

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Vliv extrakčních metod na kvalitu olejů získaných
z vybraných rostlin čeledi *Asteraceae*, *Ranunculaceae*,
Cucurbitaceae a *Papaveraceae***

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Michaela Kliková

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: Ing. Adéla Fraňková, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv extrakčních metod na kvalitu olejů získaných z vybraných rostlin čeledi *Asteraceae*, *Ranunculaceae*, *Cucubritaceae* a *Papaveraceae*" 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 8. 6. 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí diplomové práce Ing. Adéle Fraňkové, Ph.D. za odbornou pomoc, věcné připomínky, věnovaný čas a poskytnutí cenných rad pro vypracování této práce. Dále bych tímto chtěla vyjádřit poděkování Ing. Petrovi Hraběti, Ph.D., Ing. Čestmírovi Mizerovi, Ph.D. a Ing. Tomášovi Skalovi za pomoc v laboratoři při extrakci rostlinných olejů.

Vliv extrakčních metod na kvalitu olejů získaných z vybraných rostlin čeledi *Asteraceae*, *Ranunculaceae*, *Cucurbitaceae* a *Papaveraceae*

Souhrn

Důležitou součástí lidské stravy jsou rostlinné oleje, které lidem poskytují především energii, vitaminy a mnoho dalších prospěšných látek. K získávání rostlinných olejů se používají různé technologie (např. lisování, extrakce), které přinášejí řadu výhod (např. výtěžnost, regenerace rozpouštědla, nižší provozní náklady) i nevýhod (např. časová náročnost, velký objem použitého rozpouštědla, toxicita, hořlavost, znečišťování životního prostředí). V současné době se neustále hledají nové způsoby k získávání čistých a kvalitních rostlinných olejů, které by během krátké doby dosáhly i vysoké výtěžnosti. Měly by být bezpečnější, účinnější a šetrnější k životnímu prostředí, nevýhodou mohou být však vyšší pořizovací náklady a nutnost optimalizace extrakčních podmínek (např. teplota, tlak).

V literární rešerši byly shrnuty současné možnosti a poznatky o technikách získávání a složení rostlinných olejů. Práce byla zaměřena na oleje získávané z netradičních plodin, a to z ostropestřce mariánského (*Silybum marianum* L.), ze světlice barvířské (*Carthamus tinctorius* L.), z tykve obecné (*Cucurbita pepo* L.), z černuchy seté (*Nigella sativa* L.) a z máku setého (*Papaver somniferum* L.).

Praktická část práce byla zaměřena na získávání vybraných rostlinných olejů třemi různými extrakčními metodami: tradiční mechanické lisování, nové extrakce dimethyl etherem (DME) a superkritická fluidní extrakce (SFE). Zjišťovalo se, zda způsob extrakce má vliv na výtěžnost, barvu a výslednou kvalitu oleje (obsah tokoferolů, mastných kyselin a volných mastných kyselin).

U všech plodin extrahovaných DME byla výtěžnost významně vyšší než u ostatních metod (dýňový olej DME $39,97 \pm 0,73$ %). Oleje měly vysoké množství vitamínu E a nízký obsah volných mastných kyselin. Vliv různých extrakčních metod na složení mastných kyselin se neprokázal. Na výslednou kvalitu a výtěžnost oleje nebyla příliš vhodná extrakce SFE. Charakteristika olejů extrahovaných DME se podobala metodě lisování za studena. DME je slibnou extrakční metodou pro získávání rostlinných olejů, protože má vysokou výtěžnost, zlepšuje nutriční vlastnosti a je šetrná k životnímu prostředí.

Klíčová slova: rostlinné oleje, dimethyl ether, lisování, superkritická fluidní extrakce

Influence of extraction methods on the quality of oils from selected plants from *Asteraceae*, *Ranunculaceae*, *Cucurbitaceae* a *Papaveraceae* family

Summary

The vegetable oils are an important part of the human diet and provide people with energy, vitamins and many other beneficial substances. Various technologies are used to obtain vegetable oils (e.g. pressing, extraction), they have a number of advantages (e.g. recovery, solvent recovery, lower operating costs) and disadvantages (e.g. longer time, more amount of solvent, toxicity, flammability, environmental pollution). Currently, new extraction methods are being sought to obtain pure and high quality vegetable oils which would have high yields in a short time. These methods should be safer, more efficient and more environmentally friendly, but the disadvantages may be their higher purchase costs and the need to optimize extraction conditions (e.g. temperature, pressure).

