in food production (Choe & Min 2006). However, methods used to determine the oxidative stability of fats and oils are relatively time consuming, especially under real storage conditions. Therefore, an association between the oxidative stability of fats and oils and their composition is documented in many studies (Méndez et al. 1996; Savage et al. 1999; Arranz et al. 2008; Dabbou et al. 2010; Yun & Suhr 2012; Gao & Birch et al. 2016; Sabolová et al. 2017; Redondo-Cuevas et al. 2018).

The majority of these studies have been performed using a Rancimat apparatus (Méndez et al. 1996; Savage et al. 1999; Arranz et al. 2008; Dabbou et al. 2010; Yun & Suhr 2012; Redondo-Cuevas et al. 2018),

an Oxipres apparatus (Sabolová et al. 2017), by thermogravimetric analysis (Gao & Birch et al. 2016), or a combination thereof, which are accelerated methods used for determining the oxidative stability of fats and oils at elevated temperatures (typically above 100 °C). Oxidative stability of fats and oils depends on a number of internal factors including triacylglycerol and fatty acid composition; composition of minor components, for example antioxidants such as tocopherols, carotenoids and phenolic compounds; an occurrence of prooxidants, etc. Moreover, oxidative stability is affected by various external factors, such as exposure to atmospheric oxygen, light, moisture and temperature (Choe & Min 2006). As the temperature increases, the oxidative stability of fats and oils significantly decreases, and the extent

Supported by METROFOOD-CZ research infrastructure project (MEYS Grant No: LM2018100) including access to its facilities.

<https://doi.org/10.17221/207/2020-CJFS>

Table 1. Description of fats and oils

Sample abbreviation	Sample description
LO	Linseed oil, unrefined
SoO	Soybean oil, unrefined
CO	Corn oil, refined
WO	Walnut oil, unrefined
RO1	Rapeseed oil, unrefined
PO	Palm oil, unrefined
HOSO	High oleic sunflower oil, refined
OpO	Olive pomace oil, i.e. commercial mixture of refined olive pomace oil and virgin olive oil
SO1	Sunflower oil, refined
PL	Pork lard
RO2	Rapeseed oil, refined
EVOO	Extra virgin olive oil
OO	Olive oil, i.e. commercial mixture of refined olive oil and virgin olive oil
PnO	Peanut oil, refined
GO	Grapeseed oil, unrefined
CF	Coconut fat, unrefined
RiO	Rice oil, unrefined
SeO	Sesame oil, unrefined
SO2	Sunflower oil, refined

of this temperature effect is different for various fats and oils (Sabolová et al. 2017).

Therefore, the aim of this study was to provide the comparison between the chemical composition of fats and oils and their oxidative stability during storage at only slightly elevated temperature, which is more representative of real storage conditions. The oxidative stability of edible fats and oils was indicated by the initial oxidation rate as measured by the initial increase in peroxide value because peroxide value limits (for olive oil Commission Regulation No. 2568/91 and for lard Commission Regulation No. 853/2004) are achieved significantly earlier in the process than at the end of an induction period (Yanishlieva-Maslarova 2001).

## MATERIAL AND METHODS

**Fats and oils.** Used fat and oil samples (see Table 1 for their descriptions) were purchased at local markets. The fatty acid compositions of these fats and oils are presented in Table 2, and other determined chemical parameters are given in Table 3.

**Determination of initial oxidation rate.** The oxidative stability of edible fats and oils was determined

Table 2. Fatty acid composition of fats and oils

Sample	Fatty acid composition (%)								Total <i>trans</i> isomer content	Iodine value (g I <sub>2</sub> 100 g <sup>-1</sup> )
	Palmitic	Stearic	Other saturated	Oleic	Other mono-unsaturated*	Linoleic	$\alpha$ -Linolenic	Other poly-unsaturated†		
LO	6.03	4.00	0.49	15.73	1.00	44.01	28.57	0.17	0.19	165.7
SoO	9.85	5.21	1.11	22.63	1.58	52.81	6.75	0.06	0.10	130.0
CO	11.54	1.88	0.88	30.68	1.10	52.77	0.92	0.23	0.25	121.6
WO	6.96	2.71	0.27	13.68	1.69	61.01	12.50	1.18	1.21	154.2
RO1	4.46	1.65	1.29	61.73	4.59	18.62	7.59	0.07	0.11	109.2
PO	37.16	3.91	2.04	42.63	1.33	12.51	0.37	0.05	0.07	60.5
HOSO	4.61	3.03	1.74	72.14	1.26	16.91	0.12	0.19	0.24	93.0
OpO	12.22	2.95	0.95	67.81	3.93	11.33	0.73	0.08	0.38	83.3
SO1	6.21	3.25	1.55	33.67	1.04	53.73	0.08	0.47	0.51	123.9
PL	24.63	13.38	2.35	40.45	6.47	11.95	0.68	0.09	0.35	63.0
RO2	4.55	1.58	1.28	60.57	5.29	18.86	7.47	0.40	0.49	109.6
EVOO	9.49	3.38	0.82	74.53	2.79	8.21	0.75	0.03	0.07	82.6
OO	12.88	2.74	0.76	69.78	4.34	8.76	0.70	0.04	0.13	80.8
PnO	5.05	1.92	6.39	72.94	3.28	10.07	0.25	0.11	0.11	83.6
GO	7.03	4.79	0.58	21.51	1.14	64.20	0.34	0.42	0.42	132.2
CF	8.24	3.23	81.83	5.51	0.08	1.07	0.03	0.01	0.01	6.8
RiO	15.13	2.38	2.13	43.58	1.62	33.78	0.69	0.69	0.75	100.3
SeO	9.07	5.53	0.89	38.68	1.06	44.38	0.31	0.08	0.08	111.9
SO2	6.22	3.55	1.48	28.92	0.98	58.70	0.05	0.11	0.12	127.7

†Including *trans* isomers; for abbreviations see Table 1

Table 3. Chemical characterisation of fats and oils

Sample	PV (mEq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )	AV (mg KOH g <sup>-1</sup> )	AOC (mg a-T kg <sup>-1</sup> )	α-T (mg kg <sup>-1</sup> )	β- and γ-T (mg kg <sup>-1</sup> )	δ-T (mg kg <sup>-1</sup> )	α-T3 (mg kg <sup>-1</sup> )	β- and γ-T3 (mg kg <sup>-1</sup> )	δ-T3 (mg kg <sup>-1</sup> )
LO	1.0 ± 0.0	2.15 ± 0.02	729 ± 18	20.1 ± 2.1	488.9 ± 0.2	7.1 ± 1.1	ND	<3	< 3
SoO	6.3 ± 0.3	1.18 ± 0.02	1 174 ± 12	168.7 ± 3.7	779.2 ± 8.9	254.9 ± 3.6	ND	ND	ND
CO	4.4 ± 0.1	0.20 ± 0.00	1 144 ± 37	183.7 ± 0.5	673.5 ± 7.2	29.5 ± 4.2	11.0 ± 1.1	9.6 ± 0.3	ND
WO	7.0 ± 0.0	0.75 ± 0.02	533 ± 31	39.5 ± 0.1	285.5 ± 11.0	37.4 ± 2.5	ND	ND	ND
RO1	9.6 ± 0.1	1.07 ± 0.04	961 ± 12	271.2 ± 8.9	456.0 ± 6.7	12.6 ± 2.0	ND	ND	ND
PO	2.6 ± 0.1	0.69 ± 0.03	811 ± 24	118.0 ± 7.1	81.5 ± 6.8	60.2 ± 2.7	205.2 ± 2.5	231.6 ± 2.9	53.7 ± 3.5
HOSO	3.4 ± 0.0	0.11 ± 0.00	628 ± 15	576.9 ± 11.9	25.6 ± 0.2	18.7 ± 0.2	ND	ND	ND
OpO	2.3 ± 0.0	0.50 ± 0.02	1 358 ± 74	460.6 ± 15.6	17.3 ± 6.1	5.0 ± 1.3	ND	ND	ND
SO1	3.9 ± 0.0	0.31 ± 0.31	837 ± 11	718.0 ± 12.6	34.9 ± 0.5	29.0 ± 2.3	ND	ND	ND
PL	3.2 ± 0.0	1.18 ± 0.05	45 ± 0	7.1 ± 0.7	ND	ND	ND	ND	ND
RO2	1.2 ± 0.0	0.30 ± 0.01	977 ± 44	289.9 ± 3.8	341.9 ± 4.0	7.8 ± 0.2	ND	ND	ND
EVOO	10.1 ± 0.0	0.98 ± 0.01	1 079 ± 18	284.2 ± 7.8	14.4 ± 3.3	< 3	ND	ND	ND
OO	11.4 ± 0.0	0.52 ± 0.01	302 ± 28	154.2 ± 2.8	10.1 ± 0.6	< 3	ND	ND	ND
PnO	0.5 ± 0.1	0.05 ± 0.00	324 ± 17	149.2 ± 0.1	127.9 ± 0.5	ND	ND	ND	ND
GO	4.1 ± 0.2	0.18 ± 0.02	569 ± 33	122.8 ± 0.8	20.4 ± 1.1	ND	93.6 ± 2.5	83.0 ± 0.7	ND
CF	0.1 ± 0.1	0.24 ± 0.00	ND	ND	ND	ND	5.5 ± 0.0	< 3.0	ND
RiO	4.0 ± 0.1	1.04 ± 0.01	2 145 ± 22	147.9 ± 6.3	157.3 ± 2.4	2.7 ± 0.4	43.1 ± 2.8	183.5 ± 6.0	17.4 ± 6.2
SeO	1.5 ± 0.1	1.18 ± 0.02	594 ± 15	ND	655.1 ± 0.6	ND	ND	< 3.0	ND
SO2	2.7 ± 0.1	0.05 ± 0.01	831 ± 38	671.6 ± 7.9	ND	28.0 ± 1.4	< 3.0	< 3.0	ND

Results are expressed as the mean ± standard deviation ( $n = 3$ ); AOC – antioxidant capacity; AV – acid value; PV – peroxide value; α-T – α-tocopherol; β- and γ-T – β- and γ-tocopherol; δ-T – δ-tocopherol; α-T3 – α-tocotrienol; β- and γ-T3 – β- and γ-tocotrienol; δ-T3 – δ-tocotrienol; ND – not detected (the limit of detection was 1.0 mg kg<sup>-1</sup> for tocopherols and 4.0 mg kg<sup>-1</sup> for antioxidant capacity); for other abbreviations see Table 1

as the rate of the peroxide value increase at 35 °C in the dark with free access to air (oxygen) and expressed in mEq O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. For this purpose, a large number of beakers (each of 100 mL in volume and with an internal diameter of 4.7 cm) were prepared for each fat and oil studied. The beakers were placed in a thermostatic drying oven, with a maximum temperature fluctuation of ± 0.1 °C. The increase in the peroxide value over 14 days was monitored in three replicates for all the analysed fats and oils. The entire beaker was always removed from the thermostatic drying oven for sampling. Thus, the oil volume in the beakers was constant throughout the heating.

**Peroxide value and acid value.** The peroxide value and acid value were determined using the appropriate IUPAC titrimetric methods (International Union of Pure and Applied Chemistry, 1987; 2.501).

**Fatty acid composition.** Fatty acids were determined by an Agilent Technologies 6890N gas chromatograph equipped with a flame ionisation detector (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) after derivatisation to the corresponding methyl esters. The GC analysis was performed under the conditions described

by Sabolová et al. (2017). A Supelco SP 2560 capillary column, 100 × 0.25 mm i.d., 0.2 µm thickness (Supelco, Bellefonte, PA, USA) was used for the chromatographic separation.

**Iodine value.** The official AOCS (American Oil Chemistry Society, 1995; Cd 1c-85) method was used for the calculation of the iodine value from the fatty acid composition.

**Antioxidant capacity.** Antioxidant capacity was determined spectrophotometrically, based on the ability of the analysed samples to scavenge free 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), according to the method used by Espín et al. (2000) with modifications described by Sabolová et al. (2017). A Cary 60 spectrophotometer (Varian, Palo Alto, CA, USA) was used to measure the absorbance at 518 nm. The antioxidant capacity was quantified using the calibration curve of α-tocopherol (0 to 500 µg) and expressed as mg α-tocopherol equivalent per kg sample.

