

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Hodnocení kvality olivových olejů dostupných na
tuzemském trhu**

Diplomová práce

**Tereza Drábková
Výživa a potraviny**

Ing. Jan Táborský, PhD.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Hodnocení kvality olivových olejů dostupných na tuzemském trhu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13.04.2022

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu Ing. Janu Táborskému, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, vstřícnost a především trpělivost a věnovaný čas. Také bych ráda poděkovala své rodině a přátelům za veškerou podporu a trpělivost během mých studií.

Hodnocení kvality olivových olejů dostupných na tuzemském trhu

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá hodnocením kvality olivových olejů dostupných na tuzemském trhu. Sleduje zastoupení jednotlivých mastných kyselin ve vybraných vzorcích olejů a další kvalitativní parametry jako je číslo kyselosti nebo peroxidové číslo.

V experimentální části práce bylo analyzováno 16 extra panenských olivových olejů a 2 oleje ze směsi extra panenského a rafinovaného olivového oleje. Ve vzorcích se stanovoval profil zastoupených mastných kyselin metodou plynové chromatografie, na jehož základě byly vzorky porovnávány se standardy deklarovanými Nařízením Komise (EU) č. 2019/1604 (2019). Dále se titrací stanovovalo číslo kyselosti, které je ukazatelem volných mastných kyselin obsažených v oleji, a peroxidové číslo vyjadřující míru oxidace tuku. Experimentální část práce prokázala, že profily mastných kyselin a čísla kyselosti analyzovaných vzorků jsou v souladu s nařízením a odpovídají standardům oleje pro vybrané kategorie.

Maximální povolenou hodnotu peroxidového čísla přesáhlo 5 vzorků a to vzorky č.3 ($23,49 \pm 0,17$) meq O₂/kg, č.5 ($26,76 \pm 0,01$) meq O₂/kg, č.6 ($26,41 \pm 0,00$) meq O₂/kg, č.11 ($29,25 \pm 0,00$) meq O₂/kg a č.12 ($24,56 \pm 0,00$) meq O₂/kg. Mezi rozdíly v peroxidovém čísle se nepodařilo prokázat souvislost.

Klíčová slova: olivový olej; hodnocení kvality; zastoupení mastných kyselin; plynová chromatografie

Quality evaluation of olive oils available on the domestic market

Summary

This thesis deals with the evaluation of the quality of olive oils available on the domestic market. It monitors the representation of individual fatty acids in selected oil samples and other quality parameters such as acidity number or peroxide value.

In the experimental part of the work, 16 extra virgin olive oils and 2 oils from a mixture of extra virgin and refined olive oil were analysed. The profile of the fatty acids present in the samples was determined by gas chromatography, on the basis of which the samples were compared with the standards declared by European Commission Regulation (EEC) No 2568/91. In addition, the acidity number, which is an indicator of the free fatty acids contained in the oil, and the peroxide number, which indicates the degree of oxidation of the fat, were determined by titration. The experimental part of the work showed that the fatty acid profiles and acidity numbers of the samples analysed were in accordance with the Regulation and corresponded to the oil standards for the selected categories.

Five samples exceeded the maximum peroxide value, namely samples 3 (23.49 ± 0.17) meq O₂/kg, 5 (26.76 ± 0.01) meq O₂/kg, 6 (26.41 ± 0.00) meq O₂/kg, 11 (29.25 ± 0.00) meq O₂/kg and 12 (24.56 ± 0.00) meq O₂/kg. No correlation could be shown between the differences in peroxide number.

Keywords: olive oil; quality assessment; fatty acid content; gas chromatography

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Vědecká hypotéza a cíle práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Základní charakteristika olivového oleje, historie a původ	10
3.1.1 Historie olivového oleje.....	10
3.1.2 Olivovník a jeho plody	11
3.1.3 Charakteristika a typy olivového oleje	11
3.2 Chemické složení olivového oleje	14
3.2.1 Hlavní složka	14
3.2.2 Vedlejší složka.....	17
3.3 Technologie výroby a zpracování olivových olejů.....	20
3.4 Metody ověřování kvality olivových olejů	21
4 Materiál a metody	24
4.1 Vzorčky použitých olejů	24
4.1.1 Stanovení profilu mastných kyselin.....	25
4.1.2 Stanovení čísla kyselosti	28
4.1.3 Stanovení peroxidového čísla	29
4.1.4 Zpracování dat	31
5 Výsledky	32
5.1 Profil mastných kyselin.....	32
5.2 Číslo kyselosti	36
5.3 Peroxidové číslo	38
6 Diskuze	40
6.1 Profil mastných kyselin.....	40
6.2 Číslo kyselosti	40
6.3 Peroxidové číslo	42
7 Závěr.....	44
8 Literatura.....	45
9 Seznam použitých zkratk a symbolů	49
10 Seznam grafů, obrázků a tabulek.....	51

1 Úvod

Olivový olej, základní potravina obyvatel zemí obklopujících Středozevní moře, je známý především pro svůj jedinečný charakter a chuť, jelikož se získává z plodů pouze mechanickými nebo jinými fyzikálními metodami. Středomořská strava, jejímž hlavním zdrojem tuku je právě olivový olej, bývá spojována se sníženým rizikem kardiovaskulárních onemocnění, obezity, metabolického syndromu, cukrovky 2. typu, hypertenze a prevencí poruch centrální nervové soustavy. Tyto vlastnosti jsou přisuzovány složení mastných kyselin v oleji a přítomnosti minoritních složek, zejména biofenolů, skvalenu, tokoferolů a triterpenů.

Výroba vysoce kvalitního extra panenského olivového oleje vyžaduje zdravé a správně vyzrálé plody, které prochází pečlivou kontrolou v průběhu celé výroby, od stromu až po plnění do lahví. Kvalitu, identitu a pravost olivového oleje zaručují mezinárodní normy, regulované limity a analytické metody. Pro kvantifikaci bioaktivních složek, hodnocení chuti a ověření zeměpisného původu či pravosti lze použít i sofistikovanější metody, jako je vysokotlaká kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií, plynová chromatografie, nukleární magnetická rezonance a metody založené na DNA. Panenský olivový olej má při správném skladování pozoruhodnou stabilitu vůči oxidaci. Právě tato stabilita, typické chuťové tóny a další vlastnosti způsobené různými kultivary oliv a rozdíly ve zpracování nabízejí možnosti pro rozmanité kulinářské využití a přípravu tradičních i gurmánských pokrmů.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce bude hodnocení kvality olivových olejů dostupných na tuzemském trhu. Bude sledováno zastoupení jednotlivých mastných kyselin ve vybraných vzorcích olejů a další kvalitativní parametry. Hlavním cílem bude posoudit, zda údaje deklarované výrobcem (distributorem) odpovídají skutečnosti.

Zastoupení mastných kyselin bude sledováno metodou plynové chromatografie po převedení analyzovaného vzorku na směs methylesterů reakcí s methanolátem sodným. Kromě zastoupení mastných kyselin budou sledovány ve vzorcích ještě další parametry související s deklarovanou kvalitou.

Tato diplomová práce vychází z následující hypotézy:

Olivové oleje dostupné na tuzemském trhu v některých případech neodpovídají deklarované kvalitě.

3 Literární rešerše

3.1 Základní charakteristika olivového oleje, historie a původ

3.1.1 Historie olivového oleje

Divoké olivy byly objeveny na území Malé Asie (většina území dnešního Turecka) přibližně před 6 000 lety. V minulosti se olivový olej používal k mnoha účelům, včetně náboženských rituálů, léků, jako palivo do olejových lamp, k výrobě mýdla a k péči o pleť.

Podle Kapellakise et al. pochází moderní olivovník pravděpodobně ze starověké Persie a Mezopotámie. Poté se rozšířil směrem k Sýrii a Izraeli v povodí Středozemního moře, kde byl pěstován a později zavlečen do severní Afriky. Někteří vědci tvrdí, že pěstování oliv pochází od starých Egyptanů. Olivy byly totiž nalezeny také v egyptských hrobkách z doby 2 000 let před naším letopočtem.

Nejstarší dochované amfory s olivovým olejem pocházejí z doby 3 500 let př. n. l., i když se předpokládá, že výroba olivového oleje začala již před rokem 4 000 př. n. l. Kolem roku 3 000 př. n. l. se olivy hojně pěstovaly na Krétě a byly vysoce ceněným zbožím. Pěstování olivovníků na Krétě převládlo v postpalatinském období a hrálo významnou roli v ekonomice ostrova, stejně jako v celém Středomoří (Foley et al. 2012)

Zlatý věk olivového oleje nastal s Řeky, kteří jej používali jako potravinu, palivo, pleťový krém, antikoncepci, čistící prostředek, konzervační prostředek, pesticidy, parfémy nebo i ozdoby. Olivový olej byl také hlavním vývozním artiklem mykénského Řecka (cca 1450-1150 př. n. l.). Vědci se domnívají, že starověký olivový olej se vyráběl procesem, při němž se olivy ukládaly do tkaných rohoží a lisovaly, přičemž olej se shromažďoval v kádích (Riley 2002).

Později, když byly řecké kolonie založeny i v jiných částech Středomoří, se pěstování oliv rozšířilo například ve Španělsku a dále se šířilo po celé Římské říši. Význam olivového oleje jako obchodní komodity vzrostl po dobytí Egypta, Řecka a Malé Asie Římany, což vedlo k rozšíření obchodu podél Středozemního moře. V 5. století n. l. se produkce oliv dále rozšiřovala a Římané začali používat další výrobní techniky, jako například lis na olivy (Vossen 2007).

V současné době je na světě přibližně 9,4 milionu hektarů olivovníků, z nichž se produkuje 1,5 milionu tun stolních oliv a 16 milionů tun oliv, které se zpracovávají na 2,56 milionu tun oleje. Španělsko má přibližně čtvrtinu světové výměry, pěstuje 2,42 milionu olivovníků a produkuje 36 % oleje (≈800 000 t/rok), což ho řadí na první místo v produkci. Produkce olivového oleje se za posledních 60 let ztrojnásobila a ve sklizňovém roce 2019/20 dosáhla 3 266 500 tun. Předběžné údaje pro rok 2020/21 ukazují na pokles produkce o 7,9 % na objem 3 010 000 t. Podle oficiálních údajů jednotlivých zemí a odhadů Výkonného sekretariátu se v hospodářském roce 2021/22 předpokládá světová produkce ve výši přibližně 3 098 500 t, což je o 2,9 % více než v předchozím roce. Odhaduje se, že dovoz a vývoz přesáhne 1 milion tun. Světová spotřeba může dosáhnout 3 214 500 t, což je o 2,9 % více než v předchozím roce (The world of olive oil 2022).

3.1.2 Olivovník a jeho plody

Olivovník patří do čeledi olivovníkovitých (*Oleaceae*), která se skládá z 20-29 hlavních rodů. Řadí se do rodu *Olea* (zahrnuje více než 30 druhů a poddruhů) a do druhu *Olea europaea*, která jako jediná má jedlé plody. Olivovník evropský (*Olea europaea L.*) je polymorfní, středně velký strom (maximálně 10 m) s brázditým kmenem. Má sbíhavé korkovité šedozelené listy (obvykle asi 5-6 cm dlouhé a uprostřed listu asi 1-1,5 cm široké) s hladkými okraji a krátkou stopkou. Jedná se o strom středomořské oblasti, suché subtropické klimatické zóny, který je dobře přizpůsoben extrémním podmínkám prostředí, ale vyžaduje intenzivní světlo a provzdušněnou půdu. Plodí střídavě, pokud tedy jeden rok dává hodně ovoce, druhý rok ho dává méně (Green 2002).

Vývoj plodů olivovníku (oliv) je podobný jako u většiny plodů s peckou; začíná fází výskytu květních pupenů, následuje opylení, oplodnění, plodnost a dozrávání. Délka a charakter jednotlivých fází závisí do značné míry na podmínkách prostředí, ale za normálních podmínek začíná v dubnu a končí v listopadu změnou barvy plodů z chlorofylově zelené na hnědočervenou až černou (Khan et al. 2007).

Oliva je peckovice (plod) podobná ostatním plodům rostlinné říše (broskev, meruňka, třešeň, švestka atd.), jejímiž základními prvky jsou: epikarp neboli slupka, mezokarp neboli dužina a endokarp neboli jamka, dřevnatá skořápka, v níž se nachází semeno. Ačkoli se oliva morfoloogicky neliší od ostatních druhů ovoce, její chemické složení a organoleptické vlastnosti jsou velmi odlišné. Je známo, že olivový olej se používal k potravinářským účelům již od pravěku. Průhledná, nažloutlá a aromatická tekutina se z oliv získává lisováním a je jediným rostlinným tukem, který se získává z plodů (Quiles et al. 2006).

3.1.3 Charakteristika a typy olivového oleje

Olivový olej je získávaný z dužnaté části zralých plodů olivovníku evropského. Má různou barvu, od jasně žluté po zlatavou; některé odrůdy získané z nezralých plodů mají nazelenalý nádech. Téměř v každé zemi, kde se pěstují olivy, se vyrábí oleje různých vlastností a kvality, přičemž tyto rozdíly závisí na oblasti a zralosti plodů (Quiles et al. 2006).

Druhy a definice olivového oleje byly stanoveny v nařízení Komise (EU) č. 2019/1604 (2019), kterým se změnilo původní nařízení Komise EHS č. 2568/91 (1991) o charakteristikách olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a o příslušných metodách analýzy. Standardy pro hodnocení kvality olivových olejů jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2.