The literature review summarized current knowledge and possibilities about techniques of vegetable oils extraction and their composition. The theses was focused on oils obtained from unconventional crops, namely milk thistle (*Silybum marianum* L.), safflower (*Carthamus tinctorius* L.), pumpkin (*Cucurbita pepo* L.), black cumin (*Nigella sativa* L.) and poppy (*Papaver somniferum* L.).

The practical part of the theses was focused on obtaining selected vegetable oils by three different extraction methods: traditional mechanical pressing, new extraction with dimethyl ether (DME) and supercritical fluid extraction (SFE). It was examined whether the extraction method influenced the yield, color and resulting oil quality (content of tocopherols, fatty acids and free fatty acids).

The best extraction efficiency of oil was demonstrated for DME solvent for all selected seed (pumpkin oil $39,97 \pm 0,73$ %). DME extracted oils also contained a high amount of vitamin E and a low content of free fatty acids. The fatty acid composition was not affected by the extractions methods. SFE extraction was not very suitable for the resulting oil quality and yield. The characteristics of the oils extracted with DME were similar to the cold pressing method. DME is a promising extraction method for obtaining vegetable oils, because it has a high yield, improves nutritional properties and it is environmentally friendly.

Keywords: vegetable oils, dimethyl ether, pressing, supercritical fluid extraction

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	2
3	Literární rešerše.....	3
3.1	Získávání rostlinných olejů.....	3
3.1.1	Lisování.....	3
3.1.2	Extrakce rozpouštědlem.....	4
3.1.3	Superkritická fluidní extrakce (SFE).....	8
3.2	Složení rostlinných olejů.....	9
3.2.1	Mastné kyseliny.....	9
3.2.2	Fosfolipidy.....	10
3.2.3	Vosky.....	11
3.2.4	Vitamin E.....	11
3.3	Druhy rostlinných olejů.....	14
3.3.1	Ostropěstřec mariánský (<i>Silybum marianum</i> L.).....	14
3.3.2	Světlice barvířská (<i>Carthamus tinctorius</i> L.).....	15
3.3.3	Tykev obecná (<i>Cucurbita pepo</i> L.).....	16
3.3.4	Černucha setá (<i>Nigella sativa</i> L.).....	17
3.3.5	Mák setý (<i>Papaver somniferum</i> L.).....	18
4	Materiál a metodika.....	20
4.1	Rostlinný materiál.....	20
4.2	Příprava rostlinného materiálu pro extrakci.....	20
4.2.1	Extrakce dimethyl etherem (DME).....	21
4.3	Superkritická fluidní extrakce (SFE).....	22
4.4	Lisování.....	23
4.5	Příprava vzorků pro měření obsahu vitamínu E pomocí kapalinové chromatografie.....	24
4.5.1	Podmínky analýzy stanovení vitamínu E.....	25
4.6	Příprava vzorků pro měření obsahu mastných kyselin (derivatizace).....	25
4.6.1	Podmínky analýzy stanovení MK.....	26
4.7	Stanovení čísla kyselosti.....	26
4.8	Stanovení sušiny.....	27
4.9	Statistické vyhodnocení dat.....	27
5	Výsledky.....	27
5.1	Barva testovaných olejů.....	27
5.2	Výtěžnost testovaných olejů.....	30

5.3	Obsah vitamínu E.....	30
5.4	Profil mastných kyselin	34
5.5	Obsah volných mastných kyselin.....	36
6	Diskuze	37
7	Závěr.....	40
8	Literatura	42
9	Seznam obrázků	50
10	Seznam grafů.....	51
11	Seznam tabulek.....	51
12	Seznam zkratk.....	51

1 Úvod

Rostlinné oleje jsou velmi důležitou složkou stravy člověka. Denně je používá každá domácnost při kulinářském zpracování. Rostlinné oleje však mají i řadu dalších využití. Jejich konzumace prospívá zdraví, protože jsou zdrojem tuků, které společně s bílkovinami a sacharidy patří mezi základní živiny. Tuky mají vysokou energetickou hodnotu, a proto jsou nejbohatším zdrojem energie ze všech živin. Rozlišují se rostlinné tuky a živočišné tuky, které podle chemického složení, zejména mastných kyselin, působí na lidské tělo buď příznivě, nebo naopak mohou vést k řadě onemocnění (Kasote et al., 2013).