**Tocochromanol content.** The oil samples and pork lard were dissolved in acetone (approximately 0.1 g mL<sup>-1</sup>). The determination of tocochromanol content was per-



<https://doi.org/10.17221/207/2020-CJFS>

formed using reverse-phase HPLC with amperometric detection according to the method described by Sabolová et al. (2017). The analytical HPLC system consisted of a non-steel high-pressure pump (LCP 4020.31; Ecom, Prague, Czech Republic), a manual sample injector (Rheodyne 7725i; Oak Harbor, WA, USA), a column heater (LCO 101; Ecom, Prague, Czech Republic), an amperometric detector (HP 1049A series, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). A Hypersil ODS column, 4.6 × 200 mm, particle size 5 µm (Agilent Technologies) was used as a stationary phase. The individual tocopherol contents were quantified using the corresponding calibration curves.

**Results processing.** Statistical analysis of the data was carried out using Microsoft® Excel 2010 software (Microsoft Office software package, Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) by simple correlation and regression analysis, and also by multivariate linear correlation and regression analysis.

## RESULTS AND DISCUSSION

The initial oxidation rate of the analysed fats and oils is summarised in Table 4. According to the initial oxidation rate, the tested fats and oils can be divided into

Table 4. Initial oxidation rate

Sample	Initial oxidation rate (mEq O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )
LO	0.257 ± 0.011
SoO	0.136 ± 0.030
CO	0.039 ± 0.002
WO	1.641 ± 0.007
RO1	1.027 ± 0.018
PO	0.277 ± 0.003
HOSO	0.217 ± 0.003
OpO	0.068 ± 0.004
SO1	0.255 ± 0.005
PL	0.084 ± 0.019
RO2	0.110 ± 0.007
EVOO	0.544 ± 0.040
OO	0.413 ± 0.020
PnO	0.058 ± 0.006
GO	0.045 ± 0.006
CF	0.024 ± 0.003
RiO	0.045 ± 0.005
SeO	0.029 ± 0.007
SO2	0.095 ± 0.003

For abbreviations see Table 1

Table 5. Correlation coefficients for the association between the initial oxidation rate and selected parameters that describe the composition of fats and oils

Parameter	Pearson correlation coefficient
Peroxide value	0.582*
Acid value	0.193
Antioxidant capacity	-0.073
α-Tocopherol	-0.092
β- + γ-Tocopherol	0.071
δ-Tocopherol	0.013
Tocopherols	-0.003
Tocopherols + tocotrienols	-0.051
Saturated fatty acids	-0.242
Oleic acid	-0.032
Linoleic acid	0.123
α-Linolenic acid	0.368
Polyunsaturated fatty acid†	0.219
Oleic/linoleic ratio	-0.024
Polyunsaturated and saturated fatty acid ratio	0.395
Total <i>trans</i> isomer content	0.494**
Iodine value	0.309

†Including *trans* isomers; \**P* < 0.01; \*\**P* < 0.05

four groups. The relatively high initial oxidation rate was observed for walnut oil and unrefined rapeseed oil followed by the second group of oils including olive oil and extra virgin olive oil. A lower initial oxidation rate was found in the third group of oils: linseed, soybean, palm, refined rapeseed oil, and undefined, refined, and high oleic sunflower oil. Pomace olive oil, maize, peanut, rice and sesame oil, coconut fat, and pork lard represented the group with the lowest initial oxidation rate.

Using a simple correlation analysis, the oxidation rates were compared with parameters characterising the composition of fats and oils (see Table 5). As it is evident, the peroxide value has a dominant (and significant; *P* < 0.01) effect on the initial oxidation rate. This is consistent with the theory of lipid oxidation (hydroperoxides, because of their potential decomposition into free radicals, catalyse lipid oxidation) (Gordon 2001) and with the study of Sabolová et al. (2017), who compared the composition of fats and oils and their oxidative stability as determined by using an Oxipres apparatus at different temperatures. A similar study (Dabbou et al. 2010) did not show the effect of peroxide on the oxidation rate, probably because of the higher

temperature (120 °C) used to determine the oxidation rate. In these cases, the primary initiation caused by heat (higher temperature) exceeds the secondary initiation caused by the decomposition of hydroperoxides (Gordon 2001).

The oxidation rate was also significantly affected by the total content of *trans* fatty acids ( $P < 0.05$ ). This can be explained by the fact that during the formation of the *trans* isomers of polyunsaturated fatty acids, conjugated polyunsaturated fatty acids, which can have prooxidant activity (Chen et al. 1997; Haghghatdoost & Nobakht 2018), are also formed (Christy 2009).

As presented in Figure 1, a simple regression analysis does not provide a sufficiently reliable model for predicting oxidative stability, which was also suggested by other authors (Dabbou et al. 2010). Therefore, multivariate linear correlation and regression analysis was also applied to the obtained data. Based on the results of a simple correlation analysis and from the results of previous studies (Méndez et al. 1996; Apparicio et al. 1999; Arranz et al. 2008; Sabolová et al. 2017),  $\alpha$ -tocopherol content; total tocopherol content; antioxidant capacity; peroxide value; acid value; the proportion of oleic acid, linoleic acid,  $\alpha$ -linolenic acid, and polyunsaturated fatty acids; oleic and linoleic acid ratio; polyunsaturated and saturated fatty acid ratio, and total *trans* fatty acid content were chosen as parameters characterising the composition of the analysed fats and oils.

Using multivariate statistical methods, the following model was obtained ( $P < 0.0001$ ;  $R = 0.783$ ): initial oxidation rate =  $(0.0694 \pm 0.0171) \times$  peroxide value

+  $(0.7131 \pm 0.2138) \times$  total *trans* fatty acid content –  $(0.0003 \pm 0.0001) \times$  antioxidant capacity. This means that, in addition to the above-mentioned parameters [i.e. peroxide value ( $P < 0.001$ ) and total *trans* fatty acid content ( $P < 0.005$ )], the oxidation rates of fats and oils under the storage conditions used were also influenced by the antioxidant capacity ( $P < 0.05$ ). This is consistent with a number of analogous studies (Apparicio et al. 1999; Arranz et al. 2008; Sabolová et al. 2017; Redondo-Cuevas et al. 2018). However, there are significant discrepancies in the results of those studies, and in some cases, the effect of total antioxidant content on the oxidative stability of fats and oils was not demonstrated (Dabbou et al. 2010).

According to the obtained results, other than *trans* fatty acids, the fatty acid composition has no significant effect on the initial oxidation rate of fats and oils under the storage conditions used in this study. This is a surprising finding because, according to most of the previously published studies (Savage et al. 1999; Dabbou et al. 2010; Sabolová et al. 2017; Redondo-Cuevas et al. 2018), fatty acid composition affects the oxidative stability of fats and oils. However, in all of those studies, accelerated methods and temperatures above 100 °C were used for the determination of the oxidation rate of fats and oils. It can be assumed that under these conditions, the primary initiation of lipid oxidation (strongly related to the fatty acid composition) by heat predominates, while under storage at a slightly elevated temperature, the secondary initiation of lipid oxidation predominates, influenced mainly by the hydroperoxide content (Gordon 2001).

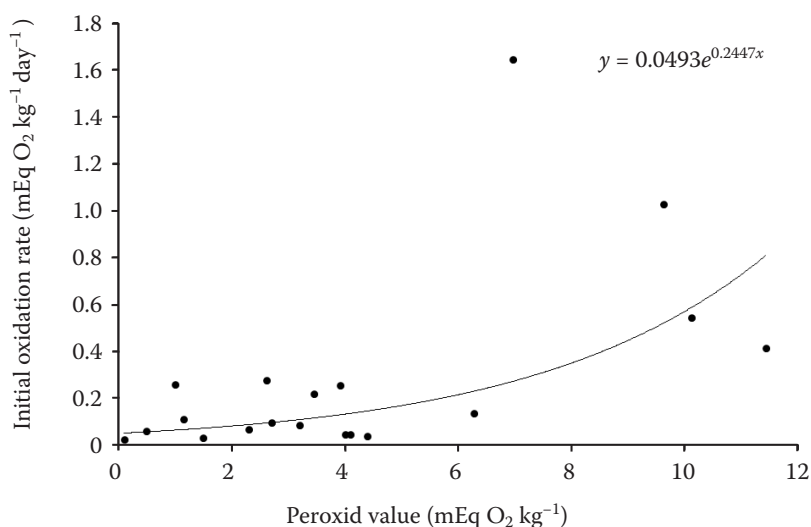


Figure 1. Possibility of predicting the initial oxidation rate of fats and oils from their initial peroxide value

<https://doi.org/10.17221/207/2020-CJFS>

## CONCLUSION

The peroxide value is a characteristic that is the best indicator of the oxidative stability of fats and oils under real storage conditions. For a more accurate prediction of the oxidative stability, total *trans* fatty acid content (which characterises previous thermal damage to the fat or oil) and total antioxidant content must also be taken into account. This information can particularly help in the selection and quality control of fats and oils used in further food production.

## REFERENCES

- Arranz S., Cert R., Pérez-Jiménez J., Cert A., Saura-Calixto F. (2008): Comparison between free radical scavenging capacity and oxidative stability of nut oils. *Food Chemistry*, 110: 985–990.
- Chen Z.Y., Chan P.T., Kwan K.Y., Zhang A. (1997): Reassessment of the antioxidant activity of conjugated linoleic acids. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 74: 749–753.
- Choe E., Min D.B. (2006): Mechanism and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 5: 169–186.
- Christy A.A. (2009): Thermally induced isomerization of tri-linolein and trilinoelaidin at 250 °C: Analysis of products by gas chromatography and infrared spectroscopy. *Lipids*, 44: 1105–1111.
- Dabbou S., Brahmi F., Taamali A., Issaoui M., Ouni Y., Braham M., Zarrouk M., Hammami, M. (2010): Extra virgin olive oil components and oxidative stability from olives grown in Tunisia. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 87: 1199–1209.
- Espín J.C., Soler-Rivas C., Wichers H.J. (2000): Characterisation of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 648–656.
- Gao F., Birch J. (2016): Oxidative stability, thermal decomposition, and oxidation onset prediction of carrot, flax, hemp, and canola seed oils in relation to oil composition and positional distribution of fatty acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118: 1042–1052.
- Gordon M.H. (2001): The development of oxidative rancidity in foods. In: Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (eds.): *Antioxidants in food, Practical applications*. Woodhead Publishing Limited Cambridge, United Kingdom: 7–21.
- Haghighatdoost F., Nobakht, M.Gh.B.F. (2018): Effect of conjugated linoleic acid on blood inflammatory markers: A systematic review and meta-analysis on randomised controlled trials. *European Journal of Clinical Nutrition*, 72: 1071–1082.
- Méndez E., Sanhueza J., Speisky H., Valenzuela A. (1996): Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 73: 1033–1037.
- Redondo-Cuevas L., Castellano G., Torrens F., Raikos V. (2018): Revealing the relationship between vegetable oil composition and oxidative stability: A multifactorial approach. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66: 221–229.
- Sabolová M., Johanidesová A., Hasalíková E., Fišnar J., Doležal M., Réblová Z. (2017): Relationship between the composition of fats and oils and their oxidative stability at different temperatures, determined using the Oxipres apparatus. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119: 1600454.
- Savage G.P., Dutta P.C., McNeil D.L. (1999): Fatty acid and tocopherol content and oxidative stability of walnut oils. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 76: 1059–1063.
- Yanishlieva-Maslarova N.V. (2001): Inhibiting oxidation. In: Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M. (eds.): *Antioxidants in food, Practical applications*. Woodhead Publishing Limited Cambridge, United Kingdom: 22–70.
- Yun J.M., Suhr J. (2012): Fatty acid composition as a predictor for the oxidation stability of Korean vegetable oils with or without induced oxidative stress. *Preventive Nutrition and Food Science*, 17: 158–165.