Tabulka 1: Jakostní charakteristiky olivového oleje dle nařízení (EU) 2019/1604

Kategorie	Kyselost (%) (*)	Peroxidové číslo (mEq O ₂ /kg)	Organoleptické hodnocení		Ethylestery mastných kyselin (mg/kg)
			Medián vad (Md)(*)	Medián znaku ovocná chuť a vůně (Mf)	
Extra panenský olivový olej	≤ 0,80	≤ 20,0	Md = 0,0	Mf > 0,0	≤ 35
Panenský olivový olej	≤ 2,0	≤ 20,0	Md ≤ 3,5	Mf > 0,0	—
Lampantový olivový olej	> 2,0	—	Md > 3,5	—	—
Rafinovaný olivový olej	≤ 0,30	≤ 5,0		—	—
Olivový olej složený z rafinovaného a panenského olivového oleje	≤ 1,00	≤ 15,0		—	—
Surový olivový olej z pokrutin	—	—		—	—
Rafinovaný olivový olej z pokrutin	≤ 0,30	≤ 5,0		—	—

(*) Medián vad může být nejvýše roven 3,5, je-li medián znaku ovocná chuť a vůně je roven 0,0

Tabulka 2: Složení mastných kyselin olivového oleje dle nařízení (EU) 2019/1604

Kategorie	Složení mastných kyselin (1)				
	Myristová (%)	Linolenová (%)	Arachidová (%)	Eikosanová (%)	Behenová (%)
Extra panenský olivový olej	≤ 0,03	≤ 1	≤ 0,06	≤ 0,5	≤ 0,2
Panenský olivový olej	≤ 0,03	≤ 1	≤ 0,06	≤ 0,5	≤ 0,2
Lampantový olivový olej	≤ 0,03	≤ 1	≤ 0,06	≤ 0,5	≤ 0,2
Rafinovaný olivový olej	≤ 0,03	≤ 1	≤ 0,06	≤ 0,5	≤ 0,2
Olivový olej složený z rafinovaného a panenského olivového oleje	≤ 0,03	≤ 1	≤ 0,06	≤ 0,5	≤ 0,2
Surový olivový olej z pokrutin	≤ 0,03	≤ 1	≤ 0,06	≤ 0,5	≤ 0,3
Rafinovaný olivový olej z pokrutin	≤ 0,03	≤ 1	≤ 0,06	≤ 0,5	≤ 0,3
Olivový olej z pokrutin	≤ 0,03	≤ 1	≤ 0,06	≤ 0,5	≤ 0,3

(1) Obsah ostatních mastných kyselin (%): palmitová: 7,50–20,00; palmitolejová: 0,30–3,50; heptadekanová: ≤ 0,40; heptadecenová ≤ 0,60; stearová: 0,50–5,00; olejová: 55,00–83,00; linolová: 2,50–21,00.

Panenský olivový olej

Panenské olivové oleje jsou získávány výhradně mechanickými nebo jinými fyzikálními postupy za podmínek, zejména tepelných, které nevedou ke změnám v oleji, a které neprošly žádnou jinou úpravou než promýváním, dekantací, odstředováním a filtrací. Panenské olivové oleje se řadí do těchto kategorií:

- *Extra panenský olivový olej*

Do této kategorie spadají oleje, jejichž kyselost (acidita) vyjádřená pomocí kyseliny olejové nepřesahuje 0,8 g na 100 g a jejichž ostatní charakteristiky jsou v souladu s požadavky stanovenými pro tuto kategorii.

- *Panenský olivový olej*

Do této kategorie spadají oleje, jejichž acidita vyjádřená pomocí kyseliny olejové nepřesahuje 2 g na 100 g a jejichž ostatní charakteristiky jsou v souladu s požadavky stanovenými pro tuto kategorii.

- *Lampantový panenský olivový olej*

Do této kategorie spadají oleje, jejichž acidita vyjádřená pomocí kyseliny olejové je větší než 2 g na 100 g a jejichž ostatní charakteristiky jsou v souladu s požadavky stanovenými pro tuto kategorii.

Rafinovaný olivový olej

Rafinovaný olivový olej je olivový olej získaný z panenského olivového oleje rafinačními metodami, které nevedou ke změnám původní glyceridové struktury. Jeho volná kyselost vyjádřená jako kyselina olejová nepřesahuje 0,3 gramu na 100 gramů a jeho ostatní vlastnosti odpovídají vlastnostem stanoveným pro tuto kategorii v normě stanovené Mezinárodní radou pro olivy (International Olive Council, IOC). Toto označení může být prodáváno přímo spotřebiteli, pouze pokud je to v zemi maloobchodního prodeje povoleno.

Olivový olej

Olivový olej je olej složený ze směsi rafinovaného olivového oleje a panenského olivového oleje, který je vhodný ke konzumaci v nezměněné podobě. Má volnou kyselost vyjádřenou jako kyselina olejová nejvýše 1 gram na 100 gramů a jeho ostatní vlastnosti odpovídají vlastnostem stanoveným pro tuto kategorii v normě IOC. Země maloobchodního prodeje může vyžadovat specifičtější označení (Quiles et al., 2006).

Olivový olej z pokrutin

Olej z olivových pokrutin je olej získaný zpracováním olivových výlisků rozpouštědly nebo jiným fyzikálním zpracováním, s výjimkou olejů získaných reesterifikací a jakýchkoli směsí s oleji jiných druhů. Uvádí se na trh v souladu s následujícími označeními a definicemi:

- *Surový olivový olej z pokrutin*

Surový olej z olivových výlisků je olej z olivových výlisků, jehož vlastnosti odpovídají vlastnostem stanoveným pro tuto kategorii v normě IOC. Je určen k rafinaci pro použití k lidské spotřebě nebo k technickému použití.

- *Rafinovaný olivový olej z pokrutin*

Rafinovaný olej z olivových výlisků je olej získaný ze surového oleje z olivových výlisků rafinačními metodami, které nevedou ke změnám původní glyceridové struktury. Jeho volná kyselost vyjádřená jako kyselina olejová nepřesahuje 0,3 gramu na 100 gramů a jeho ostatní vlastnosti odpovídají vlastnostem stanoveným pro tuto kategorii v normě IOC. Tento výrobek může být prodáván přímo spotřebiteli, pouze pokud je to v zemi maloobchodního prodeje povoleno.

- *Olivový olej z pokrutin*

Olivový olej z pokrutin, je tvořen směsí rafinovaného oleje z pokrutin a panenských olivových olejů vhodných ke konzumaci v nezměněném stavu. Má obsah volných kyselin nejvýše 1 gram na 100 gramů a jeho ostatní vlastnosti odpovídají vlastnostem stanoveným pro tuto kategorii v normě IOC. Země maloobchodního prodeje může vyžadovat specifitější označení (Quiles et al., 2006).

3.2 Chemické složení olivového oleje

Olivový olej je tvořen především triacylglyceroly (až 99 %), sekundárně volnými mastnými kyselinami, mono- a diacylglyceroly a řadou lipofilních látek, jako jsou uhlovodíky, steroly, alifatické alkoholy, tokoferoly a pigmenty. Mezi jeho vedlejší složky patří více než 230 chemických sloučenin, jako jsou alifatické a triterpenické alkoholy, steroly, uhlovodíky, těkavé sloučeniny a antioxidanty (Zaroual et al. 2021).

Složení olivového oleje můžeme také rozdělit na dvě frakce v závislosti chování za přítomnosti tepla a silných alkalických roztoků (koncentrované roztoky KOH nebo NaOH) na:

- zmýdelnitelnou frakci, která představuje 98-99 % celkové hmotnosti a je složena z látek, které za výše uvedených podmínek tvoří mýdla.
- nezmýdelnitelnou frakci, která představuje zbývající 1-2 % celkové hmotnosti, je složena z látek, které za výše uvedených podmínek mýdla netvoří (Inglese et al. 2011).

3.2.1 Hlavní složka

Tato frakce je také známá jako zmýdelnitelná frakce nebo glyceridová frakce. Tvoří přibližně 98-99 % hmotnosti oleje skládá se z nasycených mastných kyselin a nenasycených

mastných kyselin esterifikovaných téměř výhradně za vzniku triglyceridů (neboli triacylglycerolů). V mnohem menší míře se vyskytují také diglyceridy (neboli diacylglyceroly), monoglyceridy (monoacylglyceroly) a volné mastné kyseliny. Profil mastných kyselin typického olivového oleje v porovnání s jinými jedlými oleji je uveden v tabulce 3.

Tabulka 3: Profil mastných kyselin typického olivového oleje v porovnání s jinými jedlými oleji

Fatty acid	Palm oil	Butter	Margarine	Virgin olive oil	Canola oil	Sunflower oil	Corn oil	Soybean oil	Fish oil
14:0	1.5	6.77	–	–	–	–	–	0.1	11
16:0	45.1	11.94	7.83	8.7	5.4	6.35	12.6	10.6	26.7
16:1 <i>n</i> -7	–	1.64	0	1.1	0.3	0.2	0.2	0.1	13.6
18:0	4.8	10.44	5.81	1.9	1.6	4.5	1.9	3.8	4.1
18:1 <i>n</i> -9	36.8	30.7*	44.59**	78.7	56.3	32.1	24.1	23	12.6
18:2 <i>n</i> -6	10.2	19.67	30.5	8.3	25	55.92	60.1	52.4	1.7
18:3 <i>n</i> -3	0.5	1.82	3.29	0.9	8.4	0.1	1	8.9	–
20:5 <i>n</i> -3	–	–	–	0.03	–	0.03	–	–	13.8
22:6 <i>n</i> -3	–	–	–	0.05	–	0.12	–	–	6.8
Total saturated	51.9	45.9	18	10.9	8.2	12.9	14.6	15.6	41.8
Total monounsaturated	37	29	29.2	79.8	58.4	32.3	24.3	23.1	27.2
Total polyunsaturated	10.7	25.5	33.8	9.3	33.4	54.8	61.1	61.3	31

*Of which 2.84 are trans. ** Of which 15.64 are trans.

Nenasycené mastné kyseliny

Nenasycené mastné kyseliny tvoří 75 až 85 % všech mastných kyselin zastoupených v olivovém oleji. Nejvíce zastoupené jsou kyseliny olejová, palmitolejová a linolová. V menším/stopovém množství jsou přítomny heptadecenová, linolenová, cis-11-dokosenová, a další. Maximální přípustný obsah jednotlivých mastných kyselin je uveden v tabulce 4.

Kyselina olejová je hlavní mastnou kyselinou olivového oleje. Podle pravidel stanovených Mezinárodní radou pro olivový olej (IOC) se její koncentrace musí pohybovat od 55 % do 83 % celkových mastných kyselin. Kyselina linolová je nejrozšířenější polynenasycenou mastnou kyselinou v olivovém oleji; její koncentrace se musí pohybovat mezi 2,5 % a 21 % (IOC). Kyselina alfa-linolenová může být přítomna ve velmi nízkém množství, podle norem IOC ≤ 1 %. Jedná se o omega-3 polynenasycenou mastnou kyselinu, která může mít zdraví prospěšné účinky. Kvůli vysokému stupni nenasycení (vyššímu než u kyseliny linolové) je však velmi náchylná k oxidaci a způsobuje žluknutí oleje (Quiles et al. 2006).

Tabulka 4: Přípustný procentuální obsah mastných kyselin v panenském olivovém oleji dle IOC (Quiles et al. 2006)

Mastná kyselina	Počet uhlíků	Přípustný obsah %
kyselina myristová	C14:0	<0.03
kyselina palmitová	C16:0	7.5-20
kyselina palmitolejová	C16:1	0.3-3.5
kyselina heptadekanová	C17:0	≤0.3
Kyselina heptadecenová	C17:1	≤0.3
kyselina stearová	C18:0	0.5-5.0
kyselina olejová	C18:1	55.0-83.0
kyselina linolová	C18:2	2.5-21.0
kyselina alfa-linolenová	C18:3	≤1.0
kyselina arachidová	C20:0	≤0.6
kyselina behenová	C22:0	≤0.2
kyselina lignocerová	C24:0	≤0.2

Nasycené mastné kyseliny

Nasycené mastné kyseliny tvoří 15 až 25 % všech mastných kyselin. Nejhojněji zastoupenými nasycenými mastnými kyselinami jsou kyselina palmitová (7,5-20 %) a stearová (0,5-5 %); ve stopovém množství mohou být přítomny kyseliny myristová, heptadekanová, arachidová, behenová a lignocerová. Přítomnost mastných kyselin, které by neměly být přítomny nebo by měly být přítomny v jiném množství, než je povoleno, je známkou falšování jinými rostlinnými oleji. V tomto ohledu je zvláštní pozornost věnována kyselinám myristové, arachidové, behenové, lignocerové, gallové a alfa-linolenové, jejichž limity jsou stanoveny IOC (Alonso et al. 2006).

Složení mastných kyselin v oleji závisí na stupni odrůdě, zralosti oliv, podnebí, zeměpisné šířce nebo oblasti produkce. Italské, španělské a řecké olivové oleje mají vysoký obsah kyseliny olejové a nízký obsah kyseliny palmitové a linolové, zatímco tuniské olivové oleje mají vysoký obsah kyseliny palmitové a linolové, ale nižší obsah kyseliny olejové. Proto lze oleje rozdělit do dvou skupin:

- Vysoký obsah kyseliny olejové, nízký obsah kyseliny palmitové a linolové
- Vysoký obsah kyseliny palmitové a linolové, nízký obsah kyseliny olejové

Je třeba poznamenat, že kyselina olejová se v plodech tvoří jako první a údaje zřejmě naznačují konkurenční vztah mezi kyselinou olejovou a kyselinami palmitovou, palmitolejovou a linolovou (Riachy et al. 2019)

Triglyceridy

Jak již bylo řečeno, mastné kyseliny v olivovém oleji jsou téměř výhradně zastoupeny ve formě triglyceridů. V malém procentu jsou přítomny také jako diglyceridy, monoglyceridy a ve volné formě.

Během biosyntézy triglyceridů se díky přítomnosti specifických enzymů pouze asi 2 % glycerolu váže v poloze centrální pozici (sn-2) na kyselinu palmitovou (také podíl kyseliny stearové v poloze sn-2 je velmi nízký); z větší části je poloha sn-2 obsazena kyselinou olejovou. Naopak, pokud vezmeme v úvahu oleje, které prošly neenzymatickou esterifikací, procento kyseliny palmitové v poloze sn-2 se výrazně zvyšuje. Mezi triglyceridy, které jsou v olivovém oleji zastoupeny ve významném poměru, patří:

- Triolein (OOO): 40-59 %;
- Palmitoyl diolein (POO): 12-20 %;
- Oleoyl dilinolein (OOL): 12,5-20 %;
- Palmitoyl linoleoyl olein (POL): 5,5-7 %;
- Stearoyl diolein (SOO): 3-7 %.

POP (dipalmitoyl olein) a POS (palmitoyl stearoyl olein) jsou přítomny v menším množství. Trilinolein (LLL) je triglycerid, který obsahuje tři molekuly kyseliny linolové. Jeho nízký obsah je ukazatelem oleje dobré kvality. Triglyceridy obsahující tři nasycené mastné kyseliny nebo tři molekuly kyseliny alfa-linolenové nebyly zaznamenány (Almoselhy et al. 2019).