Rostlinné oleje obsahují například fosfolipidy, vosky, steroly a lipofilní vitaminy. Příznivější skladbu mastných kyselin a vyšší obsah bioaktivních látek mají netradiční oleje, které jsou pro lidský organismus prospěšnější (Marques et al., 2015). Tato diplomová práce se věnovala olejům z ostropestřce mariánského (*Silybum marianum* L.), ze světlice barvířské (*Carthamus tinctorius* L.), z tykve obecné (*Cucurbita pepo* L.), z černuchy seté (*Nigella sativa* L.) a z máku setého (*Papaver somniferum* L.).

Rostlinné oleje se získávají převážně z olejnatých semen různými metodami, které se liší výtěžností, kvalitou oleje a obsahem prospěšných látek. Je prokázáno, že získané množství oleje závisí na podmínkách pěstování, pěstebních lokalitách, genotypech, způsobu sběru/sklizně rostlin, jejich zpracování a skladování. Na začátku musí proběhnout důkladná úprava semen, po které následuje extrakce. Existuje fyzikální extrakce (mechanické lisování) a chemická extrakce, při které se používají organická rozpouštědla. Nejpoužívanějším rozpouštědlem je hexan, jehož využití přináší řadu výhod, ale i nevýhod. Proto dochází ke zkoumání dalších alternativních rozpouštědel, které by měly být ekologičtější, bezpečnější a účinnější. Značná pozornost je věnována oxidu uhličitému (Kasote et al., 2013). V současné době se neustále vyvíjí nové metody k získávání olejů (např. extrakce dimethyl etherem, superkritická fluidní extrakce, tlaková kapalinová extrakce, mikrovlnná extrakce a ultrazvuková asistovaná extrakce), které jsou spolehlivější, automatizovanější, zkracují dobu extrakce, zachovávají vysokou kvalitu oleje a šetří životní prostředí. Tyto metody přináší řadu vylepšení, a proto postupně nahrazují tradiční způsoby extrakce (Castejón et al., 2018).

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce bylo porovnat kvalitativní parametry olejů vybraných rostlin z čeledi *Asteraceae*, *Ranunculaceae* *Cucurbitaceae* a *Papaveraceae* získaných různými extrakčními technikami.

Hypotéza: Způsob extrakce olejnatých semen má vliv na výtěžnost a výslednou kvalitu oleje.

3 Literární rešerše

3.1 Získávání rostlinných olejů

Hlavním účelem technologie po sklizni olejnatých semen je získání maximálního množství kvalitního oleje. Je prokázáno, že výtěžnost oleje závisí na podmínkách pěstování, pěstebních lokalitách, genotypech, způsobu sběru/sklizně rostlin, jejich zpracování a skladování (Kasote et al., 2013). Některé rostlinné oleje obsahují mono– a di–nenasycené mastné kyseliny, které jsou vysoce citlivé na oxidační reakce vyvolané exogenními (např. vlhkost, teplota, obsah světla a kyslíku ve skladovací atmosféře) a endogenními faktory (oxidační enzymy produkované v přírodních potravinách – lipoxygenáza) (Martínez et al., 2013). Pro získání kvalitního produktu je proto klíčové zpracování semen po sklizni, při kterém lze zlepšit udržitelnost či zvýšit výnos a kvalitu oleje (Kasote et al., 2013).

Komerční výroba rostlinných olejů je založena na lisování a extrakci. Obvykle se provádí mechanickým šroubovým lisováním, hydraulickým lisováním (např. jojobový, dýňový olej) nebo extrakcí rozpouštědly (Marques et al., 2015).

3.1.1 Lisování

K nejstarším a nejběžnějším metodám extrakce patří mechanické lisování pomocí šnekového lisu, při kterém probíhá proces extrakce tlakem z připravených olejnatých semen s vysokým obsahem oleje (řepka, slunečnice) a olejnatých plodů (palma, olivy) (Hernandez et Kamal-Eldin, 2013). Výkon lisu závisí na surovině a způsobu její přípravy, která může sestávat z řady jednotkových operací, jako je čištění, úprava, dekortikování, praskání, odlupování, vaření a vytlačování. Předpokládá se, že výkon lisu je ovlivněn i exogenními faktory. Např. vyšší vlhkost v prostředí způsobuje nedostatečné tření během lisování a zvyšuje plasticitu, což snižuje úroveň stlačení (Martínez et al., 2013).