Received: July 27, 2020

Accepted: November 16, 2020



OPEN

## In vitro antagonistic inhibitory effects of palm seed crude oils and their main constituent, lauric acid, with oxacillin in *Staphylococcus aureus*

Klara Lalouckova<sup>1,2</sup>, Eva Skrivanova<sup>1,2</sup>, Johana Rondevaldova<sup>3</sup>, Adela Frankova<sup>4</sup>, Josef Soukup<sup>1</sup> & Ladislav Kokoska<sup>3</sup>✉

Infections caused by *Staphylococcus aureus* are a serious global threat, and with the emergence of antibiotic resistance, even more difficult to treat. One of the possible complications in antistaphylococcal therapy represents negative interactions of antibiotics with food. In this study, the in vitro interaction between oxacillin and crude palm seed oil from *Astrocaryum vulgare*, *Cocos nucifera*, and *Elaeis guineensis* against nine strains of *S. aureus* was determined using the checkerboard method. Lauric acid was identified as a major constituent of all tested oils by gas chromatography. The results showed strong concentration dependent antagonistic interactions between palm oils and oxacillin with values of fractional inhibitory concentrations indices ranging from 4.02 to 8.56 at concentrations equal or higher than 1024 µg/mL of the tested oils. Similarly, lauric acid in combination with oxacillin produced antagonistic action with fractional inhibitory concentration indices ranging from 4.01 to 4.28 at 1024 µg/mL. These findings suggest that interference between oxacillin and palm oils and their constituents can negatively affect the treatment of staphylococcal infections in humans and other animals.

*Staphylococcus aureus*, a gram-positive bacterium, occurs naturally on the skin and mucus membranes of healthy individuals and is a common cause of pneumonia, skin infections, and systemic infections in humans and other animals<sup>1</sup>. Its ability to resist a broad range of antibacterials in a short period makes it one of the most dangerous microorganisms influencing the global population, with strains resistant to beta-lactams, such as methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) being considered a high priority pathogen<sup>2</sup>. However, currently used antistaphylococcal antibiotics (e.g., vancomycin, daptomycin, and linezolid) are struggling against rising resistance, serious side effects, and relatively high costs<sup>3</sup>. Hence, steps toward elimination of bacteremia caused by multi-drug resistant strains are still needed. Among other possible options, combinatory treatment is valuable for eradicating evolution of resistance by targeting different sites of the bacterial cell<sup>4,5</sup>. For example, the combination of vancomycin and a beta-lactam antibiotic (oxacillin) is currently being used effectively in the treatment of MRSA<sup>6</sup>. A combination of beta-lactam antibiotic and beta-lactamase inhibitors, such as co-amoxiclav consisting of amoxicillin and clavulanic acid, has also been used for MRSA therapy<sup>7</sup>. However, combinations of certain antibiotics can produce negative interactions and undesirable side effects. Antagonistic action generally occurs in the treatment of infection when mixing bactericidal and bacteriostatic drugs<sup>8</sup>, as seen when using a combination of the slow acting bactericidal vancomycin and bacteriostatic clindamycin against *S. aureus*<sup>9</sup>. Generally faster acting agents, such as clindamycin or oxacillin, inhibit the function of vancomycin, which has a gradual onset of action and exhibits antibacterial properties only on replicating cells<sup>10</sup>.

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Nutrition and Dietetics, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, 165 00 Praha 6-Suchdol, Czech Republic. <sup>2</sup>Department of Nutritional Physiology and Animal Product Quality, Institute of Animal Science, 104 00 Praha-Uhrineves, Czech Republic. <sup>3</sup>Department of Crop Science and Agroforestry, Faculty of Tropical AgriSciences, Czech University of Life Sciences Prague, 165 00 Praha 6-Suchdol, Czech Republic. <sup>4</sup>Department of Food Science, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, 165 00 Praha 6-Suchdol, Czech Republic. ✉email: kokoska@ftz.czu.cz

Combining various drugs is the prevalent praxis used to obtain an increase of the desired effects, such as in anesthesia and pain management. However, enhancement of the undesired effects might also occur, limiting the therapeutic value<sup>11</sup>. Such interactions are also known to occur when combining drugs with various foods and food products. Drug–food interactions are defined as changes in efficacy and/or toxicity of pharmaceutical drugs induced by the consumption of any food product, including functional foods and dietary supplements<sup>12</sup>. Various drug–food interactions (e.g., drug interaction with the fat content of the meal), drug–nutrient interactions (e.g., with grapefruit juice or soy) and herb–drug interactions (e.g., with ginkgo or St John’s wort) have been described and reviewed<sup>13–16</sup>. The most well-known example of drug–food interaction is that of grapefruit juice that can inhibit the intestinal metabolism of more than 85 drugs by altering cytochrome P450 (CYP3A4) isoforms<sup>17</sup>. Grapefruit juice, combined with erythromycin, increases the bioavailability of the antibiotic in the small intestine<sup>18</sup>, thereby increasing the possibility of adverse effects, such as cardiac dysrhythmias<sup>19</sup>. In contrast, a combination of ampicillin and pomegranate methanol extract acts synergistically *in vitro* against MRSA<sup>20</sup>. Similarly, fatty acid methyl esters obtained from soybean, corn, and sunflower crude oils potentiate the antifungal effect of itraconazole *in vitro*<sup>21</sup>.

Vegetable oils are essential components of animal nutrition and contain various biologically active constituents such as carotenoids, tocopherols<sup>22</sup>, coenzyme Q10<sup>23</sup>, and fatty acids<sup>24</sup>. These are carboxylic acids with long, unbranched carbon chains, some of which may contain double bonds<sup>25</sup>. In general, fatty acids are believed to be responsible for the antibacterial activity of palm oils. They usually occur in the form of triglycerides; their hydrolysis into free fatty acids is necessary for their antibacterial effect to be exerted<sup>26–28</sup>. The seeds of tropical palms such as tucuma (*Astrocaryum vulgare*), coconut (*Cocos nucifera*), and African oil (*Elaeis guineensis*) palm are one of the most economically important sources of plant oils, and are known to contain mainly fatty acids of medium-chain length (MCFAs), with a prevalence of lauric acid (C<sub>12:0</sub>; LA). Apart from various physiological functions, the LA produces a growth-inhibitory effect against algae<sup>29</sup>, fungi<sup>30</sup>, protozoa<sup>31</sup>, and both gram-negative<sup>32–34</sup> and gram-positive bacteria<sup>35</sup>. It also inhibits the production of bacterial virulence factors such as beta-lactamases, a group of exoproteins inducing beta-lactams inactivation and moreover enhancing toxin production by *S. aureus* at subinhibitory antibiotic concentrations<sup>36</sup>; toxic shock syndrome toxins<sup>37</sup>; and hemolysins<sup>38</sup>. In addition to LA, tropical palms contain caproic (C<sub>6:0</sub>), caprylic (C<sub>8:0</sub>), and capric (C<sub>10:0</sub>) acids that also possess various antimicrobial properties<sup>39–41</sup>. In addition, MCFAs are known to be effective against *S. aureus*. Batovska et al.<sup>42</sup> concluded that when these fatty acids are esterified with glycerol and create e.g., monolaurin, their direct antistaphylococcal effect is intensified. Ubogogu et al.<sup>43</sup> observed a noticeable *in vitro* inhibitory effect of *E. guineensis* palm kernel oil against *S. aureus*. The mechanism of antimicrobial action of fatty acids is not fully known, the prime target seems to be the bacterial cell membrane together with various essential processes that occur within and at the membrane, including nutrient uptake or enzyme inhibition<sup>44</sup>. The amphiphilic nature of fatty acids enables them to act as detergents at high concentrations and aid the solubilization of the lipids in the membranes<sup>45</sup>. It has been experimentally proven that doses of LA equal to or higher than 100 µg/mL (≥ 500 µM) induce reversible morphological changes of lipid bilayers<sup>46</sup>, cause partial solubilization of the cell membrane, and interfere with metabolic regulation, leading to the inhibition of bacterial growth<sup>44</sup>. It is well known that bactericidal drugs are most potent with actively growing cells and that inhibition of growth, induced by a combination with a bacteriostatic drug, can result in reduction of drug efficacy<sup>8</sup>.

Besides the antimicrobial properties, LA is known to exhibit synergistic antistaphylococcal activity in combination with monolaurin<sup>42</sup>, lactic acid<sup>26</sup>, and gentamicin<sup>47</sup>. However, limited information is available regarding the possible negative interactions of palm oils with antimicrobial agents. Therefore, we decided to perform a screening test, focused on determining the combined effect of the chosen palm oils and free MCFAs (C<sub>6:0</sub>–C<sub>12:0</sub>) with representatives of all major antibiotic groups, namely beta-lactams (amoxicillin, ampicillin, and oxacillin), tetracyclines (tetracycline), glycopeptides (vancomycin), and aminoglycosides (gentamicin), against three reference strains of *S. aureus*. Among the free MCFAs, only LA showed above mentioned synergism with gentamicin against chosen *S. aureus* strains; the interactions of all free MCFAs with tetracycline and vancomycin were indifferent, but beta-lactams, namely amoxicillin, ampicillin and especially oxacillin, showed results that were warranted further investigation with LA showing the strongest antagonistic interactions (Lalouckova and Kokoska, unpublished data). In the present study, we evaluated *in vitro* combinatory effect of *A. vulgare*, *C. nucifera*, and *E. guineensis* seed crude oils and their main constituent LA with oxacillin, using the checkerboard microdilution method, against different strains of *S. aureus*.

## Results

**Fatty acid composition of crude oils.** In the first part of the study, fatty acid composition of the tested oils was identified using GC-FID. As shown in Table 1, oils from *A. vulgare*, *C. nucifera*, and *E. guineensis* consisted mainly of 58.2, 53.88 and 52.24 mg/g of MCFAs, respectively. LA was a major constituent of the oils, present at a concentrations of 53.37 mg/g in *A. vulgare*, 45.24 mg/g in *E. guineensis*, and 41.31 mg/g in *C. nucifera* oil. This profile corresponded with the total saturated fatty acid composition, where *A. vulgare* is followed by *C. nucifera* and *E. guineensis* oil with values of 90.32, 82.35, and 80.21 mg/g, respectively. The contents of other MCFAs, namely caprylic, capric, and caproic acids, were 6.73, 5.29, and 0.55 mg/g in *C. nucifera*, 3.48, 3.27, and 0.25 mg/g in *E. guineensis*, and 2.47, 2.15, and 0.21 mg/g in *A. vulgare* oil, respectively. In addition to MCFAs, saturated fatty acids consisted of myristic, palmitic, and stearic acids. Their respective contents were 24.82, 5.41, and 1.89 mg/g in *A. vulgare*; 16.5, 9.05, and 2.92 mg/g in *C. nucifera*; and 15.85, 9.46, and 2.66 mg/g in *E. guineensis* oil.

Although saturated fatty acids were the major constituents of all oils analysed, the composition of monounsaturated (MUFAs) and polyunsaturated (PUFAs) fatty acids was also determined. MUFAs, consisting of oleic, eicosenoic, and palmitoleic acids, were the most abundant in *E. guineensis* oil (16.67 mg/g), and were present at

	Fatty acids content (mg/g)/plant species		
	<i>Astrocaryum vulgare</i>	<i>Cocos nucifera</i>	<i>Elaeis guineensis</i>
<b>Saturated fatty acids (SFA)</b>			
Caproic (C <sub>6:0</sub> )	0.21	0.55	0.25
Caprylic (C <sub>8:0</sub> )	2.47	6.73	3.48
Capric (C <sub>10:0</sub> )	2.15	5.29	3.27
Lauric (C <sub>12:0</sub> )	53.37	41.31	45.24
Myristic (C <sub>14:0</sub> )	24.82	16.5	15.85
Palmitic (C <sub>16:0</sub> )	5.41	9.05	9.46
Stearic (C <sub>18:0</sub> )	1.89	2.92	2.66
Total SFA	90.32	82.35	80.21
Total MCFA	58.2	53.88	52.24
<b>Monounsaturated fatty acids (MUFA)</b>			
Palmitoleic (C <sub>16:1</sub> )	0.02	–	0.03
Oleic (C <sub>18:1</sub> )	6.47	11.72	16.54
Eicosenoic (C <sub>20:1</sub> )	0.05	0.15	0.10
Total MUFA	6.55	11.87	16.67
<b>Polyunsaturated fatty acids (PUFA)</b>			
Linoleic (C <sub>18:2</sub> )	2.77	4.79	2.68
α-Linoleic (C <sub>18:3</sub> )	0.06	0.88	0.03
Arachidonic (C <sub>20:4</sub> )	0.07	0.13	0.13
Total PUFA	2.9	5.8	2.84

**Table 1.** Fatty acid profile of crude palm seed oils. Data are presented as average of two analyses, each performed in triplicate.

relatively lower concentrations in *C. nucifera* and *A. vulgare* oil (11.87 and 6.55 mg/g, respectively). The oleic acid content was the highest in all samples, ranging from 6.47 to 16.54 mg/g. In contrast, eicosenoic (0.05–0.15 mg/g) and palmitoleic acid ( $\leq 0.03$  mg/g) were present in minor amounts.