Diglyceridy a monoglyceridy

Jejich přítomnost je způsobena neúplnou syntézou nebo částečnou hydrolyzou triglyceridů. Obsah diglyceridů v panenském olivovém oleji se pohybuje od 1 % do 2,8 %. V čerstvém olivovém oleji převažují 1,2-diglyceridy, které tvoří více než 80 % diglyceridů. Během skladování oleje dochází k izomerizaci s postupným nárůstem stabilnějších izomerů 1,3, které se přibližně po 10 měsících stávají hlavními izomery. Proto lze poměr 1,2/1,3-diglyceridů použít jako ukazatel stáří oleje.

Monoglyceridy jsou přítomny v nižším množství než diglyceridy, <0,25 %, přičemž 1-monoglyceridy jsou mnohem hojnější než 2-monoglyceridy (Stone 2011).

3.2.2 Vedlejší složka

Neboli nezmýdelnitelná frakce se sládá z velkého množství různých molekul, které jsou důležité z nutričního hlediska, jelikož se významně podílejí na pozitivních zdravotních účincích olivového oleje. Kromě toho jsou zodpovědné za stabilitu a chuť olivového oleje a používají se také k odhalování falšování jinými rostlinnými oleji.

Tato frakce zahrnuje tokoferoly, steroly, polyfenoly, pigmenty, uhlovodíky, aromatické a alifatické alkoholy, triterpenové kyseliny, vosky a méně významné složky. Jejich obsah je ovlivňován podobnými faktory jako u složení mastných kyselin (Gunstone 2011).

Polyfenoly

Tvoří 18 až 37 % nezmýdelnitelné frakce. Jedná se o velmi různorodou skupinou molekul s významnými nutričními a organoleptickými vlastnostmi (například oleuropein a hydroxytyrosol dodávají oleji hořkou a štiplavou chuť) (Gutfinger 1981).

Uhlovodíky

Tvoří 30 až 50 % nezmýdelnitelné frakce a jejich hlavními molekulami jsou skvalen a beta-karoten. Skvalen, poprvé izolovaný ze žraločích jater, tvoří více než 90 % uhlovodíků. Jeho koncentrace se pohybuje od 200 do 7500 mg/kg olivového oleje. Je meziproduktem biosyntézy čtyřkruhové struktury steroidů a je zodpovědný za několik pozitivních zdravotních účinků olivového oleje.

V uhlovodíkové frakci panenského olivového oleje se nacházejí n-parafiny, diterpenové a triterpenové uhlovodíky a isoprenoidní polyolefiny. Beta-karoten působí jako antioxidant, který chrání olej během skladování a také jako barvivo (Caponio et al. 2005)

Steroly

Steroly jsou tetacyklické sloučeniny biosyntetizované ze skvalenu a jsou spojovány s mnoha zdravotními přínosy olivového oleje. Zároveň jsou důležité pro kvalitu oleje a jsou proto široce využívány pro kontrolu jeho pravosti. V této souvislosti je třeba zdůraznit, že steroly jsou druhově specifické molekuly; například přítomnost vysokých koncentrací brassicasterolu, typického pro čeleď brukvovitých (*Cruciferae*), ukazuje na falšování olivového oleje řepkovým olejem.

V olivovém oleji jsou přítomny čtyři třídy sterolů: běžné steroly, 4-methylsteroly, triterpenové alkoholy a triterpenové dialkoholy. Jejich obsah se pohybuje od 1 000 mg/kg, což je minimální hodnota požadovaná normou IOC, do 2 000 mg/kg. Nejnižší hodnoty se nacházejí v rafinovaných olejích, jelikož rafinaci dochází ke ztrátám až 25 %. Množství sterolů v určitém oleji lze použít k identifikaci nejen jeho původu, ale také čistoty. Snížený obsah sterolů během skladování oleje bývá spojen se zvyšováním peroxidové hodnoty.

Steroly se v olivovém oleji vyskytují především ve volné a esterifikované formě, byly však nalezeny také jako lipoproteiny a stearylglukosidy. Hlavními molekulami je beta-sitosterol, který tvoří 75 až 90 % celkového obsahu sterolů, Δ^5 -avenasterol, 5 až 20 %, a kampesterol, 4 %. Dalšími složkami, které se vyskytují v menším nebo stopovém množství jsou např. stigmasterol, 2 %, cholesterol, brassicasterol a ergosterol. V olivovém oleji můžeme nalézt také 4-methylsteroly nebo 4,4-dimethylsteroly.

4-methylsteroly jsou meziprodukty v biosyntéze sterolů a vyskytují se jak ve volné, tak v esterifikované formě. Jsou přítomny v malých množstvích, mnohem nižších než u běžných sterolů a triterpenových alkoholů, která se pohybují mezi 50 a 360 mg/kg. Hlavními molekulami jsou obtusifoliol, cykloekalenol, citrostadienol a gramisterol.

Triterpenové alkoholy nebo 4,4-dimethylsteroly patří do komplexní třídy sterolů, které se vyskytují jak ve volné, tak v esterifikované formě. Vyskytují se v množstvích od 350 do 1500 mg/kg. Hlavními složkami jsou beta-amyrin, 24-methylenecykloartanol, cykloartenol a

butyrospermol; dalšími molekulami přítomnými v nižších/stopových množstvích jsou např. cyklosadol, cyklobranol, germanikol a dammaradienol (Lukić et al. 2013).

Tokoferoly

Tvoří 2 až 3 % nezmýdelnitelné frakce a jsou složkami vitamínu E. Z osmi tokoferolů vitamínu E představuje alfa-tokoferol přibližně 90 % tokoferolů v panenském olivovém oleji. Je přítomen ve volné formě a ve velmi proměnlivém množství, v průměru však vyšším než 100 mg/kg olivového oleje. Díky svým antioxidačním vlastnostem *in vivo* je jeho přítomnost pozitivním faktorem pro zdraví. Koncentrace alfa-tokoferolu zřejmě souvisí s vysokým obsahem chlorofylů a se současným požadavkem na deaktivaci singletového kyslíku. Beta-tokoferol, delta-tokoferol a gama-tokoferol jsou obvykle přítomny v nízkém množství (Baldioli et al. 1996).

Pigmenty

V této skupině najdeme chlorofyly a karotenoidy. Chlorofyly A a B a jejich oxidační produkty, feofytiny A a B, jsou přirozeně přítomny v olivovém oleji a jsou zodpovědné za zelenkavou barvu olejů. Jedná se o molekuly fotosenzibilizátorů, které přispívají k fotooxidaci samotného olivového oleje. Množství chlorofylů v olivovém oleji závisí na řadě faktorů, jako je odrůda, stupeň zralosti oliv, způsob extrakce oleje a další biologické a technické faktory. V panenském olivovém oleji je průměrný obsah chlorofylu přibližně 1 až 10 mg/kg a obsah feofytinů přibližně 0,2 až 24 mg/kg.

Hlavními karotenoidy v olivovém oleji jsou beta-karoten a lutein. Přítomno je také několik xantofilů, jako je antheraxanthin, beta-kryptoxanthin, luteoxanthin, mutatoxanthin, neoxanthin a violaxanthin (Giuffrida et al. 2007).

Triterpenové kyseliny

Jsou důležitými složkami oliv a v olivovém oleji jsou přítomny ve stopovém množství. Kyseliny oleanolová a maslinová jsou hlavními triterpenovými kyselinami v panenském olivovém oleji, kde jsou přítomny v olivové slupce, ze které se při zpracování v malém množství extrahují.

Alifatické a aromatické alkoholy

Pro složení olivového oleje jsou nejdůležitější mastné alkoholy a diterpenové alkoholy. Alifatické alkoholy mají počet atomů uhlíku mezi 20 a 30 a nacházejí se převážně uvnitř olivových pecek, odkud se částečně extrahují mletím (Quiles et al. 2006)

Mastné alkoholy

Jsou lineární nasycené alkoholy s více než 16 atomy uhlíku. Vyskytují se ve volné a esterifikované formě a v panenském olivovém oleji jsou přítomny v množství, které obvykle

nepřesahuje 250 mg/kg. Docosanol (C22), tetrakosanol (C24), hexakosanol (C26) a oktakosanol (C28) jsou hlavní mastné alkoholy v olivovém oleji, přičemž tetrakosanol a hexakosanol jsou přítomny ve větším množství.

Vosky, které jsou méně významnou složkou olivového oleje, jsou estery mastných alkoholů s mastnými kyselinami, především s kyselinou palmitovou a olejovou. Mohou být použity jako kritérium pro rozlišení různých druhů olejů; například podle norem IOC musí být přítomny v panenském a extra panenském olivovém oleji v množství <150 mg/kg (Boskou et al. 2006).

Diterpenové alkoholy

Geranylgeraniol a fytol jsou dva acyklické diterpenové alkoholy, přítomné ve volné a esterifikované formě v olivovém oleji. Mezi estery přítomnými ve voskové frakci extra panenského olivového oleje bývají také látky jako oleát, eikosenoát, eikosanoát, dokosanoát a tetrakosanoát, především jako fytylderiváty (Boskou et al. 2006)

Těkavé sloučeniny

V olivovém oleji bylo identifikováno více než 280 těkavých sloučenin, jako jsou uhlovodíky, nejrozšířenější frakce, alkoholy, aldehydy, ketony, estery, kyseliny, étery a mnoho dalších. Pouze asi 70 z nich je však přítomno v množství vyšším než prahovém vnímání, za kterým mohou přispívat k aroma panenského olivového oleje (Servili & Montedoro 2002).

3.3 Technologie výroby a zpracování olivových olejů

Výroba olivového oleje začíná již po sklizni. Příjem plodů je jedním z nejdůležitějších kroků v procesu získávání oleje, jelikož plody je třeba charakterizovat do kategorií a poté určit další postup. Každý plod tak musí být vizuálně zhodnocen a roztríděn. Plody jsou poté důkladně omyty a zbaveny nečistot, větviček a listů prouděním vzduchu (Uceda et al. 2006). Plody posbírané ze země jsou přesunuty do praček oliv, které je proudem vody zbaví zbylých nečistot, zeminy a prachu. Odborníci se obecně shodují, že plody sbírané přímo ze stromu by se neměly omývat, jelikož se tím snižuje jejich extrahovatelnost v důsledku zvýšení vlhkosti plodů, nižší oxidační stability a snížení obsahu fenolu (Hermoso et al. 1991).

Po umytí a očištění se olivy skladují až do jejich mletí ve skladovacích zásobnících. Jejich skladovací kapacita by měla být vypočítána tak, aby bylo možné regulovat vstup plodů do lisovny oleje. Během delšího skladování plody vykazují změny způsobené spontánní hydrolyzou, enzymatickou aktivitou nebo rozvojem mikroorganismů (plísni nebo kvasinek), které snižují kvalitu oleje z chemického a sensorického hlediska. Tyto změny jsou tím větší, čím delší je doba skladování. Ke snížení negativních účinků se používají techniky při nízkých teplotách, ale vysoké náklady omezují jejich průmyslové využití (Kiritsakis et al. 1998).

Přípravu olivové pasty lze rozdělit do dvou fází: mletí plodů a hnětení pasty. Hlavním cílem mletí plodů je rozbití rostlinných tkání, čímž se uvolní kapky oleje obsažené v mezokarpových buňkách. V systému lisování se obvykle používají kamenné mlýny, jejichž válcové nebo zkrácené kuželovité kameny se otáčejí na žulovém podstavci. Přestože tento systém vykazuje některé výhody, jako je "trhací efekt", prevence tvorby emulzí a kontaminace kovy, v současné době se nepoužívají z důvodu jejich velkých rozměrů a malé kapacity.

Místo toho se využívají kovové mlýny, zejména kladivové, vybavené jednoduchým nebo dvojitým sítem. Kotoučové mlýny se používají ve finální fázi drcení ovoce. Tento krok je potřeba pro zabránění vzniku emulzí, které vznikají v důsledku neoptimální úrovně mletí. Mletí by mělo být přizpůsobeno vlastnostem plodů, přičemž u nezralých oliv nebo u odrůd s tvrdou konzistencí dužiny je třeba použít menší síta, zatímco u zralých plodů může být stupeň mletí vyšší (Boskou 2006).

Následnou malaxací olivové pasty vzniká souvislá olejová fáze, kterou lze později mechanicky oddělit. Hnětení olivové pasty lze zlepšit zahřátím, které pomáhá snižovat viskozitu oleje a napomáhá tak seskupování olejových kapek za stálého zvyšování enzymové aktivity. Tato operace se provádí v termošlehači tvořeném jednou nebo více malaksačními nádobami, kde šikmé lopatky nebo spirálovité šneky míchají pastu a působí na ni střížným efektem. V závislosti na umístění osy otáčení lze termošlehače rozdělit na horizontální a vertikální, ale z technických a ekonomických důvodů se častěji používají horizontální míchače (Clodoveo 2012).

Selektivní filtrací, která založena na principu rozdílu povrchového napětí mezi kapalnými fázemi olivové pasty a deskou z nerezové oceli, dochází k oddělování volných olejových kapének od zbytku olivové pasty. Na začátku filtrace je množství oleje vysoké a odpadní voda se extrahuje v malém procentu, avšak s pokračující extrakcí se zvyšuje obsah odpadní vody a rozpuštěných pevných látek a množství extrahovaného oleje je nižší. Z tohoto důvodu by doba setrvání olivové pasty v extraktoru měla být kratší než 30 minut. Za těchto podmínek lze extrahovat 20-50 % oleje obsaženého v olivové pastě, přičemž množství odpadní vody se mění v závislosti na hustotě pasty. Hlavními produkty selektivní filtrace jsou panenské olivy vysoké kvality s ohledem na senzorké a chemické ukazatele (Vossen 2009).

Následný proces odstředování je založen na rozdílných hodnotách jednotlivých složek olivové pasty, kdy pevné části putují vně odstředivky, zatímco olej a voda se shlukují uvnitř. Vzniklý olej má v sobě stále zbytky některých pevných částic (pokrutin), které je nutné odstranit průchodem přes síto. Pokrutiny mohou být použity na výrobu olejů z pokrutin, které vznikají za vysokých teplot a pomocí chemických činidel.