Lisování lze rozdělit na dva typy – lisování za tepla a za studena. Lisování za studena se provádí přímým lisováním surových nebo sušených semen na kontinuálním šnekovém lisu při nízké teplotě. Technologie lisovaného oleje za studena vylučuje tepelné zpracování materiálu během přípravné fáze, a proto může dojít k problémům v počáteční fázi lisování na šnekovém lisu. Pro zvýšení účinnosti bývá hlava šnekového lisu před začátkem lisovacího procesu zahřátá na teplotu mezi 80 a 100 °C. V procesu výroby lisovaného oleje za studena je

velmi důležitým faktorem teplota oleje opouštějící lis. V důsledku tření je lisování doprovázeno uvolňováním tepla. Teplota oleje však nesmí přesáhnout 50 °C. Moderní šnekové lisy dokážou snížit teplo uvolňované na jednotku hmotnosti suroviny zpracovávané lisem, čímž se snižuje teplota přístroje a umožňuje lepší regulace teploty během procesu (Rabrenović et al., 2014). Tento způsob výroby zachovává v olejích bioaktivní složky, jako jsou vitaminy, provitaminy, fytosteroly, fosfolipidy a skvalen, které jsou spolu s některými mastnými kyselinami klíčovými faktory nutričních hodnot rostlinných olejů (Ramadan, 2019).

Při lisování za tepla se využívá vyšších teplot (kolem 100 °C) a lze dosáhnout vyššího výtěžku oleje než v procesu lisování za studena. Během vysokoteplotního lisování se mohou vytvářet těkavé látky, které přispívají k charakteristické chuti rostlinných olejů. Tato metoda na druhou stranu podporuje denaturaci a snižuje rozpustnost rostlinných proteinů, následně tak vede k jejich horšímu využití v lidském organismu (Dun et al., 2019).

Výhodou mechanického lisování jsou nízké provozní náklady, produkce oleje bez toxického zbytku rozpouštědla, a možnost dalšího využití zbytků koláče (např. jako krmivo pro zvířata). Účinnost extrakce mechanickým lisováním však není příliš efektivní, protože výtěžek oleje se většinou pohybuje pod 70 % (Pradhan et al., 2010).

3.1.2 Extrakce rozpouštědlem

Extrakce rozpouštědlem je široce používaná metoda, která je známa již od roku 1855, kdy byl poprvé využit disulfid uhličitý k rozpuštění olivového oleje. Výhoda metody spočívá v získávání velkého množství oleje z olejnatého semene (Hamm et al., 2013). Bylo zjištěno, že společně s rozpouštědly je extrahována i řada nežádoucích složek (např. vosky). Nevýhodou vyextrahovaného oleje může být přítomnost stopových množství rozpouštědla, která se obtížně odstraňují (Pradhan et al., 2010).

Před samotnou extrakcí je nutná řada předběžných úprav extrahovaného materiálu jako je například čištění, praskání, loupání a kondicionování. Tyto úpravy se používají hlavně k čištění plodin a ke zmenšení velikosti extrahovaných částic, aby se zvýšila výtěžnost oleje (> 99 % hmotnosti) (Cheng et al., 2018). Extrakce rozpouštědlem se považuje za proces přenosu hmoty mezi pevnou fází, kapalnou fází a miscelou, která se pohybuje prostorem mezi částicemi (Baümler et al., 2016). Nejčastěji používaným rozpouštědlem při extrakci je hexan. Připravený olejnatý materiál vstupuje do extraktoru, ve kterém rozpustná složka přechází do roztoku

a vzniká miscela (roztok oleje v rozpouštědle). Zatímco materiál prochází extraktorem (30-120 minut), miscela se promyje skrze vrstvu materiálu a dochází tak k efektivní extrakci oleje. Na konci procesu z extraktoru vystupuje miscela, ze které se oddestiluje rozpouštědlo (n – hexan) a zůstane surový olej (Hamm et al., 2013).