PUFA content in *C. nucifera* oil (5.8 mg/g) was double that of *A. vulgare* (2.9 mg/g) and *E. guineensis* (2.84 mg/g) oil. In *C. nucifera* oil, linoleic acid was the most abundant PUFA, similar to *A. vulgare* and *E. guineensis* oil at 4.79, 2.77, and 2.68 mg/g, respectively. The second most abundant PUFA in *C. nucifera* oil was α-linoleic acid (1.88 mg/g), which was also present in lower amounts in *A. vulgare* (0.06 mg/g) and *E. guineensis* (0.03 mg/g) oil. Compared to *C. nucifera* and *A. vulgare* oil (both 0.13 mg/g), arachidonic acid was the least abundant PUFA in *E. guineensis* oil (0.07 mg/g).

**Antistaphylococcal antagonistic effect of crude oils and oxacillin.** In the first step, the susceptibility of the three tested *S. aureus* strains to oxacillin and hydrolyzed seed oils of *A. vulgare*, *C. nucifera*, and *E. guineensis* was determined using broth microdilution method to evaluate the suitable starting concentrations for combined effect (MIC—minimum inhibitory concentration—values for all tested oils in non-hydrolyzed forms > 8192 µg/mL; data not shown). *A. vulgare* oil induced the strongest antistaphylococcal effect, with MIC values ranging from 240 to 356 µg/mL, followed by that of *C. nucifera* (MIC values from 241 to 512 µg/mL) and *E. guineensis* (MIC values from 427 to 512 µg/mL). The MIC values of oxacillin ranged from 0.72 to 56.89 µg/mL.

Further, analysis of the combined effect of tested seed crude oils and oxacillin was performed by the checkerboard method. The results showed some degree of antagonism in all tested strains at certain concentrations of combinations, with indices of fractional inhibitory concentration (FICI) ranging between 8.56 and 4.02. In addition, a consistently antagonistic, concentration-dependent effect of the selected palm oils at concentration of 2048 µg/mL, and in some cases 1024 µg/mL, was seen, when combined with oxacillin against all tested *S. aureus* strains. All other combinations showed an indifferent relationship between tested agents, as shown in Table 2.

A strong antagonistic effect, manifested by very high FIC indices of 8.56 (clinical isolate SA1) and 8.51 (MSSA ATCC 29213), was observed for *A. vulgare* oil at a concentration 2048 µg/mL, when combined with oxacillin. At the same concentration, *A. vulgare* oil caused an adverse interaction in MRSA ATCC 43300 with a FICI of 5.78. This antagonistic effect was also observed at a concentration of 1024 µg/mL with the MSSA clinical isolate, SA1 (FICI 4.30), and the reference strain, ATCC 29213 (FICI 4.27). Indifferent relationships were displayed in all other combinations for both agents. Interestingly, a significant increase in MIC of oxacillin was observed when combined with *A. vulgare* oil at two lowest concentrations tested (32 and 16 µg/mL). In these cases, the MIC values rose by approximately 1/3 and 3/4, respectively, when compared to the MIC of the antibiotic alone, against MSSA ATCC 29213. In combination with oxacillin, *C. nucifera* and *E. guineensis* oils also exerted antagonistic properties in all tested strains, at a concentration of 2048 µg/mL (FICI 4.02–6.28). *C. nucifera* oil showed the strongest antagonistic effect for MRSA ATCC 43300 strain, followed by MRSA clinical isolate SA1 and MSSA ATCC 29213 strain (FICI values were 6.28, 6.03, and 4.09, respectively). *E. guineensis* oil exerted similar antagonistic activity in MSSA ATCC 29213, MRSA clinical isolate SA1, and MRSA ATCC 43300 strain, with FICI values

<i>S. aureus</i> strain	MIC of compounds alone (µg/mL)		OXA with <i>Astrocaryum vulgare</i> oil at concentration (µg/mL)															
			2048		1024		512		256		128		64		32		16	
	MIC OXA	MIC OIL	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI
29213	1.67	242	0.06	<b>8.51</b>	0.06	<b>4.27</b>	0.06	2.16	0.23	1.20	0.44	0.80	1.11	0.93	2.22	1.47	2.89	1.80
43300	56.89	356	1	<b>5.78</b>	1	2.90	6	1.55	7	0.84	21.67	0.74	30.22	0.71	43.56	0.86	53.33	0.98
SA1	2	240	0.06	<b>8.56</b>	0.06	<b>4.30</b>	0.07	2.17	0.21	1.17	0.41	0.74	0.63	0.58	1.06	0.66	1.88	1
<i>S. aureus</i> strain	MIC of compounds alone (µg/mL)		OXA with <i>Cocos nucifera</i> oil at concentration (µg/mL)															
			2048		1024		512		256		128		64		32		16	
	MIC OXA	MIC OIL	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI
29213	0.72	512	0.06	<b>4.09</b>	0.71	2.98	0.32	1.44	0.38	1.02	0.71	1.23	0.94	1.43	2.39	3.37	2	2.80
43300	49.78	327	1	<b>6.28</b>	1	3.15	1	1.59	6.89	0.92	14.22	0.68	21.33	0.62	28.44	0.67	32	0.69
SA1	2	241	0.06	<b>6.03</b>	0.06	3.03	0.08	1.54	0.28	0.89	0.58	0.67	1	0.69	1.33	0.76	2	1.05
<i>S. aureus</i> strain	MIC of compounds alone (µg/mL)		OXA with <i>Elaeis guineensis</i> oil at concentration (µg/mL)															
			2048		1024		512		256		128		64		32		16	
	MIC OXA	MIC OIL	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI
29213	0.75	427	0.06	<b>4.88</b>	0.06	2.48	0.09	1.32	0.31	1.02	0.53	1	0.69	1.08	0.78	1.11	0.56	0.78
43300	56.89	512	1	<b>4.02</b>	1	2.02	7	1.12	15.78	0.78	19.56	0.59	32	0.69	37.33	0.72	42.67	0.78
SA1	2	427	0.06	<b>4.83</b>	0.07	2.43	0.21	1.30	0.40	0.80	0.89	0.74	1.53	0.93	2	1.08	2	1.04

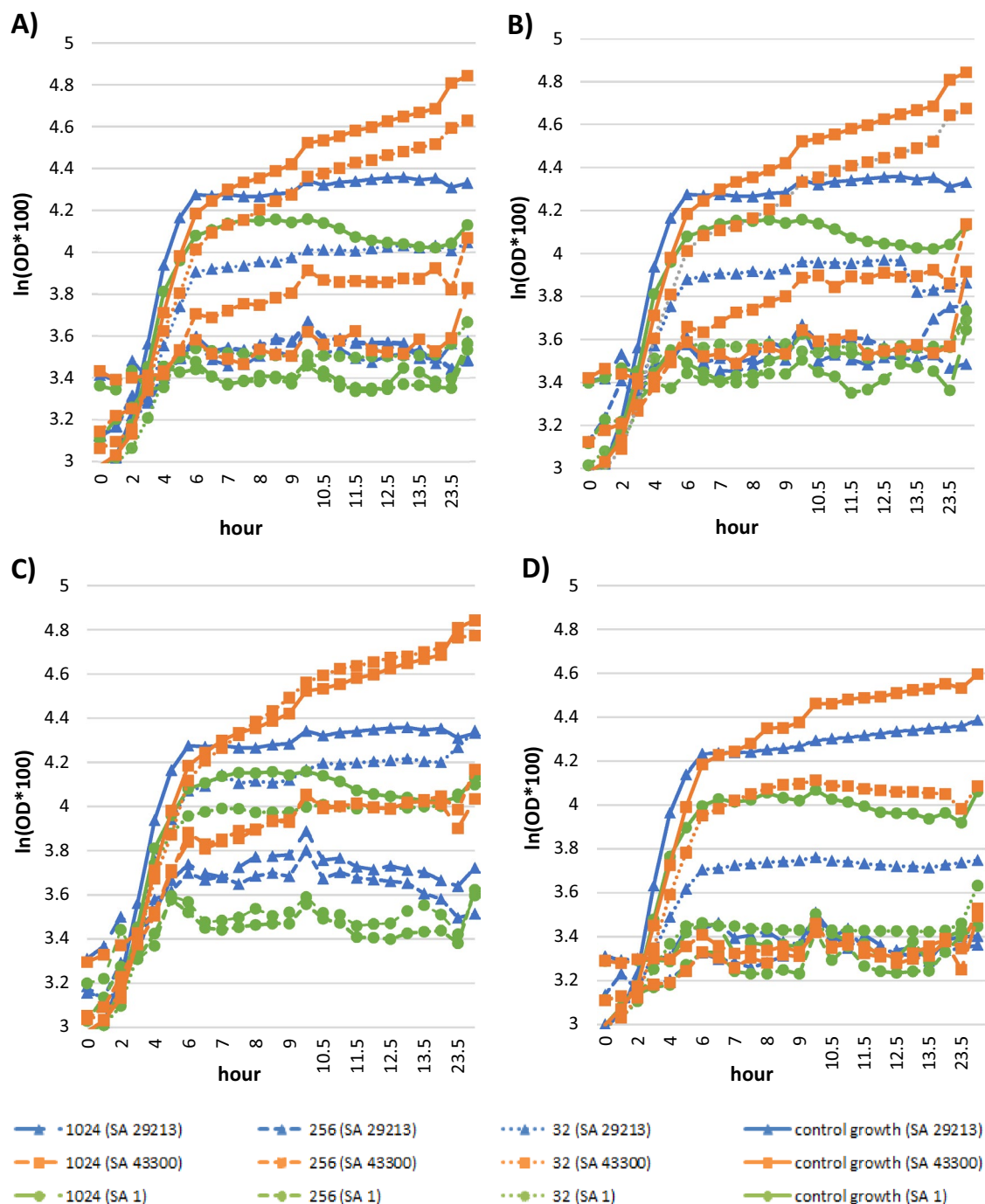
**Table 2.** Combinatory effect of crude palm seed oils and oxacillin against *Staphylococcus aureus* determined by checkerboard method. Data are presented as average of three analyses, each performed in triplicate. *S. aureus* *Staphylococcus aureus*, MIC minimum inhibitory concentration, FICI fractional inhibitory concentration index, OXA oxacillin. Bold values: antagonism ( $\Sigma$ FICI > 4).

<i>S. aureus</i> strain	MIC of compounds alone (µg/mL)		OXA with LA at concentration (µg/mL)															
			1024		512		256		128		64		32		16		8	
	MIC OXA	MIC LA	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI	MIC OXA	FICI
29213	0.53	256	0.01	<b>4.01</b>	0.01	2.01	0.01	1.02	0.58	1.61	0.67	1.51	0.78	1.6	0.89	1.75	0.78	1.5
33591	683	256	8	<b>4.01</b>	8	2.01	8	1.01	319.56	0.97	853	1.5	1024	1.63	1024	1.5	1024	1.53
33592	569	256	8	<b>4.01</b>	8	2.01	8	1.01	112.89	0.7	512	1.15	682.49	1.33	568.89	1.06	512	0.97
43300	46.22	242	2	<b>4.28</b>	2.22	2.17	2.67	1.12	9.11	0.73	33.78	1	103.11	2.36	110.22	2.45	67.56	1.49
EMRSA 15	99.56	256	1	<b>4.01</b>	1	2.01	1	1.01	8.22	0.58	112	1.38	>128	>1.41	128	1.35	128	1.32
BAA 976	32	256	0.83	<b>4.03</b>	0.83	2.03	0.83	1.03	19.56	1.11	85.33	2.92	128	<b>4.13</b>	118.86	3.78	64	2.03
SA1	1.44	256	0.13	<b>4.09</b>	0.13	2.09	0.13	1.09	0.39	0.77	1	0.94	1.78	1.36	1.89	1.37	2.22	1.57
SA2	67.56	256	2	<b>4.03</b>	2	2.03	7.11	1.11	24	0.86	74.64	1.36	92.44	1.49	85.33	1.33	74.67	1.14
SA3	0.47	256	0.06	<b>4.13</b>	0.06	2.13	0.06	1.13	0.5	1.56	0.83	2.01	0.61	1.24	1.17	2.53	0.69	1.49

**Table 3.** Combinatory effect of lauric acid and oxacillin against *Staphylococcus aureus* determined by checkerboard method. Data are presented as average of three analyses, each performed in triplicate. *S. aureus* *Staphylococcus aureus*, MIC minimum inhibitory concentration, FICI fractional inhibitory concentration index, OXA oxacillin, LA lauric acid. Bold values: antagonism ( $\Sigma$ FICI > 4).

of 4.88, 4.83, and 4.02, respectively. The rise of oxacillin MIC, when combined with the lowest concentrations (16–64 µg/mL) of the tested oils, was even more pronounced with *C. nucifera*. It induced an increase of MIC in MSSA ATCC 29213 strain up to more than two times. A slight increase of oxacillin MIC was also detected in ATCC 29213 strain at a concentration of 0.32 µg/mL of *E. guineensis* oil.