Voda a olej jsou od sebe odděleny v dekantovacích tancích, kde voda s minerály klesá ke dnu nádrže a je později vypuštěna vespod umístěným odtokem. Posledním krokem v řetězci kvality je skladování oleje, za které je zodpovědný výrobce. Hotový olej se skladuje v nerezových tancích bez přístupu vzduchu při teplotách 15-18 °C (Uceda et al. 2006).

3.4 Metody ověřování kvality olivových olejů

Extra panenský olivový olej (Extra virgin olive oil, EVOO) je považován za tekuté zlato. Je ceněn pro svou jedinečnou vůni, chuť a zdraví prospěšné látky. Vzhledem k jeho vysoké poptávce a ceně je často ředěn levnými nekvalitními oleji, což může vést k bezpečnostním a

zdravotním problémům spotřebitelů. Proto jsou rychlé, přesné, precizní a moderní analytické metody nezbytným předpokladem pro odhalení falšování EVOO.

Regulací a dohledem nad kvalitou olivových olejů se zabývá Komise Evropské unie, Mezinárodní rada pro olivy a Kodexový výbor pro tuky a oleje (Codex Committee on Fats and Oils). Tyto organizace stanovily podobné, i když ne totožné přípustné limity pro kvalitativní parametry olivových olejů. Rovněž popsaly oficiální metody kontroly kvality EVOO. Některé doporučené metody jsou však pracné, komplikované, používají drahé a toxické chemikálie a vyžadují také přípravu vzorku před analýzou (Carrapiso et al.2020).

Pro identifikaci a kvantifikaci příměsí v EVOO byly popsány dvě odlišné metodiky. První byla zaměřena na specifické chemické markerové sloučeniny, jako je kvantifikace tokotrienolů, polárních složek, triacylglycerolů a sumy kampesterolu a stigmasterolu (Valenčič et al.2020; Damiani et al.2020; Zaroual et al.2021). Tyto metody vyžadují použití plynové a kapalinové chromatografie a jejich nevýhodami je časová náročnost, složitá příprava vzorků a používání toxických chemikálií.

Druhá metodika je zaměřena na využití instrumentálních metod, které umožňují komplexní a vícerozměrné zobrazení chemického složení zkoumaných vzorků pomocí Ramanovy spektroskopie (Mendes et al 2015; Yang & Irudayaraj 2001), infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) (Lerma-García et al. 2010), střední infračervené spektroskopie (MIR) (Mendes et al. 2015; Yang & Irudayaraj, 2001), spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIR) (Mendes et al. 2015; Yang & Irudayaraj, 2001) a nukleární magnetická rezonance (NMR) (Mavromoustakos et al. 2000).

K ověřování pravosti olejů se také využívají chemometrické nástroje pro účinné vyhodnocení velkého množství dat získaných použitím analytických technik, jako jsou různé spektroskopické techniky, chromatografické techniky, elektronický nos a jazyk. Mezi těmito chemometrickými nástroji je široce využívána PCA (Principal Component Analysis) pro přesné rozlišení falšovaného a čistého vzorku a regrese PLS (Partial Least Square regression) pro kvantifikaci příměsí (Maggio et al.2009)

Tradiční chromatografické metody detekují falšování olivového oleje na základě markerových sloučenin, jako jsou triacylglyceroly, mastné kyseliny, steroly, metylestery mastných kyselin atd. Tyto metody jsou však časově náročné a vyžadují složitou přípravu vzorků pro extrakci markerových složek ze vzorků oleje. Mají také nepříznivé účinky na životní prostředí v důsledku používání škodlivých chemických látek. Odborníci se proto neustále zaměřují na vývoj rychlých, přesných a k životnímu prostředí šetrných technik pro detekci a kvantifikaci falšování EVOO. Vibrační spektroskopické techniky (NIR, FTIR a Ramanova spektroskopie) sice překonávají nevýhody chromatografických technik, generují ale obrovské množství dat, k čemuž je poté potřeba použít chemometrické nástroje, což je mnohdy zdlouhavé (Mendes et al.2015).

K detekci falšování olejů bývá také používána DSC (Differential Scanning Calorimetry). Jedná se o kvalitativní metodu, které sice zvládně detekovat příměsy v olivovém oleji, nezávadně ale správně stanovit jejich hladinu a je tedy neúčinná pro kvantifikaci obsahu cizorodých látek (Van Wetten et al. 2015). Dobře se osvědčily i další metody založené na elektronickém jazyku, slabé chemiluminiscenci, analýze DNA a digitálním zobrazování.

Jak už bylo výše zmíněno, oficiální metody ověřování pravosti olivových olejů mají velké množství nevýhod a navíc jsou málo citlivé ve srovnání s nedávno popsanou metodou založenou na spektroskopii a analýze DNA (Vietina et al. 2013). Podle Meena et al. by tyto metodiky měly být postupně modernizovány a nahrazovány nejnovějšími metodami. V současné chvíli ovšem ideální analytická metodika pro detekci i nepatrných příměsí není zcela proveditelná.

4 Materiál a metody

4.1 Vzorky použitých olejů

Vzorky použitých olejů byly nakoupeny v běžných a dostupných řetězcích a to v Lidlu, Albertu, Penny, Kauflandu a Bille. Jednalo se o 16 vzorků extra panenského olivového oleje a 2 vzorky oleje složeného ze směsi panenských a rafinovaných olivových olejů. V celkovém počtu 20 vzorků bylo následně stanoveno číslo kyselosti titrací rozpuštěného tuku roztokem hydroxidu draselného na fenoftalein, peroxidové číslo podle normy ČSN EN ISO 3960 (588765) a také profil mastných kyselin po jejich převedení na methylestery metodou plynové chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem.

Vzorky byly skladovány na katedře chemie fakulty FAPPZ při teplotě cca 20 °C v uzavřeném temném prostoru. Přehled analyzovaných vzorků je uveden v tabulce 5.

Obrázek 1: Vzorky použitých olivových olejů (vlastní foto)



Tabulka 5: Přehled analyzovaných vzorků

Číslo oleje	Značka	Původ oleje	Typ oleje	Objem lahve (ml)
1	Monini	Itálie	extra panenský olivový	500
2	Monumental	Španělsko	extra panenský olivový	500
3	Ondoliva	Španělsko	extra panenský olivový	500
4	Karpéa	Řecko	extra panenský olivový	500
5	Franz Josef	Řecko	extra panenský olivový	500
6	Franz Josef	Kréta	extra panenský olivový	500
7	Franz Josef	Španělsko	extra panenský olivový	500
8	Costa d'Oro	Itálie	extra panenský olivový	500
9	Antico Frantoio	Sicílie	extra panenský olivový	500
10	Tesco	Itálie	extra panenský olivový	500
11	Tesco	Řecko	extra panenský olivový	500
12	Tesco	Španělsko	extra panenský olivový	500
13	Albert	Španělsko	extra panenský olivový	500
14	Kreolis	Řecko	extra panenský olivový	500
15	Ballester	Směs olejů EU	extra panenský olivový	500
16	Filippo Berio	Směs olejů EU	extra panenský olivový	500
17	Primadonna	Směs olejů EU	rafinovaný + panenský olivový olej	500
18	Primadonna (ke smažení)	Směs olejů EU	rafinovaný + panenský olivový olej	500

4.1.1 Stanovení profilu mastných kyselin

Pro přípravu methylesterů a následné stanovení profilu mastných kyselin byla použita metodika podle Lachmana et al.(2015).

Příprava methylesterů mastných kyselin

Na dno silnostěnné odstředivací zkumavky bylo automatickou pipetou napipetováno 40 μ l oleje. Poté bylo do vzorku přidáno 0,5 ml methanolu p.a. a 0,5 ml roztoku methanolátu

sodného (Sigma-Aldrich, USA). Zkumavka byla pevně zazátkována a protřepána. Poté byla pomocí svorky umístěna do vodní lázně o teplotě 80°C a ponechána cca 4 minuty temperovat. Po uplynutí 1. minuty byla zkumavka vyjmuta, zkontrolována, protřepána a umístěna zpět do lázně. Po dobu dalších 3. minut, kdy byl obsah zkumavky občas promíchán pohybem stojanu nebo svorek, byla zkumavka vyjmuta a pohledem zkontrolován proces reakce. Pokud byl roztok čirý a bez viditelných kapének oleje, byla zkumavka zchlazena pod proudem tekoucí vody. V opačném případě byla zkumavka vložena zpět do vodní lázně přibližně na 10-30 vteřin a poté zchlazena.

Následně bylo do zkumavky přidáno 1,5 ml hexanu p.a. a celý obsah zkumavky důkladně protřepán. Poté bylo do zkumavky přidáno 5 ml nasyceného roztoku NaCl a celý obsah byl opět intenzivně protřepán. Následně byla pro separaci organické fáze využita centrifuga (Hettich EBA 20mZentrifugen, Hettich GmbH & Co. KG, Německo) kde byl vzorek po dobu 5 minut při 5000 otáčkách za minutu odstředován.

Automatickou pipetou bylo poté z vrchní vrstvy organické fáze odebráno 2 x 400 µl a převedeno do předem připravené a nedeptané vialky o objemu 2 x 400 µl. Ta byla poté uložena v lednici a prošla analýzou GC ještě tentýž den, nebo den následující. Měření a analýza vzorků byla prováděna ve dvou paralelních stanoveních.

Stanovení profilu metylesterů mastných kyselin pomocí GC/FID

K analýze připravených methylesterů byl použit plynový chromatograf (Shimadzu Nexis GC-2030, Shimadzu Corporation, Japonsko) s autosamplerem (Shimadzu AOC-20i Plus, Shimadzu Corporation, Japonsko), kapilární křemennou kolonou (SP-2560) a plamenoionizačním detektorem (FID). Parametry přístroje a podmínky GC analýzy jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6: Parametry přístroje a podmínky GC analýzy (Weber 2021)

Parametry přístroje	
Chromatograf	Shimadzu Nexis GC-2030, Shimadzu Corporation, Japonsko
Autosampler	Shimadzu AOC-20i Plus, Shimadzu Corporation, Japonsko
Analytická kolona	SP-2560, 100 m x 0,25 mm ID (vnitřní průměr), tloušťka filmu 0,2 μm
Podmínky GC analýzy	
Teplotní program	140 °C (5 min), nárůst 4 °C.min ⁻¹ , 245 °C (20 min)
Nosný plyn	Dusík (čistota 4.8), vstupní tlak 350 kPa, průtok 1,74 ml.min ⁻¹ při 280 °C
Nástřiková komora	Teplota 280 °C, splitovací poměr 50 : 1
Detektor	Teplota 280 °C, průtoky plynů: vzduch stlačený 200 ml.min ⁻¹ ; vodík (čistota 6.0) 32 ml.min ⁻¹ ; make up = dusík (čistota 4.8) 24 ml.min ⁻¹
Software	LabSolutions, Shimadzu Corporation, Japonsko

Identifikace jednotlivých methylesterů byla založena na porovnání retenčních časů analyzovaných sloučenin s retenčními časy standardů. Jako standard byl použit certifikovaný referenční materiál 37 standardů metylesterů mastných kyselin - Supelco 37 Component FAME Mix (Sigma-Aldrich, USA). Vyhodnocení kvantitativní analýzy bylo provedeno metodou vnitřní normalizace pomocí chromatografického softwaru LabSolutions (Shimadzu Corporation, Japonsko). Plochy všech detekovaných píků byly sečteny s vyloučením rozpouštědla (které bylo rovno 100 %) a poté byl na základě plochy každého píku vypočten procentuální podíl jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích.

Použitá laboratorní laboratorní zařízení, pomůcky a chemikálie

Chemikálie:

- Methanol p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)
- Methanolát sodný 0,5 N (Sigma-Aldrich, USA)
- Hexan p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)
- Nasycený roztok NaCl p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)
- Certifikovaný referenční materiál Supelco 37 Component FAME Mix (SigmaAldrich, USA)

Laboratorní pomůcky a přístroje:

- Silnostěnné zkumavky
- Stojan na zkumavky
- Laboratorní stojan se svorkou

- Automatická pipeta (10–100 µl, 100–1000 µl, 0,5–5 ml)
- Špičky do automatických pipet
- Vodní lázeň (Lauda Dr. R. Wobser GmbH & Co. KG, Německo)
- Šroubovací vialky (2 ml)
- GC-FID Shimadzu Nexis GC-2030 s autosamplerem, FID a kapilární kolonou SP2560 (Shimadzu Corporation, Japonsko)
- Centrifuga Hettich EBA 20 Zentrifugen (Hettich GmbH & Co. KG, Německo)

4.1.2 Stanovení čísla kyselosti

Pro stanovení čísla kyselosti byla použita metoda podle normy ČSN EN ISO 660 (58 8756) : 2021 Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení čísla kyselosti a kyselosti.

Příprava a standardizace odměrného roztoku KOH

Pro přípravu odměrného roztoku bylo naváženo 3g pevného KOH p.a. a kvantitativně převedeno do 500 ml odměrné baňky. Obsah baňky byl poté rozpuštěn po rysku doplněným 96% ethanolem. Následně byla stanovena přesná látková koncentrace výsledného roztoku. Poté bylo naváženo přesně 0,126 g kyseliny šťavelové ($C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$) a navážka byla kvantitativně převedena do titrační baňky a rozpuštěna v malém množství destilované vody.

Do titrační baňky byly potom přidány 3 kapky fenolftaleinu a celý obsah byl ihned titrován až do růžového zbarvení, které vydrželo minimálně 20 sekund. Spotřeba KOH byla odečtena a zaznamenána. Souběžně s prvním vzorkem byl stanoven i slepý pokus. Měření vzorků probíhalo ve dvou paralelních opakování.