3.1.2.1 Rozpouštědla

Výběr rozpouštědla použitého pro extrakci oleje má vliv na kvalitu oleje, a proto zastupuje důležitou roli při určování celkové účinnosti procesu. Pro zlepšení podmínek (vysoké výnosy, rychlé a čisté provedení) se neustále zkoumají nové způsoby a přístupy. Alternativou při extrakci různých sloučenin může být použití mikrovlnné, superkritické, ultrazvukové a tlakové kapaliny (Conte et al., 2016). Často se také řeší problémy konvenčních rozpouštědel z hlediska jejich toxicity a dopadu na životní prostředí (Subratti et al., 2019)¹.

V průběhu let se používala různá rozpouštědla k extrakci rostlinných olejů, včetně disulfidu uhlíčitého, benzenu, trichlorethylenu, alkoholů a pentanu. V minulosti byl využíván sirouhlík s nízkým bodem varu, který je však velmi hořlavý a vysoce toxický, a proto bylo toto rozpouštědlo zakázáno (Bockisch, 1998). V současné době se nejvíce provádí extrakce pomocí hexanu, který je velmi efektivním rozpouštědlem. Odstraňování zbytkového hexanu z pevného a extrahovaného oleje je však komplikované, a ne vždy účinné (Cerutti et al., 2012). Proto jsou využívána další alternativní organická rozpouštědla, jako je ethanol, terpeny (Panadare et Rathod, 2017), petrolether a methanol (Stratakos et Koidis, 2016). Alternativním rozpouštědlem může být také superkritický oxid uhličitý, který je šetrný k životnímu prostředí. Rostlinný olej tak získá vynikající kvalitu a ve výsledku neobsahuje žádná rezidua rozpouštědel (Pradhan et al., 2010). Podrobnější charakteristika jednotlivých rozpouštědel je uvedena v kapitole 3.1.2.1 a v tabulce 1 jsou uvedeny jejich hlavní parametry.

Bylo zjištěno, že kvalitativní vlastnosti rostlinných olejů ovlivňuje polarita rozpouštědel. Mezi polární rozpouštědla, která se využívají k extrakci rostlinných olejů mnohem méně než nepolární rozpouštědla, patří ethanol, aceton a ethylacetát. Mezi nepolární a účinnější rozpouštědla patří n-hexan, propan, petrolether, benzín a případně i chloroform. Tato rozpouštědla obsahují nepolární strukturu sloučenin, které jsou podobné olejům. Jsou tak kompatibilnější s procesy extrakce oleje díky jejich vysoké selektivní schopnosti rozpouštění a úplné těkavosti (Oladipo et Betiku, 2019). Rozpouštědla mohou mít významný vliv

na výsledné složení mastných kyselin v oleji, zejména na obsah olejové a palmitové kyseliny. Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem s alespoň jednou dvojnou vazbou, jako je olejová kyselina, mají nižší polaritu ve srovnání s jinými mastnými kyselinami. Při extrakci rozpouštědel s vyšší polaritou se extrahuje méně olejové kyseliny, zatímco při použití s nižší polaritou jsou výtěžky vyšší. V případě mastných kyselin se středním řetězcem, jako je palmitová kyselina, vykazují rozpouštědla s vysokou polaritou větší účinnost extrakce (Trentini et al., 2017).

Tabulka 1 *Vlastnosti vybraných rozpouštědel*

Rozpouštědlo	Vzorec	Polarita	Bod varu	Skupenství
Hexan	C ₆ H ₁₄	Nepolární	68 °C	Kapalina
Petrolether	-	Nepolární	40–60 °C	Kapalina
Dimethyl ether	CH ₃ OCH ₃	Částečně polární	-24 °C	Plyn
Propan	C ₃ H ₈	Nepolární	-43 °C	Plyn

3.1.2.1.1 Hexan

Hexan (C₆H₁₄) je alifatický uhlovodík. Jedná se o běžně používané nepolární organické rozpouštědlo s poměrně nízkými náklady na výrobu, zároveň jeho použití zaručuje vyšší výtěžnost oleje. Také má vynikající difuzivitu v buněčných stěnách olejnatých semen, vysokou rozpustnost v rostlinných olejích, nízkou rozpustnost ve vodě a nízkou teplotu varu (68 °C). Nicméně má i řadu nevýhod. Existuje poměrně vysoké riziko, že při kontaktu se vzduchem dojde k explozi, a proto je potřeba při extrakci hexanem věnovat zvýšenou pozornost pro konstrukci a provozování procesů (Hamm et al., 2013). Dále dochází k problémům s toxicitou ve zbytkové matici a extraktu, a proto se musí zbytkové množství ze získaného oleje oddestilovat. Při extrakcích rostlinných olejů se každoročně uvolňuje do ovzduší více než 20 milionů kg hexanu, a proto je považován za nebezpečnou látku znečišťující ovzduší (Conte et al., 2016).