**Antagonistic growth-inhibitory effect of lauric acid with oxacillin against *S. aureus*.** As mentioned above, GC-FID analysis revealed LA to be the predominant fatty acid in all tested oils. Based on this result, the susceptibility of nine *S. aureus* strains to oxacillin, LA, and a combination of oxacillin and LA was investigated using the same methodology as that used for palm oils. As shown in Table 3, MIC values of oxacillin ranged from 0.53 to 683 µg/mL. MIC values of LA were the same for all *S. aureus* strains at 256 µg/mL, except for MRSA ATCC 43300, where the MIC of LA decreased to 242 µg/mL.



**Figure 1.** Growth curves of *Staphylococcus aureus* strains upon different concentrations of hydrolyzed palm oils or lauric acid ((A)—*Astrocaryum vulgare* oil; (B)—*Cocos nucifera* oil; (C)—*Elaeis guineensis* oil; (D)—lauric acid) determined spectrophotometrically. SA *Staphylococcus aureus*, OD optical density.

Subsequently, FICI values were calculated and the effect of combinations was analysed. Antagonistic mode of action was observed for LA at a concentration of 1024  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , when combined with oxacillin (FICI values were 4.01–4.28) in all tested *S. aureus* strains; the strongest antagonistic interaction was exhibited for the MRSA ATCC 43300 strain. Other combinations of concentrations revealed indifferent relationships, except for a combination of LA at 32  $\mu\text{g}/\text{mL}$  with oxacillin against the *S. aureus* ATCC BAA 976 strain. In this case, the MIC of oxacillin increased four times, to 128  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , and the FICI value was 4.13. In all tested bacterial strains, rise of MIC values of tested antibiotics occurred when combined with LA at certain concentrations (16–256  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), up to two times with the average increase by nearly two-thirds.

To determine whether the hydrolyzed seed oils of *A. vulgare*, *C. nucifera*, and *E. guineensis* and LA influence the growth of *S. aureus* strains, the analysis of growth curves of three *S. aureus* strains, namely ATCC 29213, ATCC 43300, and clinical isolate SA1, was performed. According to Fig. 1, the graphical evaluation of bacterial



growth upon increasing concentrations of hydrolyzed oils and LA revealed decreasing growth rate and increase in generation time for all tested *S. aureus* strains.

## Discussion

In our study, crude seed oils rich in MCFAs, hydrolyzed by porcine pancreatic lipase, and LA showed in vitro growth-inhibitory effect against reference strains and clinical isolates of *S. aureus*. As per the results of GC analysis, the oils used for antibacterial testing were of standard composition, as reported by other groups, who also identified LA as the major constituent of *A. vulgare*<sup>48</sup>, *C. nucifera*<sup>49</sup>, and *E. guineensis* oils<sup>50</sup>. In this study, the MIC values of LA against the tested *S. aureus* strains (242–256 µg/mL) were comparable to those reported by other authors. For example, Batovska et al.<sup>42</sup> reported an MIC values for LA, measured by the macrodilution method against *S. aureus* strains at ≥ 125 µg/mL. Moreover, Nitbani et al.<sup>51</sup> reported the antibacterial activity of LA isolated from *C. nucifera* oil against *S. aureus*. In contrast, Parsons et al.<sup>52</sup> determined an MIC value of 50 µg/mL (250 µM) for LA against *S. aureus*, using the broth microdilution method. Similarly, Kelsey et al.<sup>53</sup> observed MIC values equal to 50 µg/mL of LA against three different *S. aureus* strains, using turbidimetry with visual evaluation and ethanol as a solvent; however, these variations could be caused by the different methodologies and *S. aureus* strains used. To the best of our knowledge, there is only limited information on the antibacterial properties of palm oils rich in MCFAs. Free-fatty acids are known to have antibacterial activity in contrast with those bound to triglycerides<sup>27</sup>. As described by various authors previously<sup>46,52</sup>, the antistaphylococcal effect of fatty acids is induced by disruption of bacterial cell membrane resulting in its destabilization by inducing tubule formation on the lipid bilayer and cell lysis; thus, the antimicrobial activity of oils containing fatty acids is facilitated only upon hydrolysis of triglycerides<sup>26–28</sup>. In contrast, Ubgogu<sup>43</sup> showed that *E. guineensis* oil exerted slight antibacterial effect on *S. aureus*, without getting hydrolyzed, using the disc diffusion technique. This result is the opposite of that observed in this study, where the oils acted as an antibacterial only after being hydrolyzed by the porcine pancreatic lipase. Rossato et al.<sup>54</sup> also observed no antistaphylococcal activity of unhydrolyzed *A. vulgare* oil. Results of in vitro screening of *C. nucifera* oil and other MCFA-containing fats, with lipolytic enzymes that simulated gastric conditions in piglets, showed a significant change in suppression of gut microbiota (total anaerobes and *E. coli*)<sup>55</sup>. This finding suggests that MCFA-rich oils exert their antibacterial effects after enzymatic hydrolysis by lipases synthesized in the gastrointestinal tracts of humans and other animals.

Studies on the combinatory effect of MCFAs and their esters with different organic acids, inorganic compounds, and antibiotics against various bacteria, including *S. aureus*, can be found in literature<sup>26,42,47,56</sup>. However, the findings of these studies markedly vary, depending on the class of antimicrobial agent used. For example, Kitahara et al.<sup>47</sup> observed synergistic interaction of LA at 50 µg/mL with gentamicin (FICI values were 0.25–0.31) and imipenem (0.13–0.25) and indifferent interactions of LA (50 µg/mL) with ampicillin and oxacillin, against MRSA clinical isolates. Similarly, Hess et al.<sup>57</sup> observed indifferent interactions of the LA-ampicillin or vancomycin combination against *S. aureus* biofilms and a synergistic interaction between LA and streptomycin. We observed indifferent antistaphylococcal action of oxacillin and LA (50 µg/mL); however, increasing the amount (≥ 1024 µg/mL) of LA, produced strong antagonism in the presence of the antibiotic. The reason for the lack of antagonism in Kitahara et al.<sup>47</sup> and Hess et al.<sup>57</sup> could be the concentration of LA used in the study, which probably did not reach a sufficient value for the antagonism to be exerted. There is no information on the interaction of palm oils rich in MCFAs as their antibacterial activity was not confirmed in the study<sup>54,58</sup> because hydrolysis of oils was not performed<sup>26</sup>.

From the results presented in this study, it is not possible to infer by which mechanism the antagonism between LA, tested oils and oxacillin occurs. Nevertheless, the detected prolongation of the generation time resulting in the decrease of specific growth rate arising with increasing concentrations of LA and LA-rich tested palm oils indicates that a possible mechanism underlying the antagonistic interactions between tested compounds might lie in the halting of cell division caused by LA/*A. vulgare*/*C. nucifera*/*E. guineensis* oil. It can be assumed that while the LA temporarily prevents the growth of bacterial cells, oxacillin is not able to properly exert its activity. However, it is not just the membrane lipid structure that can change under the influence of exogenous lipids but the protein structure as well. Other factors including membrane strain may account for the organization of membrane proteins<sup>59</sup>. It can be hypothesized that under increased membrane strain, such as after the treatment of lipid bilayers with high concentrations of LA<sup>46</sup>, membrane protein function is altered<sup>60</sup>. Such a circumstance can affect the antibacterial activity of oxacillin, which strongly depends on its ability to inhibit bacterial cell wall synthesis by preferentially binding to penicillin-binding proteins (PBPs) that are located inside the bacterial cell wall<sup>61</sup>. Therefore, oxacillin probably becomes ineffective after change in PBP function, induced by LA. As membrane protein stability also depends on membrane energetics, LA can reduce membrane fluidity and disrupt the electron transport system, perhaps by restricting the movement of carriers within the membrane<sup>44</sup>. The eventual impairment of membrane electron carriers can lead to a change in the intracellular and extracellular pH, which can cause the precipitation of PBPs<sup>62</sup> and make them to lose the ability to interact with oxacillin. In addition, the change in extracellular pH can affect chemical structure of oxacillin as this drug is highly unstable in acidic environments<sup>63</sup>. Moreover, *S. aureus* is known to produce persisters, which are representing a fraction of the bacterial population that exhibits tolerance to antibiotics in response to various stresses<sup>64</sup>. According to the finding of Peyrusson et al.<sup>65</sup>, *S. aureus* in the presence of high concentration of various antibiotics including oxacillin showed a biphasic killing manner, meaning that a bulk of the bacterial population was susceptible and rapidly killed while a subpopulation with a slower killing rate was persisting for a much longer period of time, in addition showing the reversibility of the phenotype after antibiotic removal. Therefore, another possible explanation of antagonism between oxacillin and LA/LA-rich palm oils, can be in inducing persister cells of *S. aureus* in the presence of high concentrations of tested compounds.

Food-drug interactions are a major threat to safe and effective oral pharmacotherapy and can result in decreased bioavailability of a drug, which predisposes the patient to treatment failure, increases the risk of adverse events, and may even precipitate toxicities<sup>19,66</sup>. For this reason, coadministration of a drug with specific foods is noted in medical leaflets. Generally, food intake can influence the effectiveness of an antibiotic<sup>67</sup>. Ingestion of food, dietary fiber, or milk reduces the bioavailability of most antibiotics, including some penicillins<sup>68</sup>. For example, minerals in milk and cheese create complexes with antibiotics that decrease their absorption<sup>69</sup>, and as seen in the case of isoxazolyl penicillins, when administered shortly before or after a meal, delayed gastric emptying and increased acidity interfere with their absorption<sup>70</sup>. The consumption of coconut oil and related products is currently growing among certain populations, for the claimed health benefits associated with cardiovascular disease and weight loss<sup>71</sup>. On the other hand, recommendations of lowering intake of saturated fatty acids and replacing them with unsaturated fatty acids exist in order to reduce risk of atherosclerosis and type-2 diabetes<sup>72,73</sup>. The average concentration of LA in human serum of healthy adult male and female blood donors, ages ranging from 18 to 55 years, was found to be < 10 µg/mL<sup>74</sup>. It has, however, been proven that higher (14.2–140 g/day) intakes of MCFAs in diet may result in higher concentrations of high density lipoprotein cholesterol than found with long-chain fatty acids, highlighting the importance of considering chain length when measuring the effect of dietary saturated fatty acids on lipid profile<sup>75</sup>. Moreover, in a high-carbohydrate, high-fat diet, the increases in systolic blood pressure and diastolic stiffness in the heart were inhibited in mice with diet enriched by virgin coconut oil, composed predominantly of LA, at concentrations of 200 g/kg<sup>76</sup>. Our results showing strong in vitro antagonistic effect of oxacillin with LA or LA-rich palm oils at concentrations ≥ 1024 µg/mL (meaning approximately ≥ 1.113 g/kg; 1 g/kg of body mass) suggest that simultaneous administration of these agents can negatively affect their pharmacological properties. The recommended intake of fats in the diet of men is estimated to be around 65 g/day (daily energy intake 2000 kcal with fats representing 30% of it)<sup>77</sup>. According to FAO<sup>78</sup>, average energy requirement of an adult female is 2410 kcal/day and of an adult men is 3100 kcal/day. Counting daily intake of fats as 30% of total energy requirement, the daily intake of fats can be estimated to be 80 g/day for women and 103 g/day for men. Studies on coconut oil supplementation in diet usually focus on the addition of the oil in range 20–50 g/day<sup>79–81</sup>. Nevertheless, there have been reports on even higher daily consumption of coconut oil reaching up to 80 g/day<sup>82–84</sup>. Therefore, the observed antagonistic action between LA-rich oils/LA may be important especially in high-fat diets. Thus, our results showing strong in vitro antagonistic effect of oxacillin with LA or LA-rich palm oils suggest that simultaneous administration of these agents in high, but still reachable concentrations can negatively affect their pharmacological properties in the treatment of *S. aureus*. The risk of antagonistic interactions between oxacillin and LA-rich oils might be primarily important to systemic application, as their antibacterial effect is attributed to fatty acids unleashed from triglycerides only, therefore the topical application of LA-rich oils such as *A. vulgare*/*C. nucifera*/*E. guineensis* should not influence the antibacterial activity of oxacillin. But, according to Veralló-Rowell et al.<sup>85</sup>, 5 mL of extra virgin coconut oil applied two times a day on the affected areas that include the test sites is able to decolonise skin from *S. aureus* in adults with atopic dermatitis. This discrepancy between the theoretical background and practice can be debited to the lipolytic activity of skin microbiota, including staphylococci<sup>86</sup>, highlighting the importance of possible negative effect of LA-rich oils on topical treatment of *S. aureus*. Moreover, LA was previously tested in vitro at concentration of 0.24–500 µg/mL to evaluate its antibacterial properties against various bacteria causing inflammatory acne vulgaris, including *S. aureus*, proposing it as a promising remedy in the treatment of staphylococcal skin infections<sup>87</sup>. However, the mentioned tested concentrations of LA were not high enough for the antagonism with oxacillin to be exerted. Nevertheless, these hypotheses must be confirmed by further in vitro and in vivo tests and clinical trials because physiological processes can also induce changes in antibacterial activity of tested compounds.