K vypočítání přesné látkové koncentrace odměrného roztoku KOH byl použit vztah:

$$c_{KOH} = (2 \times m_{\xi}) / M_{\xi} \times V_{KOH}$$

m_{ξ} ... navážka dihydrátu kys. šťavelové $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$ [g]

M_{ξ} ... molární hmotnost dihydrátu kys. šťavelové $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$ [$g \cdot mol^{-1}$]

V_{KOH} ... spotřeba roztoku KOH [l]

Stanovení čísla kyselosti

Pro stanovení čísla kyselosti bylo do titační baňky naváženo 3 g tuku a následně bylo do baňky přidáno ještě 50 ml směsi etanol benzen v poměru 1:2. Promícháním obsahu baňky došlo k rozpuštění tuku a poté bylo do baňky přidáno 7 kapek fenolftaleinu a obsah ihned titrován to růžového nebo fialového zbarvení, které vydrželo po dobu minimálně 10 vteřin. Spotřeba byla odečtena z byreta a zaznamenána. Stanovování probíhalo ve dvou paralelních opakování.

Číslo kyselosti v mg KOH v 1 g tuku bylo vyjádřeno ze vztahu:

$$\text{Číslo kyselosti} = 56,1 \times a \times c / m$$

a ... spotřeba KOH [ml]

c ... titr KOH (přesná koncentrace roztoku KOH) [g.mol⁻¹]
m ... navážka tuku [g]
56,1 ... molekulová hmotnost KOH

Procentuální obsah FFA bylo vyjádřeno ze vztahu:

% FFA = 28,2 a x c / m

a ... spotřeba KOH [ml]

c ... titr KOH (přesná koncentrace roztoku KOH) [g.mol⁻¹]

m ... navážka tuku [g]

28,2 ... molekulová hmotnost olejové mastné kyseliny

Použité chemikálie, laboratorní zařízení a pomůcky

Chemikálie:

- Destilovaná voda
- Ethanol 96%
- Benzen p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)
- 1% roztok fenolftaleinu (Lach-Ner, s.r.o., ČR)
- Hydroxid draselný p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)
- Dihydrát kyseliny šťavelové p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)

Laboratorní pomůcky:

- Laboratorní analytické váhy (Kern&Sohn, Německo)
- Byreta o objemu 50 ml
- Titrační baňky o objemu 250 ml
- Pipeta skleněná dělená (50 ml) s balonkem
- Kádinka 250 ml
- Vodní lázeň GFL 1031 (Lauda Dr. R. Wobser GmbH & Co. KG, Německo)
- Odměrná baňka o objemu 1000 ml

4.1.3 Stanovení peroxidového čísla

Pro stanovení peroxidového čísla byla použita metodika vycházející z ČSN EN ISO 3960 (588765):2017 Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení peroxidového čísla - Jodometrické (vizuální) stanovení koncového bodu.

Příprava a standardizace odměrného roztoku

Pro přípravu odměrného roztoku o koncentraci 0,01 mol/l bylo naváženo 1,241 g thiosíranu sodného, kvantitativně převedeno do odměrné baňky a doplněno po rysku destilovanou vodou.

Stanovení peroxidového čísla

Do titrační baňky bylo s přesností na 0,001 g naváženo přibližně 3g tuku s ohledem na očekávaná peroxidová čísla dle tabulky 7.

Tabulka 7: Očekávaná peroxidová čísla

Očekávané peroxidové číslo (meq O ₂ /kg)	Hmotnost zkušební vzorku (g)
0 až 12	5,0 až 2,0
12 až 20	2,0 až 1,2
20 až 30	1,2 až 0,8
30 až 50	0,8 až 0,5
50 až 90	0,5 až 0,3

Poté bylo do titrační baňky přidáno 10 ml chloroformu a vzorek byl rychle rozpustěn zamícháním. Dále bylo přidáno 15 ml kyseliny octové a 1 ml jodidu draselného. Baňka byla poté ihned uzavřena a po dobu 1 minuty intenzivně protřepávána. Poté byla ponechána stát přesně 5 minut v temnu a teplotě přibližně 20 °C.

Následně bylo do baňky přidáno 75 ml destilované vody a 0,5 ml škrobového roztoku (10g/l), jako indikátoru. Obsah baňky byl poté titrován roztokem thiosíranu sodného do úplného odbarvení. Spolu se stanovením peroxidového čísla byl prováděn i slepý pokus. Stanovování probíhalo ve dvou paralelních opakováních.

Peroxidové číslo (PV) vyjádřené v miliekvivalentech aktivního kyslíku na kg bylo vypočítáno podle vzorce:

$$PV = \frac{V \times T \times 1000}{m}$$

V = objem roztoku thiosíranu sodného použitého pro stanovení [ml]

T = přesná molarita odměrného roztoku

m = hmotnost zkušební vzorku [g]

Za výsledek se považuje aritmetický průměr dvou stanovení.

Použité chemikálie, laboratorní zařízení a pomůcky

Chemikálie:

- Destilovaná voda
- Chloroform p.a. (zbavený kyslíku probubláváním proudem suchého inertního plynu)
- Ledová kyselina octová p.a. (zbavená kyslíku probubláváním proudem suchého inertního plynu)
- Jodid draselný p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)
- Thiosíran sodný p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)
- Škrob rozpustný p.a. (Lach-Ner, s.r.o., ČR)

Laboratorní pomůcky:

- Laboratorní analytické váhy (Kern&Sohn, Německo)
- Byreta o objemu 50 ml
- Titrační baňky o objemu 250 ml, předem vysušené a naplněné inertním plynem
- Automatická pipeta (10–100 μ l, 100–1000 μ l, 0,5–5 ml)
- Špičky do automatických pipet
- Kádinka 250 ml
- Odměrná baňka o objemu 1000ml

4.1.4 Zpracování dat

Získané hodnoty byly graficky a statisticky zpracovány v programu Microsoft[®] Excel (Microsoft Corporation, USA).

5 Výsledky

5.1 Profil mastných kyselin

Hodnoty zastoupení jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích byly po převedení na methylestery stanoveny pomocí plynové chromatografie. U všech vzorků bylo vybráno 14 kyselin, které z hlediska procentuálního zastoupení vykazovaly nejvyšší hodnoty a zároveň byly relevantní pro danou třídu olivového oleje.

Jednalo se o kyselinu olejovou (C18:1), palmitovou (C16:0), linolovou (C18:2), stearovou (C18:0), palmitolejovou (C16:1), linolenovou (C18:3), cis-11-dokosenovou (C22:1), arachidovou (C20:0), isomer kys. olejové (C18:1), cis-11-ikosenovou (C20:1), behenovou (C22:0), lignocerovou (C24:0), cis-10-heptadecenovou (17:1), heptadekanovou (C17:0) a cis-11,14,17-ikosatrienovou (C20:3). V tabulce 8 je uvedeno procentuální zastoupení 14 nejdůležitějších mastných kyselin v analyzovaných vzorcích. Vzorky jsou v tabulce uvedeny v pořadí podle průměrné velikosti zastoupení.

Methylestery kyseliny olejové (C18:1) se nacházely v každém vzorku v největším množství v zastoupení od $(69,32 \pm 0,00) \%$ do $(78,54 \pm 0,00) \%$. Průměrný obsah methylesterů kyseliny olejové ve vzorcích byl $(73,27 \pm 2,59) \%$, přičemž nejvyšší obsah byl naměřen ve vzorku č. 10 a nejnižší ve vzorku č. 18. Obsah methylesteru kyseliny palmitové (C16:0) se v analyzovaných vzorcích pohyboval od $(10,49 \pm 0,00) \%$ do $(12,63 \pm 0,00) \%$. Jejich průměrný obsah ve vzorcích byl $(11,71 \pm 0,90)$. Nejvyšší hodnota byla naměřena u vzorku č.5, nejnižší u vzorku č.13. Methylestery kyseliny linolové byly nejvíce zastoupeny ve vzorku č.17 $(10,58 \pm 0,70) \%$, nejméně pak ve vzorku č.13 $(5,40 \pm 0,00) \%$. Methylestery kyseliny stearové měly největší zastoupení ve vzorku č.9 $(3,12 \pm 0,00) \%$ a naopak nejmenší ve vzorku č.16 $(2,52 \pm 0,01) \%$. Methylestery kyseliny palmitolejové byly nejvíce zastoupeny ve vzorku č.11 $(2,89 \pm 0,01) \%$ a nejméně ve vzorku č.13 $(0,82 \pm 0,00) \%$. Průměrný obsah ve vzorcích pak činil $(0,87 \pm 0,21) \%$. Průměrný obsah methylesterů kyseliny linolenové v analyzovaných vzorcích činil $(0,64 \pm 0,14) \%$ přičemž největší zastoupení bylo ve vzorku č.9 $(0,79 \pm 0,12) \%$ a nejmenší ve vzorku č.14 $(0,59 \pm 0,00) \%$. Methylestery cis-11-dokosenové mastné kyseliny s průměrným zastoupením ve všech vzorcích $(0,49 \pm 0,19) \%$ byly nejvíce zastoupeny ve vzorku č.9 $(0,94 \pm 0,07) \%$ a naopak nejméně ve vzorcích č. 17 a 18 $(0,20 \pm 0,08) \%$.

Nejvyšší nalezenou kyselinou byla kyselina lignocerová s průměrným zastoupením methylesterů $(0,05 \pm 0,00) \%$. Nejmenší zastoupení ve vzorcích měly methylestery kyseliny cis-11,14,17-ikosatrienové, které se v analyzovaných vzorcích pohybovaly od $(0,02 \pm 0,00) \%$ do $(0,03 \pm 0,00) \%$ přičemž jejich průměrné zastoupení bylo $(0,02 \pm 0,00) \%$. Největší podíl v zastoupení methylesterů omega-6 mastných kyselin byl naměřen ve vzorku č.9 $(1,73 \pm 0,17) \%$.

Tabulka 8: Procentuální zastoupení vybraných methylesterů mastných kyselin ve vzorcích olivových olejů (n = 2)

Mastná kyselina	Vzorek								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
olejová (C18:1)	72,43 ± 0,07	75,22 ± 0,01	74,84 ± 0,01	74,79 ± 0,04	72,90 ± 0,00	75,39 ± 0,04	75,33 ± 0,01	73,81 ± 0,01	69,51 ± 0,01
palmitová (C16:0)	12,00 ± 0,01	11,20 ± 0,01	10,89 ± 0,00	11,92 ± 0,00	12,63 ± 0,00	12,15 ± 0,00	12,10 ± 0,01	11,73 ± 0,00	12,26 ± 0,01
linolová (C18:2)	7,74 ± 0,00	6,72 ± 0,00	7,66 ± 0,00	6,68 ± 0,00	6,85 ± 0,00	6,13 ± 0,00	6,11 ± 0,00	7,16 ± 0,00	8,78 ± 0,00
stearová (C18:0)	2,52 ± 0,00	3,17 ± 0,00	2,86 ± 0,00	2,73 ± 0,00	2,91 ± 0,00	2,65 ± 0,00	2,61 ± 0,00	2,93 ± 0,00	3,12 ± 0,00
palmitolejová (C16:1)	0,97 ± 0,02	0,89 ± 0,00	0,83 ± 0,01	0,78 ± 0,01	0,75 ± 0,00	0,78 ± 0,00	0,71 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,95 ± 0,00
linolenová (C18:3)	0,67 ± 1,76	0,68 ± 0,01	0,67 ± 0,02	0,70 ± 0,19	0,71 ± 0,01	0,68 ± 0,08	0,67 ± 0,00	0,65 ± 1,52	0,79 ± 0,12
cis-11-dokosenová (C22:1)	0,53 ± 1,20	0,56 ± 0,02	0,62 ± 0,02	0,46 ± 0,02	0,48 ± 1,10	0,59 ± 0,04	0,59 ± 0,03	0,54 ± 1,57	0,94 ± 0,07
arachidová (C20:0)	0,43 ± 0,05	0,40 ± 0,00	0,39 ± 0,01	0,46 ± 0,06	0,50 ± 1,05	0,47 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,41 ± 0,02	0,50 ± 0,01
isomer kys. olejové (C18:1)	1,39 ± 0,01	0,39 ± 0,00	0,35 ± 0,00	0,31 ± 0,01	1,05 ± 0,00	0,36 ± 0,00	0,35 ± 0,00	1,12 ± 0,00	2,24 ± 0,01
cis-11-ikosenová (C20:1)	0,30 ± 0,00	0,27 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,31 ± 0,00	0,30 ± 0,00	0,26 ± 0,00	0,29 ± 0,00
behenová (C22:0)	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,15 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01
lignocerová (C24:0)	0,06 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00
cis-10-heptadecenová (17:1)	0,13 ± 0,00	0,14 ± 0,01	0,18 ± 0,00	0,07 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,01
heptadekanová (C17:0)	0,07 ± 0,00	0,07 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00
cis-11,14,17-ikosatrienová (C20:3)	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00

Mastná kyselina	Vzorek								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
olejová (C18:1)	78,54 ± 0,00	70,20 ± 0,01	73,18 ± 0,00	76,98 ± 0,00	71,12 ± 0,20	73,28 ± 0,0	72,73 ± 0,00	69,24 ± 0,07	69,32 ± 0,00
palmitová (C16:0)	9,34 ± 0,00	12,53 ± 0,00	12,40 ± 0,00	10,49 ± 0,00	10,54 ± 0,00	11,08 ± 0,00	12,48 ± 0,00	12,53 ± 0,18	12,49 ± 1,15
linolová (C18:2)	6,81 ± 0,00	9,20 ± 0,00	7,74 ± 0,01	5,40 ± 0,00	12,29 ± 0,01	7,56 ± 0,01	8,28 ± 0,03	10,58 ± 0,70	10,53 ± 0,65
stearová (C18:0)	2,56 ± 0,01	2,89 ± 0,00	2,74 ± 0,01	3,87 ± 0,00	2,56 ± 0,00	2,64 ± 0,00	2,52 ± 0,01	2,94 ± 0,36	2,94 ± 0,34
palmitolejová (C16:1)	0,36 ± 0,01	1,09 ± 0,01	1,01 ± 0,00	0,82 ± 0,00	0,56 ± 0,51	0,79 ± 0,00	1,08 ± 0,01	1,21 ± 0,22	1,21 ± 0,22
linolenová (C18:3)	0,70 ± 0,00	0,69 ± 0,01	0,66 ± 0,00	0,68 ± 0,00	0,59 ± 0,00	0,64 ± 0,00	0,67 ± 0,00	0,61 ± 0,05	0,62 ± 0,00
cis-11-dokosenová (C22:1)	0,45 ± 0,02	0,52 ± 0,00	0,57 ± 0,00	0,56 ± 0,00	0,54 ± 0,00	0,61 ± 0,02	0,45 ± 0,00	0,20 ± 0,08	0,20 ± 0,08
arachidová (C20:0)	0,44 ± 0,00	0,46 ± 0,01	0,39 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,49 ± 0,00	0,36 ± 0,01	0,41 ± 0,00	0,40 ± 0,01	0,40 ± 0,00
isomer kys. olejové (C18:1)	0,00 ± 0,00	0,39 ± 1,25	0,47 ± 0,02	0,30 ± 0,00	0,25 ± 0,00	2,20 ± 0,05	0,61 ± 0,06	0,41 ± 0,03	1,37 ± 0,00
cis-11-ikosenová (C20:1)	0,42 ± 0,00	0,27 ± 0,00	0,27 ± 0,00	0,24 ± 0,00	0,34 ± 0,00	0,28 ± 0,00	0,29 ± 0,00	0,26 ± 0,05	0,13 ± 0,00
behenová (C22:0)	0,12 ± 0,00	0,12 ± 0,00	0,12 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,00	0,12 ± 0,00
lignocerová (C24:0)	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,00
cis-10-heptadecenová (17:1)	0,06 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,09 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,10 ± 0,02	0,11 ± 0,02
heptadekanová (C17:0)	0,04 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,08 ± 0,00	0,07 ± 0,00	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,01
cis-11,14,17-ikosatrienová (C20:3)	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00