3.1.2.1.2 Petrolether

Petrolether je těkavá nepochární organická sloučenina, která obsahuje směs alifatických uhlovodíků s nízkou molekulovou hmotností (většinou pentanů a hexanů) a s nízkým bodem varu (40–60 °C). Petrolether je jedním z nejčastěji používaných rozpouštědel v laboratořích. Běžně se používá jako rozpouštědlo pro oleje, tuky a vosky. Ve farmakologické laboratoři se uplatňuje při extrakci rostlinných materiálů (izolace sloučenin) a při chromatografické separaci. Toto rozpouštědlo může vést ke vzniku inhalační toxicity (Parasuraman et al., 2014), a proto musí být stopové množství petroletheru v konečném extraktu odstraněno, aby byla splněna přijatelnost pro spotřebitele. Jeho výroba je drahá, ale je účinnější než hexan, protože je více polární (Subramaniam et al., 2008).

3.1.2.1.3 Dimethyl ether

Dimethyl ether (CH_3OCH_3), jednoduchý ether s příznivým poměrem uhlík-kyslík, je při normálním tlaku bezbarvý plyn (Subratti et al., 2019)². Dimethyl ether (DME) má několik výhod, a proto je v současné době velmi používán jako aerosolový hnací plyn sloužící jako prekurzor pro jiné chemikálie. Má vysokou hodnotu cetanového čísla, čisté a účinné spalování, je snadno stlačitelný, šetrný k životnímu prostředí a jeho výroba je relativně levná. Vysoká mísitelnost s vodou umožňuje zkapalněný DME přímo aplikovat na vlhké suroviny, což vede ke značné úspoře energie, protože vzorky se nemusí předsušet. Na rozdíl od podobných etherů DME netvoří peroxidy a má nízký potenciál toxicity. Je mnohem bezpečnější než jiná využívaná organická rozpouštědla pro extrakci oleje a přibližně polovina použitého objemu může být snadno recyklována. DME se rychle odpařuje při pokojové teplotě a v oleji nezůstává žádné zbytkové množství rozpouštědla. Extrahovaný materiál je díky tomu potenciálně bezpečný pro spotřebu člověka. I když DME není toxický a neohrožuje životní prostředí, je důležité bezpečné zacházení. Při extrakci dochází k tzv. blowback efektu a kapénky dimethyl etheru jsou rozprašovány v okolí přístroje. Je nutné, aby extrakce vždy probíhala venku nebo v dobře větraném prostoru a mimo dosah otevřeného ohně (Subratti et al., 2019)¹.

Dimethyl ether je nejvíce využíván v potravinářském průmyslu jako extrakční rozpouštědlo při přípravě odtučněných bílkovinných potravin živočišného původu, zejména kolagenu a želatiny. Rezidua DME v konečném produktu nesmí překročit množství 3 mg/kg v kolagenu a 0,009 mg/kg v želatině (EFSA CEF Panel, 2015). Jeho schopnost působit jako

extrakční rozpouštědlo byla zkoumána při odstraňování proteinů a pigmentů získaných z rostlinných tkání, esenciálních olejů z citrusové kůry a lipidů z biomasy. DME byl např. využit jako zelené reakční rozpouštědlo při syntéze o-alkyltrichloracetimidátů, k extrakci konopného oleje (Subratti et al., 2019)² nebo při extrakci oleje černuchy seté. Výtěžky oleje u obou extrakcí byly mnohem vyšší než při použití jiných typických rozpouštědel (Subratti et al., 2019)¹.