In summary, this in vitro study revealed a concentration-dependent antagonistic effect between *A. vulgare*, *C. nucifera*, and *E. guineensis* oils when combined with oxacillin in higher amounts against various strains of *S. aureus*. The strongest antagonism was observed for *A. vulgare* oil, which contains the highest amount of LA. This compound was identified as the main agent responsible for antagonistic antistaphylococcal action of all oils assayed. To the best of our knowledge, this is the first study to report the antagonistic interactions between these agents. The mechanism underlying the antagonistic action of tested agents probably acts at the cellular level and is linked to the cell membranes. These findings suggest that interference between oxacillin and palm oils and their constituents can negatively affect the treatment of staphylococcal infections in humans and animals. However, these assumptions are based on in vitro tests and the negative interactions of the above-mentioned combinations should be confirmed by in vivo trials.

## Methods

**Chemicals and samples preparation.** LA, *C. nucifera* and *E. guineensis* oils, and oxacillin sodium monohydrate were obtained from Sigma-Aldrich (Prague, CZ). *A. vulgare* oil was purchased from Sweet Natural Botanicals (Panama City, FL, USA). LA and *A. vulgare*, *C. nucifera*, and *E. guineensis* oils were dispersed in dimethyl sulfoxide, which was previously proposed for sparingly soluble substances<sup>88</sup>, including the LA<sup>89</sup> and palm oil<sup>90</sup>, and emulsified using Tween 80 (Sigma-Aldrich, Prague, CZ), that is a common procedure of hydrophobic sample preparation<sup>91</sup>, not influencing the antibacterial properties of tested compounds when used in recommended concentrations<sup>92,93</sup>. Complete dissolution of LA was achieved by heating (70 °C for 10 min) in an ultrasonic-bath. Analysed plant oils were selected based on the high content of LA as described in literature<sup>94–96</sup>. Hydrolysis of oils, to induce antimicrobial properties, was achieved by adding  $5 \times 10^{-3}$  mg/mL of porcine pancreatic lipase (Sigma-Aldrich, Prague, CZ) and shaking for 1 h in a water-bath heated to 37 °C. Degree of hydrolysis of oils was dependent on the lipolytic activity of the enzyme. One unit of porcine pancreatic lipase hydrolyzes 1.0 microequivalent of fatty acid from triacetin in 1 h at pH 7.4, at 37 °C.

**Bacterial strains and media.** In this study, nine *S. aureus* strains were tested. Five reference strains including methicillin sensitive (MSSA) ATCC 29213, MRSA ATCC 33591, ATCC 33592, ATCC 43300 and ATCC BAA 976 were purchased from Oxoid (Basingstoke, UK). Three clinical isolates of drug resistant *S. aureus* (SA1, SA2, and SA3) and one epidemic MRSA strain (EMRSA-15) were obtained from the Motol University Hospital (Prague, CZ). Oxacillin, gentamicin, tetracycline, and penicillin were used as markers of the antibiotic resistance as it has been previously determined<sup>97–99</sup>. Based on the MIC values, clinical isolates were identified to be resistant to: SA1—resistant to gentamicin (MIC 8 µg/mL) and tetracycline (MIC 8 µg/mL); SA2—resistant to oxacillin (MIC 68 µg/mL), gentamicin (MIC 16 µg/mL) and tetracycline (MIC 8 µg/mL); SA3—resistant to gentamicin (MIC 8 µg/mL) and penicillin (MIC 18.67 µg/mL); EMRSA-15—resistant to oxacillin (MIC 99.56 µg/mL) and penicillin (MIC 16 µg/mL). The clinical isolates were identified using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), as described previously by Rondevaldova et al.<sup>98</sup>. Bacterial stocks were stored at 4 °C on Müller–Hinton agar (Oxoid, Basingstoke, UK). Working cultures were maintained in Müller–Hinton broth at 37 °C for 24 h before testing.

**Determination of fatty acid composition.** To evaluate fatty acid composition of oils obtained from *A. vulgare*, *C. nucifera*, and *E. guineensis*, alkaline trans-methylation of fatty acids was carried out as described by Raes et al.<sup>100</sup>. Analysis of methyl esters was performed using gas chromatography (GC) with the HP 6890 chromatograph (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA), equipped with a 60 m DB-23 capillary column (60 m × 0.25 mm × 0.25 µm) and a flame-ionization detector (FID); split injections were performed using an Agilent autosampler. A total of 1 µL of standards in hexane were injected in split mode (1:40 ratio) into the injector, heated to 230 °C. The column temperature was initially set at 120 °C for 6 min then programmed to 170 °C at a rate of 15 °C/min. The temperature gradient was further configured to 210 °C at the rate of 3 °C/min and held for 13.5 min. Finally, the temperature was programmed to 230 °C at the rate of 40 °C/min and held for 7 min. Nitrogen was used as the carrier gas, at a flow rate of 0.8 mL/min. Supelco 37 Component FAME Mix, PUFA 1, PUFA 2, PUFA 3, *trans*-vaccenic acid, and a mixture of conjugated isomers of linoleic acid (Sigma-Aldrich, Prague, CZ) were used as standards. Fatty acids were identified based on retention times with respect to standards.

**Evaluation of minimum inhibitory concentrations and antagonistic combinatory effect.** Using guidelines of the Clinical and Laboratory Standards Institute<sup>101</sup>, the antibacterial activities of oxacillin; oils extracted from *A. vulgare*, *C. nucifera*, and *E. guineensis*; and LA were evaluated in vitro by the broth microdilution method, modified as per the recommendations of Cos et al.<sup>102</sup>, for effectively assessing the anti-infective potential of the natural products. Antistaphylococcal effect of a combination of oxacillin/LA or oxacillin/palm oil was tested in vitro using the microdilution broth checkerboard method, as described in the Clinical Microbiology Procedures Handbook<sup>103</sup>. The determination of MIC of oxacillin, palm oils and LA, as well as oxacillin/LA or oxacillin/*A. vulgare* oil/*C. nucifera* oil/*E. guineensis* oil combinatory effect evaluation by FICI was performed in 96-well microtiter plates. For the testing of combinatory effects, eight twofold serial dilutions of oxacillin were placed in the horizontal rows of the plate and were subsequently cross-diluted vertically by eight twofold serial dilutions of the test compound (palm oil or LA), resulting in 64 different combinations of concentrations. The initial concentration for palm oils was 4096 µg/mL and for LA 2048 µg/mL; the starting concentration of antibiotic was adjusted according to the tested strain. The microtiter plate assay was performed using the automatic pipetting platform, Freedom EVO 100 equipped with a four-channel liquid handling arm (Tecan, Männedorf, CH). Cation-adjusted Müller–Hinton broth, equilibrated to a final pH of 7.6 with Trizma base (Sigma-Aldrich, Prague, CZ) was used as growth medium. Buffering the culture media was performed to ensure the stability of oxacillin that is known to decrease under the low pH conditions<sup>63</sup>. Inoculation of the plates was carried out using bacterial suspensions, at a final density of  $5 \times 10^5$  CFU/mL, standardized using Densi-La-Meter II by adjusting turbidity of the microorganism suspension to 0.5 McFarland standard. Next, incubation at 37 °C for 24 h was performed. Evaluation of bacterial growth was performed spectrophotometrically using multimode reader Cytation 3 (BioTek Instruments, Winooski, VT) at 405 nm. MIC values were expressed as the lowest compound concentrations that resulted in  $\geq 80\%$  growth reduction compared to that of the agent-free growth control. The lipase added to the Müller–Hinton broth, in concentrations ranging from 0.005 to  $9.77 \times 10^{-6}$  mg/mL did not affect the growth of any strain of *S. aureus* tested when assayed as a negative control. FICI values were determined as  $\Sigma$ FIC, derived from the equation,

$$\Sigma \text{ FIC} = \text{FIC}_A + \text{FIC}_B$$

where,  $\text{FIC}_A = \frac{\text{MIC}_A(\text{in the presence of B})}{\text{MIC}_A(\text{alone})}$  and  $\text{FIC}_B = \frac{\text{MIC}_B(\text{in the presence of A})}{\text{MIC}_B(\text{alone})}$ .

According to the value of  $\Sigma$ FIC, three different effects could be observed according to Odds<sup>104</sup>—synergy ( $\Sigma$ FIC  $\leq 0.5$ ), indifference ( $\Sigma$ FIC  $> 0.5$ –4), and antagonism ( $\Sigma$ FIC  $> 4$ ). All compounds and their combinations were tested in three independent experiments, each carried out in triplicate; MIC values and FICs presented in this paper are average values.

**Growth rates determination.** To evaluate the influence of tested palm oils and LA concentrations on parameters of the *S. aureus* growth, standardised microdilution assay was used<sup>105</sup>. Briefly, the determination in 96-well microtiter plates where eight two-fold serial dilutions of tested compound (LA or *A. vulgare*/*C. nucifera*/*E. guineensis* oil emulsion cleaved by porcine pancreatic lipase as described previously) starting at concentration 4096 µg/mL in cation-adjusted Müller–Hinton broth was performed. Next, the plates were inoculated with bacterial suspensions at a final density of  $5 \times 10^5$  CFU/mL, standardized using Densi-La-Meter II by adjusting turbidity of the microorganism suspension to 0.5 McFarland standard, same as in case of MIC and FIC determination. Subsequently, incubation at 37 °C was performed, measuring the absorbance of each well

spectrophotometrically by multimode reader Cytation 3 (BioTek Instruments, Winooski, VT) at 405 nm every half-to-one hour for 14 h and after 24 h.