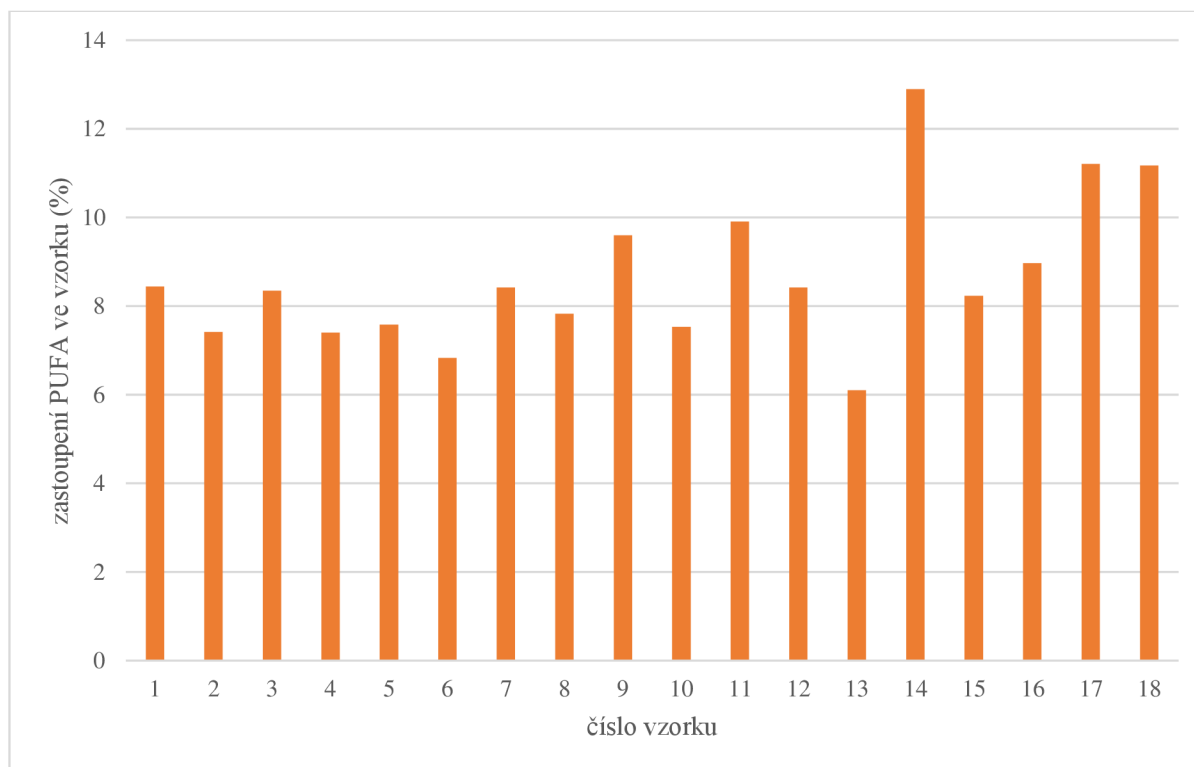
Procentuální zastoupení a porovnání obsahů nasycených (SFA), mononenasycených (MUFA) a polynenasycených (PUFA) mastných kyselin je znázorněno v tabulce 9.

Z údajů uvedených v tabulce je zřejmé, že procentuálně nejvyšší zastoupení nasycených (SFA) mastných kyselin bylo naměřeno ve vzorku č. 5 (16,31 %) a nejnižší ve vzorku č.14 (13,82 %). Obsah mononenasycených mastných kyselin se pohyboval v rozmezí od 71,43 % do 83,63 %. Průměrné zastoupení polynenasycených mastných kyselin bylo 8,68 %. Procentuální zastoupení polynenasycených mastných kyselin v jednotlivých analyzovaných vzorcích je znázorněno v grafu č.1.

Tabulka 9: Průměrné procentuální zastoupení SFA, MUFA a PUFA ve vzorcích

Číslo vzorku	Původ oleje	SFA	MUFA	PUFA
1	Itálie	15,20	75,75	8,44
2	Španělsko	15,00	77,46	7,42
3	Španělsko	14,42	77,11	8,35
4	Řecko	15,36	76,68	7,40
5	Řecko	16,31	75,53	7,58
6	Kréta	15,52	77,48	6,83
7	Španělsko	15,80	75,67	8,42
8	Itálie	15,29	76,76	7,83
9	Sicílie	16,11	74,04	9,60
10	Itálie	12,55	79,83	7,53
11	Řecko	16,12	73,59	9,91
12	Španělsko	15,80	75,67	8,42
13	Španělsko	14,95	79,42	6,10
14	Řecko	13,82	72,87	12,90
15	Směs olejů EU	14,31	77,32	8,23
16	Směs olejů EU	15,66	75,30	8,97
17	Směs olejů EU	16,09	71,43	11,21
18	Směs olejů EU	16,06	72,34	11,17

Graf 1: Procentuální zastoupení PUFA ve vzorcích



5.2 Číslo kyselosti

Kyselost (acidita) se uvádí v procentech a vyjadřuje maximální podíl volných mastných kyselin v olivovém oleji. Zvýšené množství volných mastných kyselin v svědčí o použití přezrálých a mechanicky poškozených oliv, nebo o dlouhém skladování v nevhodných podmínkách. Podle Nařízení Komise (EU) č. 2019/1604 (2019) nesmí acidita extra panenských olivových olejů přesáhnout hodnotu 0,8 %. U olivových olejů je tato hodnota maximálně 0,5 %.

Při stanovování acidity jsou volné mastné neutralizovány ethanolovým roztokem hydroxidu draselného. Číslo kyselosti se pak vyjádří jako množství KOH (v mg) potřebné k neutralizaci kyselin obsažených v 1 g tuku. Naměřené hodnoty čísel kyselosti jsou uvedeny v tabulce 10.

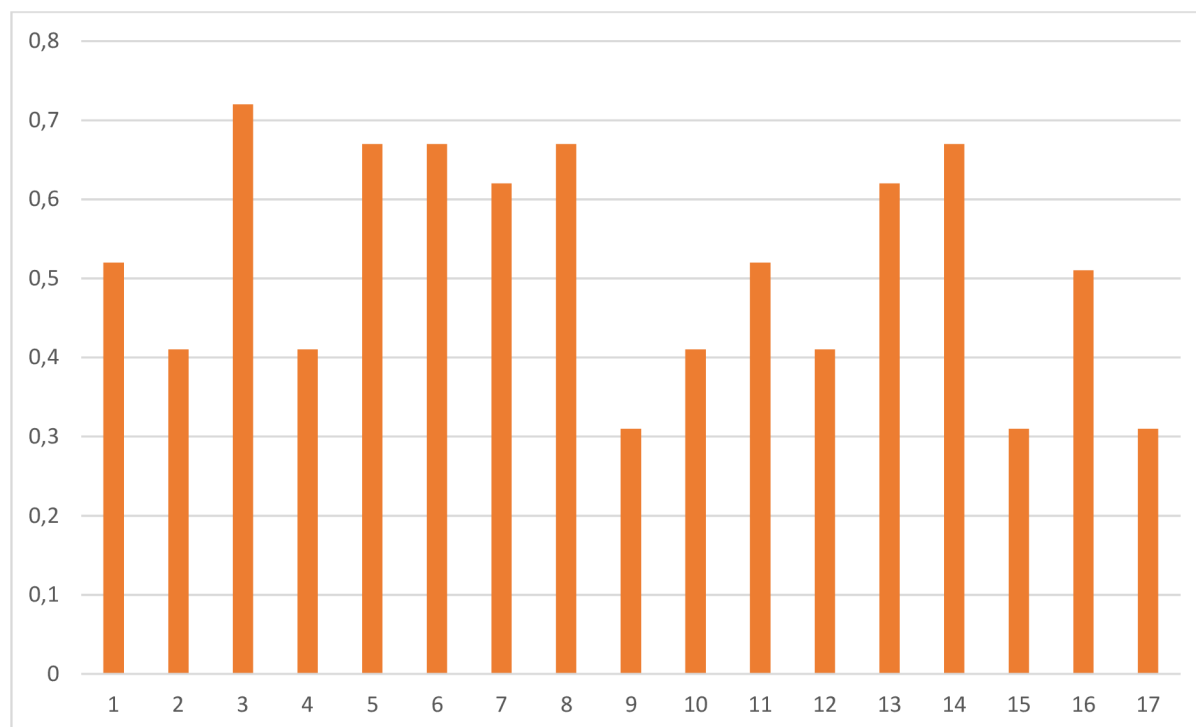
Z analýzy vyplývá, že nejvyšší číslo kyselosti bylo naměřeno u vzorku č.3 ($1,33 \pm 0,00$) mg KOH.g⁻¹. Naopak nejnižší u vzorků č.9, 15 a 17 ($0,61 \pm 0,00$) mg KOH.g⁻¹. Průměrné číslo kyselosti použitých vzorků bylo ($1,02 \pm 0,02$) mg KOH.g⁻¹. Průměrné číslo kyselosti vzorků extra panenských olivových olejů bylo ($1,03 \pm 0,03$) mg KOH.g⁻¹ a olejů olivových ($0,82 \pm 0,00$) mg KOH.g⁻¹.

Tabulka 10: Naměřené hodnoty čísel kyselosti (n = 2)

Číslo oleje	Značka	Původ oleje	Číslo kyselosti (mg KOH.g ⁻¹)	± SD (%)
1	Monini	Itálie	1,03	0,00
2	Monumental	Španělsko	0,82	0,00
3	Ondoliva	Španělsko	1,43	0,00
4	Karpéa	Řecko	0,82	0,00
5	Franz Josef	Řecko	1,33	0,10
6	Franz Josef	Kréta	1,33	0,10
7	Franz Josef	Španělsko	1,23	0,00
8	Costa d'Oro	Itálie	1,33	0,10
9	Antico Frantoio	Sicílie	0,61	0,00
10	Tesco	Itálie	0,82	0,00
11	Tesco	Řecko	1,03	0,00
12	Tesco	Španělsko	0,82	0,00
13	Albert	Španělsko	1,23	0,00
14	Kreolis	Řecko	1,33	0,10
15	Ballester	Směs olejů EU	0,61	0,00
16	Filippo Berio	Směs olejů EU	1,02	0,00
17	Primadonna B	Směs olejů EU	0,61	0,00
18	Primadonna A	Směs olejů EU	1,03	0,00

Číslo kyselosti lze také vyjádřit jako podíl volných mastných kyselin přepočtených na 1 g kyseliny olejové. Procentuální zastoupení volných mastných kyselin ve vzorcích znázorněno v grafu č.2.

Graf 2: Procentuální zastoupení volných mastných kyselin ve vzorcích (n = 2)



Procentuální obsah volných mastných kyselin odpovídá číslu kyselosti a tak procentuální zastoupení bylo naměřeno u vzorku č. 3 ($0,72 \pm 0,00$) % a nejnižší procento ve vzorcích č. 9, 15 a 17 ($0,31 \pm 0,00$) %. Všechny vzorky odpovídaly stanoveným normám.

5.3 Peroxidové číslo

Peroxidové číslo je měřítkem chemicky vázaného kyslíku v olejích a tucích ve formě hydroperoxidů. Určuje primární oxidační úroveň oleje v době výroby, tj. minimální úroveň oxidace oleje, která se v průběhu cyklu oleje zvyšuje v závislosti na podmínkách skladování. Čím nižší je peroxidové číslo oleje, tím vyšší je podíl přírodních antioxidantů a tím silnější antioxidanty olivový olej obsahuje. Vyšší peroxidové číslo naopak naznačuje, že olej již prochází procesem žluknutí a že došlo k degradaci základních prospěšných složek oleje, zejména vitamínů E, A a D.

Oxidace zhoršuje vlastnosti oleje, dodává mu závadné aroma a chuť. Maximální povolená hladina peroxidů u panenských olejů je $20 \text{ meq O}_2/\text{kg}$ (Ukazatele kvality olivového oleje, 2020).

Výsledné hodnoty peroxidového čísla pro každý analyzovaný vzorek jsou v tabulce 11.

Z analýzy vyplývá, že nejvyšší peroxidové číslo bylo naměřeno u vzorku 11 ($29,25 \pm 0,00$) $\text{meq O}_2/\text{kg}$, naopak nejnižší u vzorku č. 13 ($9,82 \pm 0,17$) $\text{meq O}_2/\text{kg}$. Pomineme-li hodnoty olivových olejů (vzorky číslo 17 a 18), tak průměrné peroxidové číslo použitých vzorků extra panenských olivových olejů bylo $19,14 \pm 0,06 \text{ meq O}_2/\text{kg}$. Maximální povolenou hladinu

peroxidů přesáhly vzorky číslo 3 ($23,49 \pm 0,17$) meq O₂/kg, 5 ($26,76 \pm 0,01$) meq O₂/kg, 6 ($26,41 \pm 0,00$) meq O₂/kg, 11 ($29,25 \pm 0,00$) meq O₂/kg a 12 ($24,56 \pm 0,00$) meq O₂/kg.