3.1.2.1.4 Propan

Propan (C_3H_8) je nasycený uhlovodík a za normálních podmínek jde o bezbarvý hořlavý plyn bez zápachu. Při teplotě -43 °C a nižší se z něj stává kapalina. Propan se obvykle využívá jako rozpouštědlo pro extrakci rostlinných olejů za subkritických podmínek. Má vysokou solvatační schopnost triglyceridů, je relativně levný, netvoří toxický odpad a nezanechává žádné zbytky v konečném produktu. Extrakce pomocí propanu mohou probíhat při nízkém tlaku, a proto je vysoký výtěžek oleje získán během kratší doby. Dochází také k pozitivní změně barvy a ke snížení těkavých látek v oleji. Často se přidávají pomocná rozpouštědla v extrakcích prováděných v tlakovém médiu, aby se maximalizovala extrakce požadovaných sloučenin. Studie ukázala, že účinným pomocným rozpouštědlem je právě rostlinný olej. Extrakt tak obsahuje vyšší množství sloučenin rozpustných v tucích, jako jsou tokoferoly, fytoosteroly a karotenoidy (Cuco et al., 2019). Taková extrakce nabízí mnoho výhod, jako je vysoká rozpustnost triglyceridů, vyšší výtěžnost, krátká doba, použití menšího množství rozpouštědla a absence zbytků rozpouštědla v získaném oleji.

3.1.3 Superkritická fluidní extrakce (SFE)

Významným alternativním rozpouštědlem a extrakční technikou je i oxid uhličitý. Superkritický CO_2 (SC- CO_2) je jedním z nejběžnějších superkritických rozpouštědel. Superkritická fluidní extrakce se převážně využívá při extrakci cenných olejů pro kosmetické a farmaceutické účely (Lu et al., 2007). Výhodné vlastnosti SC- CO_2 zahrnují nízký kritický bod (kritická teplota $31,7\text{ °C}$ a kritický tlak kolem 7 MPa), netoxicitu, nehořlavost, nízkou cenu a vysokou selektivitu k nepolárním molekulám. Jeho rozpouštěcí vlastnosti se výrazně mění s malými změnami tlaku a teploty. Po uvolnění tlaku se rozpouštědlo snadno odděluje

od extraktu a okamžitě se vypařuje do atmosféry. V oleji tak nezůstávají žádné chemické a tepelné degradační sloučeniny ani zbytky SC-CO₂ (Benito-Román et al., 2018). Navíc následný rafinační krok – degumování může být zcela vynechán, protože fosfolipidy jsou prakticky nerozpustné ve stlačeném CO₂. Všechny tyto vlastnosti činí z SC-CO₂ potenciálně úspěšné rozpouštědlo pro extrakci rostlinných olejů. Získaný olej má vynikající kvalitu a výtěžky jsou srovnatelné s výtěžky získanými organickými rozpouštědly (Lu et al., 2007). Nevýhodou tohoto rozpouštědla může být jeho nepolárnost, která způsobuje nižší rozpustnost polárních látek. Pro účinnější extrakci polárních látek se přidávají různé modifikátory (např. ethanol, methanol, acetonitril). Při SFE může být obtížné optimalizovat vhodné podmínky pro získání oleje (Señoráns et Luna, 2012).

Byly provedeny studie, které se zabývaly průmyslovým použitím nadkritických tekutin u rostlinných olejů (kukuřičné plody, sója, bavlníkové vložky). Ukázalo se, že získaný produkt extrakcí SC-CO₂ je srovnatelný s extrakcí hexanem. Rostlinné oleje extrahované hexanem však vykazují lepší oxidační stabilitu, protože v oleji extrahovaném superkritickým oxidem uhličitým nejsou přítomny přírodní antioxidanty (fosfatidy) (Hadolin et al., 2001).

3.2 Složení rostlinných olejů

Rostlinné oleje představují komplexní směsi, jejichž hlavní a nejdůležitější nutriční složkou jsou triacylglyceroly (běžně označovány jako triglyceridy) (Indelicato et al., 2017). V menším množství je doprovází diacylglyceroly (diglyceridy), monoacylglyceroly (monoglyceridy), volné mastné kyseliny (Hamm et al., 2013), fytosteroly, tokoferoly, fenolické sloučeniny a těkavé organické sloučeniny (Gouilleux et al., 2017).

3.2.1 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou karboxylové kyseliny, které se od sebe liší délkou uhlovodíkového řetězce. Rozdělují se do čtyř skupin: mastné kyseliny s krátkým řetězcem s 0–6 uhlíky, mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem s 6–12 uhlíky, mastné kyseliny s dlouhým řetězcem s 12–20 uhlíky a mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem s více než 20 atomy uhlíku (Harris et al., 2019).