## Data availability

The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Received: 5 May 2020; Accepted: 22 December 2020

Published online: 08 January 2021

## References

- Vos, P. *et al.* *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Firmicutes* (Springer, Berlin, 2011).
- WHO. *Global Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria to Guide Research, Discovery, and Development of New Antibiotics* (WHO Press, Geneva, 2017).
- Rodvold, K. A. & McConeghy, K. W. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* therapy: Past, present, and future. *Clin. Infect. Dis.* **58**, S20–S27. <https://doi.org/10.1093/cid/cit614> (2014).
- Aldeyab, M. A. *et al.* Modelling the impact of antibiotic use and infection control practices on the incidence of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A time-series analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* **62**, 593–600. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn198> (2008).
- Qin, X. *et al.* A randomised, double-blind, phase 3 study comparing the efficacy and safety of ceftazidime/avibactam plus metronidazole versus meropenem for complicated intra-abdominal infections in hospitalised adults in Asia. *Int. J. Antimicrob. Agents* **49**, 579–588. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.01.010> (2017).
- Tabuchi, F. *et al.* Synergistic effects of vancomycin and  $\beta$ -lactams against vancomycin highly resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antibiot.* **70**, 771–774. <https://doi.org/10.1038/ja.2017.7> (2017).
- Ba, X. *et al.* Old drugs to treat resistant bugs: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with mecc are susceptible to a combination of penicillin and clavulanic acid. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 7396–7404. <https://doi.org/10.1128/AAC.01469-15> (2015).
- Ocampo, P. S. *et al.* Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 4573–4582. <https://doi.org/10.1128/AAC.02463-14> (2014).
- Booker, B. M., Stahl, L. & Smith, P. F. In vitro antagonism with the combination of vancomycin and clindamycin against *Staphylococcus aureus*. *J. Appl. Res. Clin. Exp. Ther.* **4**, 385–395 (2004).
- Ho, J. L. & Klempner, M. S. In vitro evaluation of clindamycin in combination with oxacillin, rifampin, or vancomycin against *Staphylococcus aureus*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **4**, 133–138. [https://doi.org/10.1016/0732-8893\(86\)90147-1](https://doi.org/10.1016/0732-8893(86)90147-1) (1986).
- Zanderigo, E. *et al.* The well-being model a new drug interaction model for positive and negative effects. *Anesthesiol. J. Am. Soc. Anesthesiol.* **104**, 742–753. <https://doi.org/10.1097/0000542-200604000-00019> (2006).
- Mouly, S., Lloret-Linares, C., Sellier, P.-O., Sene, D. & Bergmann, J.-F. Is the clinical relevance of drug-food and drug-herb interactions limited to grapefruit juice and saint-john's wort?. *Pharmacol. Res.* **118**, 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.09.038> (2017).
- Boullata, J. I. & Hudson, L. M. Drug–nutrient interactions: A broad view with implications for practice. *J. Acad. Nutr. Diet.* **112**, 506–517. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2011.09.002> (2012).
- Cheng, T. O. Food–drug interactions. *Int. J. Cardiol.* **106**, 392–393. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2004.12.083> (2006).
- Fugh-Berman, A. Herb–drug interactions. *Lancet* **355**, 134–138. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)06457-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)06457-0) (2000).
- Pirmohamed, M. Drug–grapefruit juice interactions. *BMJ* **346**, f1. <https://doi.org/10.1136/bmj.f1> (2013).
- Bailey, D. G., Dresser, G. & Arnold, J. M. O. Grapefruit–medication interactions: Forbidden fruit or avoidable consequences?. *CMAJ* **185**, 309–316. <https://doi.org/10.1503/cmaj.120951> (2013).
- Kanazawa, S., Ohkubo, T. & Sugawara, K. The effects of grapefruit juice on the pharmacokinetics of erythromycin. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **56**, 799–803. <https://doi.org/10.1007/s002280000229> (2001).
- Genser, D. Food and drug interaction: Consequences for the nutrition/health status. *Ann. Nutr. Metab.* **52**, 29–32. <https://doi.org/10.1159/000115345> (2008).
- Braga, L. *et al.* Synergic interaction between pomegranate extract and antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Can. J. Microbiol.* **51**, 541–547. <https://doi.org/10.1139/w05-022> (2005).
- Pinto, M. E. *et al.* Antifungal and antioxidant activity of fatty acid methyl esters from vegetable oils. *An. Acad. Bras. Cienc.* **89**, 1671–1681. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160908> (2017).
- Chiu, M. C., de Moraes Coutinho, C. & Gonçalves, L. A. G. Carotenoids concentration of palm oil using membrane technology. *Desalination* **245**, 783–786. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.03.002> (2009).
- de Souza Guedes, L. *et al.* Study of the effect of the operating parameters on the separation of bioactive compounds of palm oil by ultra-high performance supercritical fluid chromatography using a design of experiments approach. *Can. J. Chem. Eng.* **95**, 2306–2314. <https://doi.org/10.1002/cjce.22969> (2017).
- Anushree, S., André, M., Guillaume, D. & Frédéric, F. Stearic sunflower oil as a sustainable and healthy alternative to palm oil. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **37**, 18. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0426-x> (2017).
- McGaw, L., Jäger, A. & Van Staden, J. Antibacterial effects of fatty acids and related compounds from plants. *S. Afr. J. Bot.* **68**, 417–423. [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30367-7](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30367-7) (2002).
- Tangwatcharin, P. & Khopaibool, P. Activity of virgin coconut oil, lauric acid or monolaurin in combination with lactic acid against *Staphylococcus aureus*. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* **43**, 969–985 (2012).
- Lee, S., Ariffin, A., Son, R. & Ghazali, H. Effect of lipase hydrolysis on the antibacterial activity of coconut oil, palm mesocarp oil and selected seed oils against several pathogenic bacteria. *Int. Food Res. J.* **22**, 46 (2015).
- Hovorková, P., Laloučková, K. & Škrivanová, E. Determination of in vitro antibacterial activity of plant oils containing medium-chain fatty acids against gram-positive pathogenic and gut commensal bacteria. *Czech J. Anim. Sci.* **63**, 119–125. <https://doi.org/10.17221/70/2017-CJAS> (2018).
- McGrattan, C. J., Sullivan, J. D. Jr. & Ikawa, M. Inhibition of chlorella (chlorophyceae) growth by fatty acids, using the paper disc method. *J. Phycol.* **12**, 129–131. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1976.tb02839.x> (1976).
- Era, M. *et al.* Antifungal activity of fatty acid salts against *Penicillium pinophilum*. *Jpn. J. Food Eng.* **16**, 99–108. <https://doi.org/10.11301/jsfe.16.99> (2015).
- Dohme, F., Machmüller, A., Sutter, F. & Kreuzer, M. Digestive and metabolic utilization of lauric, myristic and stearic acid in cows, and associated effects on milk fat quality. *Arch. Anim. Nutr.* **58**, 99–116. <https://doi.org/10.1080/00039420410001667485> (2004).
- Sun, C. Q., O'Connor, C. J. & Robertson, A. M. Antibacterial actions of fatty acids and monoglycerides against *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **36**, 9–17. [https://doi.org/10.1016/S0928-8244\(03\)00008-7](https://doi.org/10.1016/S0928-8244(03)00008-7) (2003).

33. Skrivanova, E., Marounek, M., Benda, V. & Brezina, P. Susceptibility of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin. *Vet. Med. Praha* **51**, 81 (2006).
34. Thormar, H., Hilmarsson, H. & Bergsson, G. Stable concentrated emulsions of the 1-monoglyceride of capric acid (monocaprin) with microbicidal activities against the food-borne bacteria *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 522–526. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.522-526.2006> (2006).
35. Bergsson, G., Arnfinnsson, J., Steingrímsson, Ó. & Thormar, H. Killing of gram-positive cocci by fatty acids and monoglycerides. *Antonie van Leeuwenhoek* **72**, 670–678. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2001.d01-131.x> (2001).
36. Projan, S. J., Brown-Skrobot, S., Schlievert, P. M., Vandenesch, F. & Novick, R. P. Glycerol monolaurate inhibits the production of beta-lactamase, toxic shock toxin-1, and other staphylococcal exoproteins by interfering with signal transduction. *J. Bacteriol.* **176**, 4204–4209. <https://doi.org/10.1128/jb.176.14.4204-4209.1994> (1994).
37. Ruzin, A. & Novick, R. P. Equivalence of lauric acid and glycerol monolaurate as inhibitors of signal transduction in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **182**, 2668–2671. <https://doi.org/10.1128/JB.182.9.2668-2671.2000> (2000).
38. Liaw, S.-J., Lai, H.-C. & Wang, W.-B. Modulation of swarming and virulence by fatty acids through the rbsA protein in *Proteus mirabilis*. *Infect. Immunity* **72**, 6836–6845. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.12.6836-6845.2004> (2004).
39. Hanczakowska, E. *et al.* Caprylic, capric and/or fumaric acids as antibiotic replacements in piglet feed. *Ann. Anim. Sci.* **11**, 115–124 (2011).
40. Huang, C. B., Alimova, Y., Myers, T. M. & Ebersole, J. L. Short- and medium-chain fatty acids exhibit antimicrobial activity for oral microorganisms. *Arch. Oral Biol.* **56**, 650–654. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.01.011> (2011).
41. Kollanoor-Johny, A. *et al.* Caprylic acid reduces *Salmonella enteritidis* populations in various segments of digestive tract and internal organs of 3- and 6-week-old broiler chickens, therapeutically. *Poult. Sci.* **91**, 1686–1694. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01716> (2012).
42. Batovska, D. I., Todorova, T., Tsvetkova, V. & Najdenski, H. M. Antibacterial study of the medium chain fatty acids and their 1-monoglycerides: Individual effects and synergistic relationships. *Pol. J. Microbiol.* **58**, 43–47 (2009).
43. Ubgogu, O., Onyeagba, R. & Chigbu, O. Lauric acid content and inhibitory effect of palm kernel oil on two bacterial isolates and *Candida albicans*. *Afr. J. Biotechnol.* **5**, 1045 (2006).
44. Desbois, A. P. & Smith, V. J. Antibacterial free fatty acids: Activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **85**, 1629–1642. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2355-3> (2010).
45. Churchward, C. P., Alany, R. G. & Snyder, L. A. Alternative antimicrobials: The properties of fatty acids and monoglycerides. *Crit. Rev. Microbiol.* **44**, 561–570. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2018.1467875> (2018).
46. Yoon, B. K., Jackman, J. A., Kim, M. C. & Cho, N.-J. Spectrum of membrane morphological responses to antibacterial fatty acids and related surfactants. *Langmuir* **31**, 10223–10232. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b02088> (2015).
47. Kitahara, T. *et al.* In vitro activity of lauric acid or myristylamine in combination with six antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int. J. Antimicrob. Agents* **27**, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.08.020> (2006).
48. Mambrin, M. & Arellano, D. B. Characterization of palm tree fruit oils from Brazilian Amazonia region. *Grasas Aceites* **48**, 154–158. <https://doi.org/10.3989/gya.1997.v48.i3.783> (1997).
49. Marina, A., Che Man, Y., Nazimah, S. & Amin, I. Chemical properties of virgin coconut oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **86**, 301–307. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1351-1> (2009).
50. Edem, D. Palm oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological and toxicological aspects: A review. *Plant Foods Hum. Nutr.* **57**, 319–341. <https://doi.org/10.1023/A:1021828132707> (2002).
51. Nitbani, F. O., Jumina, S. D. & Solikhah, E. N. Isolation and antibacterial activity test of lauric acid from crude coconut oil. *Procedia Chem.* **18**, 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.01.021> (2016).
52. Parsons, J. B., Yao, J., Frank, M. W., Jackson, P. & Rock, C. O. Membrane disruption by antimicrobial fatty acids releases low-molecular-weight proteins from *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **194**, 5294–5304. <https://doi.org/10.1128/JB.00743-12> (2012).
53. Kelsey, J., Bayles, K. W., Shafiq, B. & McGuire, M. Fatty acids and monoacylglycerols inhibit growth of *Staphylococcus aureus*. *Lipids* **41**, 951–961. <https://doi.org/10.1007/s11745-006-5048-z> (2006).
54. Rossato, A. *et al.* Evaluation in vitro of antimicrobial activity of tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*). *Arch. Biosci. Health* **1**, 99–112. <https://doi.org/10.18593/abh.19701> (2019).
55. Dierick, N., Decuypere, J., Molly, K., Van Beek, E. & Vanderbeke, E. The combined use of triacylglycerols containing medium-chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative for nutritional antibiotics in piglet nutrition: I. In vitro screening of the release of MCFAs from selected fat sources by selected exogenous lipolytic enzymes under simulated pig gastric conditions and their effects on the gut flora of piglets. *Livest. Prod. Sci.* **75**, 129–142. [https://doi.org/10.1016/s0301-6226\(01\)00303-7](https://doi.org/10.1016/s0301-6226(01)00303-7) (2002).
56. Rosenblatt, J., Reitzel, R. A. & Raad, I. Caprylic acid and glyceryl trinitrate combination for eradication of biofilm. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 1786–1788. <https://doi.org/10.1128/AAC.04561-14> (2015).
57. Hess, D. J., Henry-Stanley, M. J. & Wells, C. L. Antibacterial synergy of glycerol monolaurate and aminoglycosides in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 6970–6973. <https://doi.org/10.1128/AAC.03672-14> (2014).
58. Ferreira, B. S. *et al.* Comparative properties of Amazonian oils obtained by different extraction methods. *Molecules* **16**, 5875–5885. <https://doi.org/10.1128/10.3390/molecules16075875> (2011).
59. Robertson, J. L. The lipid bilayer membrane and its protein constituents. *J. Gen. Physiol.* **150**, 1472–1483. <https://doi.org/10.1085/jgp.201812153> (2018).
60. Zhang, X. C. & Li, H. Interplay between the electrostatic membrane potential and conformational changes in membrane proteins. *Protein Sci.* **28**, 502–512. <https://doi.org/10.1002/pro.3563> (2019).
61. Papich, M. G. *Saunders Handbook of Veterinary Drugs* (Elsevier, Hoboken, 2007).
62. Roch, M. *et al.* Thermosensitive pbp2a requires extracellular folding factors prsa and htra1 for *Staphylococcus aureus* MRSA  $\beta$ -lactam resistance. *Commun. Biol.* **2**, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0667-0> (2019).
63. Rad, I., Croitoru, M. & Gyéresi, Á. Improvements of oxacillin stability in a pH = 1.2 acidic environment. *Acta Med. Marisiensis* **57**, 328–330 (2011).
64. Kubistova, L., Dvoracek, L., Tkadlec, J., Melter, O. & Licha, I. Environmental stress affects the formation of *Staphylococcus aureus* persister tolerant to antibiotics. *Microb. Drug Resist.* **24**, 547–555. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0064> (2018).
65. Peyrusson, F. *et al.* Intracellular *Staphylococcus aureus* persists upon antibiotic exposure. *Nat. Commun.* **11**, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15966-7> (2020).
66. Koziol, M. *et al.* The mechanisms of pharmacokinetic food-drug interactions—A perspective from the ungap group. *Eur. J. Pharm. Sci.* **134**, 31–59. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.04.003> (2019).
67. Hodel, M. & Genné, D. Antibiotics: Drug and food interactions. *Rev. Med. Suisse* **5**, 1979–1984 (2009).
68. Schmidt, L. & Dalhoff, K. Food–drug interactions. *Drugs* **62**, 1481–1502. <https://doi.org/10.2165/00003495-200262100-00005> (2002).
69. Bushra, R., Aslam, N. & Khan, A. Y. Food–drug interactions. *Oman Med. J.* **26**, 77–83. <https://doi.org/10.5001/omj.2011.21> (2011).
70. Marcy, S. M. & Klein, J. O. The isoxazolyl penicillins: Oxacillin, cloxacillin, and dicloxacillin. *Med. Clin. N. Am.* **54**, 1127–1143. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)32582-2](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)32582-2) (1970).