Tabulka 11: Naměřené hodnoty peroxidových čísel

Číslo oleje	Značka	Peroxidové číslo (meq O ₂ /kg)	± SD (%)
1	Monini	18,52	0,01
2	Monumental	18,06	0,17
3	Ondoliva	23,49	0,17
4	Karpéa	12,89	0,00
5	Franz Josef	26,76	0,01
6	Franz Josef	26,41	0,00
7	Franz Josef	15,90	0,16
8	Costa d'Oro	19,65	0,00
9	Antico Frantoio	17,49	0,17
10	Tesco	14,76	0,00
11	Tesco	29,25	0,00
12	Tesco	24,56	0,00
13	Albert	9,82	0,17
14	Kreolis	12,58	0,00
15	Ballester	19,20	0,00
16	Filippo Berio	16,97	0,16
17	Primadonna B	13,41	0,17
18	Primadonna A	12,60	0,00

6 Diskuze

6.1 Profil mastných kyselin

Tabulka 8 zobrazuje procentuální zastoupení mastných kyselin v analyzovaných vzorcích. Všechny analyzované vzorky odpovídají standardům pro olivové oleje dle Nařízení Komise (EU) č. 2019/1604 (2019) o charakteristikách olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a o příslušných metodách analýzy.

Podle Beltrana et al. (2004) má vliv na zastoupení mastných kyselin v oleji také doba sklizně. Ve studii, provedené v období zrání plodů pro tři sklizňové sezóny, bylo stanoveno průměrné složení mastných kyselin olejů. Ty obsahovaly kyselinu palmitovou (11,9 %), olejovou (79,3 %) a linolovou (2,95 %). Obsah kyseliny palmitové a nasycených mastných kyselin se během zrání plodů snižoval, zatímco obsah kyseliny olejové a linolové se zvyšoval. Množství kyseliny stearové a linolenové se snižovalo. Množství nasycených kyselin, palmitové a stearové, a polynenasycených kyselin, linolové a linolenové, záviselo na době sklizně, zatímco množství kyseliny olejové se měnilo v závislosti na roce sklizně. Rozdíly pozorované mezi sklizňovými roky u kyseliny palmitové a linolové lze vysvětlit rozdíly v teplotě během biosyntézy oleje a u obsahu kyseliny olejové množstvím letních srážek. Byl pozorován také významný vztah mezi poměrem MUFA/PUFA a oxidační stabilitou měřenou Rancimatovou metodou.

Někteří autoři rozdělují oleje do dvou skupin (viz. kapitola 3.2.1) dle poměru zastoupení kyseliny olejové proti kyselině palmitové a linolové. Z tohoto pohledu jsou zajímavé hodnoty naměřené u vzorků č.9, č.17 a č.18, kdy byly hladiny kyseliny olejové blíže k nižším hodnotám ($69,35 \pm 0,11$) % a hladiny kyseliny palmitové ($12,42 \pm 0,11$) % a linolové ($9,96 \pm 0,8$) % spíše k vyšším.

6.2 Číslo kyselosti

Čísla kyselosti naměřená v extra panenských olivových olejích v průměru ($0,53 \pm 0,13$) % splňovala Nařízení Komise (EU) č. 2019/1604 (2019) ($\leq 0,80$) %. Průměrné číslo kyselosti analyzovaných vzorků složených ze směsi rafinovaných a panenských olivových olejů ($0,41 \pm 0,10$) % také splnilo legislativní požadavky na maximální možnou hodnotu ($\leq 0,30$) %. Nelze tedy potvrdit v tomto ohledu počáteční hypotézu, že olivové oleje dostupné na tuzemském trhu v některých případech neodpovídají deklarované kvalitě.

Gutierrez et al. (2000) uvádí, že číslo kyselosti může být ovlivněno dlouhým skladováním oliv před samotným lisováním. U dvou východošpanělských odrůd pěstovaných a zpracovávaných za stejných podmínek bylo zkoumáno složení sterolů, mastných kyselin, číslo kyselosti a sensorická kvalita panenských olivových olejů. Plody byly skladovány při 5 °C a pokojové teplotě po různě dlouhou dobu. Během skladování plodů nebyly zjištěny žádné významné rozdíly ($P = 0,05$) ve složení mastných kyselin. Výrazně se však změnilo složení sterolů v oleji (zejména se zvýšil obsah stigmasterolu), zvýšilo se číslo kyselosti a výrazně se snížila i sensorická jakost. Obsah stigmasterolu vykazoval vysokou korelaci s kyselostí a

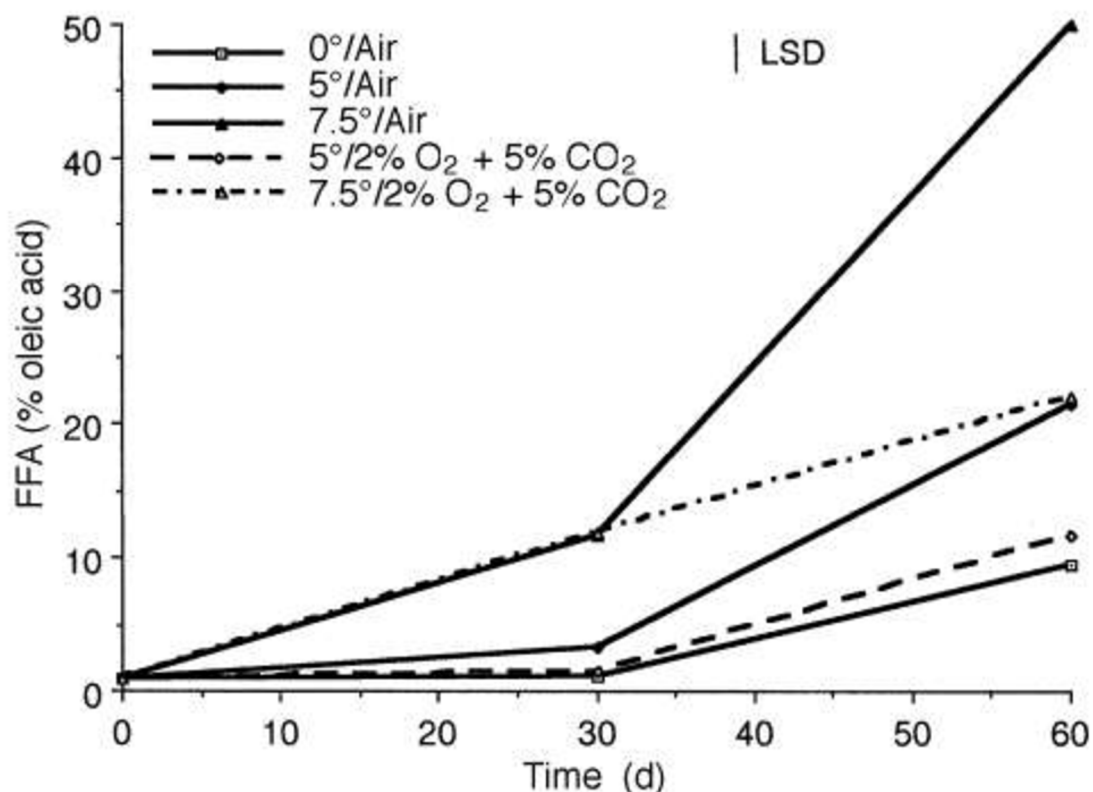
senzorickým hodnocením ($P < 10^{-6}$). Celkový obsah sterolů se postupně zvyšoval s dobou skladování oliv. Oleje s vyšším obsahem stigmasterolu než kampesterolu byly zařazeny do nižší třídy (lampantový olej).

K podobným výsledkům se hlásí i Kiritsakis et al. (1998), kdy byly plody olivovníku *Koroneiki* skladovány za pěti rozdílných podmínek (0 °C, vzduch; 5 °C, vzduch; 5 °C, 2 % O₂+5 % CO₂; 7,5 °C, vzduch; 7,5 °C, 2 % O₂+5 % CO₂) po dobu 30 a 60 dnů. Kvalita olivového oleje byla hodnocena stanovením čísla kyselosti, peroxidového čísla, absorpčních koeficientů (K232, K270), obsahu fenolu a chlorofylu, složení mastných kyselin a odolnosti vůči oxidaci pomocí testu v peci. Olivы skladované při teplotě 7,5 °C, a to i po dobu 30 dnů, byly znehodnoceny rozvojem plísní a olej z nich získaný byl horší kvality s vysokým číslem kyselosti, peroxidovou hodnotou a absorpčními koeficienty. Zvýšení čísla kyselosti bylo pravděpodobně způsobeno výsledkem aktivity houbové lipázy. Na druhou stranu měl získaný olej vysoký obsah chlorofylu a fenolu, což vedlo k dobré odolnosti oleje vůči oxidaci. Olivový olej z plodů skladovaných při teplotě 0 nebo 5 °C po dobu 30 dnů měl přijatelnou kyselost, peroxidovou hodnotu a absorpční koeficienty, ale vykazoval nízkou odolnost vůči oxidaci, což bylo přičítáno nízkému obsahu chlorofylu a fenolu. Během skladování došlo při všech variantách ke zvýšení obsahu kyseliny olejové, částečně v důsledku oxidace kyseliny linolové. Výsledné hodnoty studie jsou znázorněny v obrázku 2.

Kromě teploty a doby skladování oliv má na číslo kyselosti vliv i zvolený obal oleje. Farris et al. například zkoumal inovativní účinnost obalových materiálů u dvou sardinských extra panenských olivových olejů (Nera di Gonnos a Bosana). Konkrétně byla navzájem porovnávána průhledná plastová fólie s UV blokátorem (obal B), metalizovaný materiál (obal C) a hnědo-jantarové sklo (obal A). Byl sledován vývoj jakostních parametrů (tj. kyselost, peroxidové číslo, K270 a obsah fenolických látek) spolu s aromatickým otiskem hodnoceným elektronickým nosem. Obal B se ukázal jako nejlepší materiál chránící před oxidací díky nižší míře propustnosti kyslíku ($0,1 \pm 0,02 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \text{ 24 h}$), následovaný hnědo-jantarovým sklem. Metalizovaný obal se díky vysoké propustnosti kyslíku zařadil až na poslední místo ($0,23 \pm 0,04 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \text{ 24 h}$.)

Z tohoto důvodu jsou zajímavá čísla kyselosti vzorků č.5 a č.6 ($0,67 \pm 0,05$) %, které byly baleny v metalizovaném materiálu a které se umístily mezi vyššími hodnotami zkoumaných čísel kyselosti.

Obrázek 2: Změny kyselosti oleje při skladování oliv za různých podmínek (Kiritsakis et al. 1998)



6.3 Peroxidové číslo

Peroxidová čísla naměřená u analyzovaných vzorků v průměru ($18,46 \pm 5,45$) meq O₂/kg splňovala Nařízení Komise (EU) č. 2019/1604 (2019) o charakteristikách olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a o příslušných metodách analýzy (≤ 20 meq O₂/kg). Maximální povolenou hladinu peroxidů přesáhly vzorky číslo 3 ($23,49 \pm 0,17$) meq O₂/kg, 5 ($26,76 \pm 0,01$) meq O₂/kg, 6 ($26,41 \pm 0,00$) meq O₂/kg, 11 ($29,25 \pm 0,00$) meq O₂/kg a 12 ($24,56 \pm 0,00$) meq O₂/kg. S ohledem na naměřenou hodnotu těchto vzorků, lze potvrdit počáteční hypotézu, že olivové oleje dostupné na tuzemském trhu v některých případech neodpovídají deklarované kvalitě.

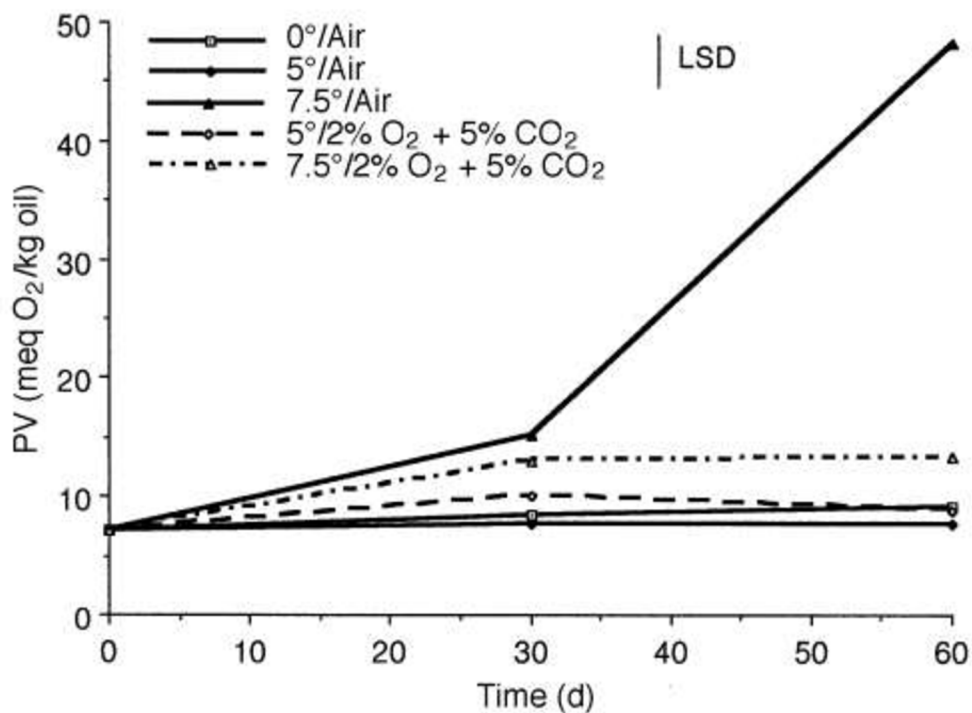
Vekiari et al. (2007) uvádí, že změna peroxidového čísla může být významně ovlivněna typem extrakčního zařízení, balicím materiálem a intenzitou pronikajícího světla. Dále uvádí, že olej vystavený rozptýlenému dennímu nebo umělému světlu dosahuje maximální hodnoty peroxidového čísla ve druhém nebo třetím měsíci skladování a poté klesá, zatímco vzorky skladované ve tmě dosahují maximální hodnoty v průběhu prvních šesti měsíců skladování. Vzorky oleje extrahované odstředivým typem zařízení a uchovávané ve skleněných nádobách ve tmě měly vyšší obsah peroxidů než vzorky extrahované klasickou metodou.

Také podle Ghanbari Shendi et al. (2018) vykazovaly hodnoty peroxidů rostoucí trend v raných fázích skladování. V pátém měsíci byly dokonce vyšší než standardy IOC a v průběhu

sedmého měsíce dosáhly svého maxima. Byl zjištěn významný rozdíl mezi hodnotami peroxidů v průběhu ročního skladování. ($P < 0.01$).

Kiritsakis et al. (1998) uvádí, že olej z plodů skladovaných při teplotě 0 nebo 5 °C měl nízkou hladinu peroxidů, zatímco olej z plodů skladovaných při teplotě 7,5 °C zaznamenal výrazný nárůst peroxidového čísla. Změny peroxidového čísla při skladování oliv za různých podmínek jsou ukázány v obrázku 3.

Obrázek 3: Změny peroxidového čísla oleje při skladování oliv za různých podmínek (Kiritsakis et al. 1998)



7 Závěr

V této diplomové práci bylo analyzováno 16 vzorků extra panenských olivových olejů a 2 vzorky oleje ze směsi extra panenského a rafinovaného olivového oleje získaných nákupem v obchodních řetězcích na území České republiky. V těchto vzorcích byl stanoven profil zastoupených mastných kyselin metodou plynové chromatografie, na jehož základě byly vzorky porovnány s deklarovaným Nařízením Komise (EU) č. 2019/1604 (2019). Dále bylo stanoveno číslo kyselosti, které je ukazatelem volných mastných kyselin obsažených v oleji, a peroxidové číslo vyjadřující míru oxidace tuku. Experimentální část práce prokázala, že profily mastných kyselin a čísla kyselosti analyzovaných vzorků jsou v souladu s nařízením a odpovídají standardům oleje pro konkrétní kategorii.

Maximální povolenou hodnotu peroxidového čísla přesáhlo 5 vzorků, a to vzorky č. 3 ($23,49 \pm 0,17$) meq O₂/kg, č. 5 ($26,76 \pm 0,01$) meq O₂/kg, č. 6 ($26,41 \pm 0,00$) meq O₂/kg, č. 11 ($29,25 \pm 0,00$) meq O₂/kg a č. 12 ($24,56 \pm 0,00$) meq O₂/kg. S přihlédnutím k naměřeným hodnotám peroxidového čísla byla tedy potvrzena hypotéza uvedená v zadání diplomové práce, že olivové oleje v některých případech neodpovídají deklarované kvalitě. Na druhou stranu je ale nutno konstatovat, že na základě celkového vyhodnocení parametrů sledovaných v této diplomové práci je možno vzorky olivových olejů komerčně dostupných v České republice hodnotit jako vyhovující.

8 Literatura

- Almoselhy R, Abd-Elmageed S, Elsorady ME. 2019. Identification of Triacylglycerol Composition of Some Olive Oil Cultivars Cultivated in Some Different Areas in Egypt. *Middle East Journal of Applied Sciences* **9**
- Alonso A, Ruiz-Gutierrez V, Martínez-González MA. 2006. Monounsaturated fatty acids, olive oil and blood pressure: epidemiological, clinical and experimental evidence. *Public health nutrition* **9**: 251-257
- Baldioli M, Servili M, Perretti G, Montedoro GF. 1996. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **73**: 1589-1593. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02523530>
- Beltrán, Rio C, Sánchez S, Martínez L. 2004. Influence of harvest date and crop yield on the fatty acid composition of virgin olive oils from cv. Picual. *Journal of agricultural and food chemistry* **52**: 3434-3440.
- Boskou D. 2006. *Olive oil: chemistry and technology*. AOCS Publishing
- Caponio F, Bilancia MT, Pasqualone A, Sikorska E, Gomes T. 2005. Influence of the exposure to light on extra virgin olive oil quality during storage. *European Food Research and Technology* **221**: 92-98. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1126-8>
- Clodoveo ML. 2012. Influence on virgin olive oil quality. Past, present and future—An overview. *Trends in Food Science & Technology* **25**: 13-23
- ČSN EN ISO 3960 (588765). 2017. Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení peroxidového čísla – Jodometrické (vizuální) stanovení koncového bodu, Praha
- ČSN EN ISO 660 (58 8756) . 2021 Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení čísla kyselosti a kyselosti, Praha
- Damiani T, Cavanna D, Serani A, Dall'Asta Ch, Suman M. 2020. GC-IMS and FGC-Enose fingerprint as screening tools for revealing extra virgin olive oil blending with soft-refined olive oils: A feasibility study. *Microchemical Journal* **159**: 105374
- Farris S, Buratti S, Benedetti S, Rovera C, Casiraghi E, Alamprese C. 2021. Influence of two innovative packaging materials on quality parameters and aromatic fingerprint of extra-virgin olive oils. *Foods* **10**: 929
- Foley B, Hansson M, Kourkoumelis D. 2012. Aspects of ancient Greek trade re-evaluated with amphora DNA evidence. *Journal of Archaeological Science* **39**: 389-398 DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jas.2011.09.025>
- Ghanbari Shendi E, Ozay DS, Ozkaya MT, Ustunel NF. 2018. Changes occurring in chemical composition and oxidative stability of virgin olive oil during storage. *EDP Sciences* **25**

- Giuffrida D, Salvo F, Salvo A, La Pera L, Dugo G. 2007. Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various sicilian olive varieties. *Food Chemistry* **101**: 833-837
- Green PS. 2002. A revision of *Olea L.* (Oleaceae). *Kew bulletin* **57**: 91-140
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **58**: 966-968
- Gutierrez F, Varona I, Albi MA. 2000. Relation of acidity and sensory quality with sterol content of olive oil from stored fruit. *Journal of agricultural and food chemistry* **48**: 1106-1110
- Hermoso FM, Uceda OM, Garcia-Ortiz RA, Moralej BJ, Junta A. závě. Processing of quality olive oil. *Apuntes-Junta de Andalucía (Spain)*
- Inglese P, Famiani F, Galvano F, Servili M, Esposto S, Urbani S. 2011. 3 factors affecting extra-virgin olive oil composition. *Horticultural reviews* **38**
- Kapellakis I, Tsagarakis K, Crowther J. 2008. Olive oil history, production and by-product management. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* **7**: 1-26. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11157-007-9120-9>
- Khan Y, Panchal S, Vyas N, Butani A, Kumar V. 2007. *Olea europaea*: a phyto-pharmacological review. *Pharmacognosy Reviews* **1**: 114-118
- Kiritsakis A, Nanos GD, Polymenopoulos Z, Thomai T, Sfakiotakis EM. 1998. Effect of fruit storage conditions on olive oil quality. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **75**: 721-724
- Lachman J, Hejtmánková A, Táborský J, Kotíková Z, Pivec V, Štralková R, Vollmannová A, Bojňanská T, Dědina M. 2015. Evaluation of oil content and fatty acid composition in the seed of grapevine varieties. *LWT-Food Science and Technology* **63**: 620-625
- Lerma-García MJ, Ramis-Ramos G, Herrero-Martínez JM, Simó-Alfonso EF. 2010. Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Food chemistry* **118**: 78-83.
- Lukić M, Lukić I, Krapac M, Sladonja B, Piližota V. 2013. Sterols and triterpene diols in olive oil as indicators of variety and degree of ripening. *Food Chemistry*. **136**: 251-258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.005>
- Maggio RM, Kaufman TS, Del Carlo M, Cerretani L, Bendini A, Cichelli A, Compagnone D. 2009. Monitoring of fatty acid composition in virgin olive oil by Fourier transformed infrared spectroscopy coupled with partial least squares. *Food Chemistry* **4**: 1549-1554
- Mavromoustakos T, Zervou M, Bonas G, Kolocouris A. 2000. A novel analytical method to detect adulteration of virgin olive oil by other oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **77**: 405-411
- Mendes TO, Rocha DA, Porto BLS, Oliveira MAL, Anjos V, Bell MJV . 2015. Quantification of extra-virgin olive oil adulteration with soybean oil: a comparative

- study of NIR, MIR, and Raman spectroscopy associated with chemometric approaches. *Food analytical methods* **8**: 2339-2346
- Prováděcí nařízení Komise (EU) 2019/1604 ze dne 27. září 2019, kterým se mění nařízení (EHS) č. 2568/91 o charakteristikách olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a o příslušných metodách analýzy., 2019. Úřední Věstník. 14-48
- Quiles JL, Ramirez-Tortosa MC, Yaqoob P. 2006. *Olive Oil and Health*, CABI Publishing, Wallingford, UK
- Riachy ME, Hamade A, Ayoub R, Dandachi F, Chalak L. 2019. Oil Content, Fatty Acid and Phenolic Profiles of Some Olive Varieties Growing in Lebanon. *Frontiers in Nutrition* **6**. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00094>
- Riley FR. 2002. Olive oil production on bronze age Crete: nutritional properties, processing methods and storage life of Minoan olive oil. *Oxford Journal of Archaeology*. **21**: 63-75. DOI: <https://doi.org/10.1111/1468-0092.00149>
- Servili M, Montedoro GF. 2002. Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology* **104**: 602-613
- Stone F. 2011. *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. John Wiley.
- The world of olive oil. Available from <https://www.internationaloliveoil.org/the-world-of-olive-oil/> (accessed September 2021).
- Uceda M, Beltrán G, Jiménez A. 2006. Olive oil extraction and quality. *Grasas y aceites* **57**: 25-31
- Ukazatele kvality olivového oleje. Available from <https://jamon.cz/olivovy-olej/1369-ukazatele-kvality-olivoveho-oleje> (accessed September 2021).
- Valenčič V, Butinar B, Podgornik M, Bučar-Miklavčič M. 2020. The Effect of Olive Fruit Fly *Bactrocera oleae* (Rossi) Infestation on Certain Chemical Parameters of Produced Olive Oils. *Molecules* **26**: 95
- Van Wetten IA, Van Werhaarden WA, Splinter R, Boerrigter-Eengling R, Van Ruth SM. 2015. Detection of sunflower oil in extra virgin olive oil by fast differential scanning calorimetry. *Thermochimica Acta* **603**: 237-243
- Vekiari SA, Papadopoulou P, Kiritsakis A. 2007. Effects of processing methods and commercial storage conditions on the extra virgin olive oil quality indexes. *Grasas y aceites* **58**: 237-242.
- Vietina M, Agrimonti C, Marmiroli N. 2013. Detection of plant oil DNA using high resolution melting (HRM) post PCR analysis: A tool for disclosure of olive oil adulteration. *Food Chemistry* **14**: 3820-3826
- Vossen P. 2007. Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils. *HortScience* **42**:1093-1100. DOI:<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.42.5.1093>

- Vossen P. 2009. Olive Oil Processing Technology Influences on Quality. California: University of California
- Weber M. 2021. Monitorování mastných kyselin v gastroodpadech se zaměřením na upotřebené kuchyňské oleje. [MSc. Thesis]. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Yang H, Irudayaraj J, Paradkar M. 2005. Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. Food Chemistry **93**: 25-32
- ZaroualH, Chéne Ch, Hadrami EI, Karoui R. 2021. Application of new emerging techniques in combination with classical methods for the determination of the quality and authenticity of olive oil: A review. Food Science and Nutrition 1-24. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1876624>

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

CCFO	Codex Committee on Fats and Oils	Kodexový výbor pro tuky a oleje
CG	Chromatography	Chromatografie
ČK	Acid value	Číslo kyselosti
ČSN	Czech technical standard	Česká technická norma
DSC	Differential Scanning Calorimetry	Diferenciální skenovací Kalorimetrie
EHS	European Economic Community	Evropské hospodářské společenství
EVOO	Extra virgin olive oil	Extra panenský olivový olej
FAPPZ	Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources	Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity
FID	Flame ionization detector	Plamenoionizační detektor
FTIR	Fourier transform infrared	Fourierova transformace
IOC	International Oliv Council	Mezinárodní rada pro olivy
MIR	Mid Infrared	Střední infračervená spektroskopie
MUFA	Monounsaturated fatty acids	Mononenasyčené mastné kyseliny
NIR	Near Infrared	Spektroskopie v blízké infračervené oblasti
NMR	Nuclear magnetic resonance	Nukleární magnetická rezonance
PCA	Principal Component Analysis	Analýza hlavních komponent
PLS	Partial Least Square regression	Částečná regrese nejmenších čtverců
PUFA	Polyunsaturated fatty acids	Polynenasycené mastné kyseliny

PV

Peroxide value

Peroxidové číslo

SFA

Saturated fatty acids

Nasycné mastné kyseliny

10 Seznam grafů, obrázků a tabulek

Grafy

Procentuální zastoupení PUFA ve vzorcích	36
Procentuální zastoupení volných mastných kyselin ve vzorcích (n = 2).....	38

Obrázky

Obrázek 1: Vzorky použitých olivových olejů (vlastní foto)	24
Obrázek 2: Změny kyselosti oleje při skladování oliv za různých podmínek (Kiritsakis et al. 1998)	42
Obrázek 3: Změny peroxidového čísla oleje při skladování oliv za různých podmínek (Kiritsakis et al. 1998)	43

Tabulky

Tabulka 1: Jakostní charakteristiky olivového oleje dle nařízení (EU) 2019/1604.....	12
Tabulka 2: Složení mastných kyselin olivového oleje dle nařízení (EU) 2019/1604.....	12
Tabulka 3: Profil mastných kyselin typického olivového oleje v porovnání s jinými jedlými oleji	15
Tabulka 4: Přípustný procentuální obsah mastných kyselin v panenském olivovém oleji dle IOC (Quiles et al. 2006).....	16
Tabulka 5: Přehled analyzovaných vzorků	25
Tabulka 6: Parametry přístroje a podmínky GC analýzy (Weber 2021)	27
Tabulka 7: Očekávaná peroxidová čísla	30
Tabulka 8: Procentuální zastoupení vybraných methylesterů mastných kyselin ve vzorcích olivových olejů (n = 2).....	33
Tabulka 9: Průměrné procentuální zastoupení SFA, MUFA a PUFA ve vzorcích	35
Tabulka 10: Naměřené hodnoty čísel kyselosti (n = 2)	37
Tabulka 11: Naměřené hodnoty peroxidových čísel	39