71. Santos, H. O., Howell, S., Earnest, C. P. & Teixeira, F. J. Coconut oil intake and its effects on the cardiometabolic profile—A structured literature review. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **62**, 436–443. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2019.11.001> (2019).
72. Wu, H., Xu, L. & Ballantyne, C. M. Dietary and pharmacological fatty acids and cardiovascular health. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **105**, 1030–1045. <https://doi.org/10.1111/10.1210/clinem/dgz174> (2020).
73. Lenighan, Y. M., McNulty, B. A. & Roche, H. M. Dietary fat composition: Replacement of saturated fatty acids with PUFA as a public health strategy, with an emphasis on  $\alpha$ -linolenic acid. *Proc. Nutr. Soc.* **78**, 234–245. <https://doi.org/10.1017/S0029665118002793> (2019).
74. Sera, R. K., McBride, J. H., Higgins, S. A. & Rodgerson, D. O. Evaluation of reference ranges for fatty acids in serum. *J. Clin. Lab. Anal.* **8**, 81–85. <https://doi.org/10.1002/jcla.1860080205> (1994).
75. Panth, N., Abbott, K. A., Dias, C. B., Wynne, K. & Garg, M. L. Differential effects of medium- and long-chain saturated fatty acids on blood lipid profile: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* **108**, 675–687. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1976.tb02839.x> (2018).
76. Panchal, S. K., Carnahan, S. & Brown, L. Coconut products improve signs of diet-induced metabolic syndrome in rats. *Plant Foods Hum. Nutr.* **72**, 418–424. <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0643-0> (2017).
77. Lewis, J. *Codex Nutrient Reference Values: Especially for Vitamins, Minerals and Protein* (FAO and WHO, Rome, 2019).
78. FAO. *Human Energy Requirements: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation: Rome, 17–24 October 2001* (FAO, Rome, 2004).
79. Korrapati, D. *et al.* Coconut oil consumption improves fat-free mass, plasma hdl-cholesterol and insulin sensitivity in healthy men with normal bmi compared to peanut oil. *Clin. Nutr.* **38**, 2889–2899. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.12.026> (2019).
80. Harris, M., Hutchins, A. & Fryda, L. The impact of virgin coconut oil and high-oleic safflower oil on body composition, lipids, and inflammatory markers in postmenopausal women. *J. Med. Food* **20**, 345–351. <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.0114> (2017).
81. Khaw, K.-T. *et al.* Randomised trial of coconut oil, olive oil or butter on blood lipids and other cardiovascular risk factors in healthy men and women. *BMJ Open* <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-020167> (2018).
82. Reiser, R. *et al.* Plasma lipid and lipoprotein response of humans to beef fat, coconut oil and safflower oil. *Am. J. Clin. Nutr.* **42**, 190–197. <https://doi.org/10.1093/ajcn/42.2.190> (1985).
83. Ng, T., Hassan, K., Lim, J., Lye, M. & Ishak, R. Nonhypercholesterolemic effects of a palm-oil diet in Malaysian volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 1015S–1020S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/53.4.1015S> (1991).
84. Maki, K. C. *et al.* Corn oil lowers plasma cholesterol compared with coconut oil in adults with above-desirable levels of cholesterol in a randomized crossover trial. *J. Nutr.* **148**, 1556–1563. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy156> (2018).
85. Verallo-Rowell, V. M., Dillague, K. M. & Syah-Tjundawan, B. S. Novel antibacterial and emollient effects of coconut and virgin olive oils in adult atopic dermatitis. *Dermatitis* **19**, 308–315. <https://doi.org/10.2310/6620.2008.08052> (2008).
86. Kwaszewska, A., Sobis-Glinkowska, M. & Szewczyk, E. M. Cohabitation—Relationships of corynebacteria and staphylococci on human skin. *Folia Microbiol.* **59**, 495–502. <https://doi.org/10.1007/s12223-014-0326-2> (2014).
87. Nakatsuji, T. *et al.* Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: Its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. *J. Investig. Dermatol.* **129**, 2480–2488. <https://doi.org/10.1038/jid.2009.93> (2009).
88. Balakin, K. V. *et al.* In silico estimation of DMSO solubility of organic compounds for bioscreening. *J. Biomol. Screen.* **9**, 22–31. <https://doi.org/10.1177/1087057103260006> (2004).
89. Yang, D. *et al.* The antimicrobial activity of liposomal lauric acids against *Propionibacterium acnes*. *Biomaterials* **30**, 6035–6040. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.07.033> (2009).
90. Salhin, A., Ali, M. & Abdurrahman, A. Determination of free fatty acids in palm oil samples by non-aqueous flow injection using colorimetric reagent. *Chem. Mater. Eng* **1**, 96–103. <https://doi.org/10.13189/cme.2013.010306> (2013).
91. Deng, L.-L., Taxipalati, M., Que, F. & Zhang, H. Physical characterization and antioxidant activity of thymol solubilized tween 80 micelles. *Sci. Rep.* **6**, 38160. <https://doi.org/10.1038/srep38160> (2016).
92. Hood, J. R., Wilkinson, J. M. & Cavanagh, H. M. Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research. *J. Essent. Oil Res.* **15**, 428–433. <https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9698631> (2003).
93. Castro, C. A., Hogan, J. B., Benson, K. A., Shehata, C. W. & Landauer, M. R. Behavioral effects of vehicles: DMSO, ethanol, tween-20, tween-80, and emulphor-620. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **50**, 521–526. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(94\)00331-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(94)00331-9) (1995).
94. McCarty, M. F. & DiNicolantonio, J. J. Lauric acid-rich medium-chain triglycerides can substitute for other oils in cooking applications and may have limited pathogenicity. *Open Heart*. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2016-000467> (2016).
95. Harwood, J. L., Woodfield, H. K., Chen, G. & Weselake, R. J. Modification of oil crops to produce fatty acids for industrial applications. In *Fatty Acids* (eds Harwood, J. L. *et al.*) 187–236 (Elsevier, Amsterdam, 2017).
96. Didonet, A. A. *et al.* Characterization of amount and quality of tucuman kernel oil as a potential biomass. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **97**, 955–962. <https://doi.org/10.1002/aocs.12374> (2020).
97. Rondevaldova, J., Novy, P., Urban, J. & Kokoska, L. Determination of anti-staphylococcal activity of thymoquinone in combinations with antibiotics by checkerboard method using EVA capmat as a vapor barrier. *Arab. J. Chem.* **10**, 566–572. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.04.021> (2017).
98. Rondevaldova, J., Hummelova, J., Tauchen, J. & Kokoska, L. In vitro anti-staphylococcal synergistic effect of isoflavone metabolite demethyltaxasin with amoxicillin and oxacillin. *Microb. Drug Resist.* **24**, 24–29. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0033> (2018).
99. Frankova, A. *et al.* In vitro antibacterial activity of extracts from samoan medicinal plants and their effect on proliferation and migration of human fibroblasts. *J. Ethnopharmacol.* **264**, 113220. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113220> (2020).
100. Raes, K., De Smet, S., Balcaen, A., Claeys, E. & Demeyer, D. Effect of diets rich in n-3 polyunsaturated fatty acids on muscle lipids and fatty acids in belgian blue double-musced young bulls. *Reprod. Nutr. Dev.* **43**, 331–345. <https://doi.org/10.1051/rnd:2003029> (2003).
101. CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard M07* 11th edn. (CLSI, Wayne, 2018).
102. Cos, P., Vlietinck, A. J., Berghe, D. & Maes, L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro ‘proof-of-concept’. *J. Ethnopharmacol.* **106**, 290–302. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.04.003> (2006).
103. Leber, A. *Synergism Testing: Broth Microdilution Checkerboard and Broth Macrodilution Methods Clinical Microbiology Procedures Handbook* 1–23 (ASM Press, Washington, DC, 2016).
104. Odds, F. C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *J. Antimicrob. Chemother.* **52**, 1–1. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg301> (2003).
105. CLSI. *Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents: Approved Guideline* (CLSI, Wayne, 1999).

## Acknowledgements

This work was supported by the European Regional Development Fund-Project “Centre for the investigation of synthesis and transformation of nutritional substances in the food chain in interaction with potentially harmful substances of anthropogenic origin: comprehensive assessment of soil contamination risks for the quality of agricultural products” (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000845), by the project of the Ministry of Agriculture of the

Czech Republic No. MZeRO0718, and by the Czech University of Life Sciences, Prague (project IGA 20195003). The authors would like to thank to Prof. Lubomír Opletal from the Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Králové; Petr Domecký from Drug information center of Faculty of Pharmacy, Charles University in Hradec Králové and University Hospital of Hradec Králové; and Prof. Milan Marounek from Institute of Animal Science in Prague for advice regarding oxacillin and its possible interactions.

### Author contributions

K.L. and J.R. designed the study protocol, K.L., A.F. and J.S. carried out the tests. K.L., L.K. and E.S. contributed to drafting the manuscript. All authors contributed to manuscript revision, read and approved the submitted version.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.

### Additional information

**Correspondence** and requests for materials should be addressed to L.K.

**Reprints and permissions information** is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2021