Mastné kyseliny lze klasifikovat i podle počtu dvojných vazeb. Kyseliny, které nemají žádné dvojně vazby, se nazývají nasycené (SFA). Mononenasycené mastné kyseliny (MUFA) obsahují jednu dvojnou vazbu a polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) mají dvě nebo více dvojných vazeb. Tyto vazby mají buď konfiguraci *cis* (nutričně významná), kterou obsahuje většina nenasyčených mastných kyselin ve stravě, nebo *trans* (Hamm et al., 2013). *Trans* izomery se od *cis* liší svými fyzikálními (především ve vyšších teplotách tání) a nežádoucími nutričními vlastnostmi. Nicméně pro člověka nejsou příliš vhodné ani nasycené mastné kyseliny, a proto se potravinářský průmysl snaží udržet jejich množství v potravinách na minimu (EFSA Panel, 2010). Naopak mezi nutričně významné kyseliny patří polynenasycené mastné kyseliny řady n-3 a n-6 (Hamm et al., 2013).

Je prokázáno, že SFA zvyšují hladinu lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL, špatný cholesterol) i hladinu lipoproteinů s vysokou hustotou (HDL, dobrý cholesterol), a proto snižují poměr celkového cholesterolu ku HDL cholesterolu. Naopak pozitivní účinky mají PUFA, které LDL cholesterol snižují. Je známo, že n-6 mastné kyseliny snižují celkový, LDL cholesterol, ale i HDL cholesterol, zatímco n-3 mastné kyseliny HDL cholesterol zvyšují. MUFA na LDL cholesterol nemají žádný vliv. *Trans* mastné kyseliny způsobují zvýšení celkového cholesterolu, ale i LDL cholesterolu. Ke zvýšení celkového cholesterolu a LDL cholesterolu také přispívá oxidace mastných kyselin, která je spojena s tvorbou volných radikálů. SFA a *trans* mastné kyseliny jsou vysoce stabilní vůči oxidačním procesům, zatímco MUFA jsou středně stabilní a nejvíce oxidaci podléhají PUFA (Saboo et al., 2019).

3.2.2 Fosfolipidy

Fosfolipidy tvoří speciální třídu lipidů. Skládají se z molekuly glycerolu substituované jednou nebo dvěma mastnými kyselinami a jedné další polární skupiny, jako je cholin (fosfatidylcholin nebo lecitin), ethanolamin, serin nebo inositol. Fosfolipidy jsou velmi polární a iontové. Řetězce mastných kyselin poskytují fosfolipidům hydrofobní vlastnosti, což je činí velmi užitečnými jako emulgátory (David et al., 2000).

Fosfolipidy patří mezi minoritní lipidové složky v rostlinných olejích. Tvoří velmi bohatý a různorodý soubor strukturních a biologicky významných lipidů. Navíc jsou hlavní složkou buněčných membrán, což ovlivňuje některé funkce buňky. Nejnovější výzkum také ukazuje, že fosfolipidy jsou dobrým zdrojem kyseliny arachidonové, která je prekurzorem

pro syntézu eikosanoidů. Obecně platí, že fosfolipidy mají vyšší biologickou aktivitu než lipidy triglyceridů (Gao et Wu, 2019).

Měření fosfolipidů je důležité při určování stability a kvality rostlinných olejů. Fosfolipidy jsou v oleji nežádoucí, jsou zodpovědné za zabarvení oleje během deodorizace a destilace páry. Ovlivňují stabilitu oleje chelatací kovových iontů, čímž zvyšují pravděpodobnost vzniku nežádoucích oxidačních procesů v oleji. Surový sójový olej např. obsahuje cca 2 % fosfolipidů, z nichž 90 % se odstraní hydratací během olejového degumování (Nzai et Proctor, 1998).

3.2.3 Vosky

Vosky přítomné v olejích se po chemické stránce řadí mezi estery. Nasycené vosky s krátkým řetězcem jsou obsaženy v ovocných olejích (hroznový). V semenném oleji (slunečnicový, sójový, arašídový) se vyskytují mononenasycené vosky (dříve „rozpuštěné estery“), estery nasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem a mononenasycený alkohol (zejména eikosenový alkohol) (Hénon et al., 2001).

Množství vosků se v surových olejích pohybuje v řádu od několika stovek do několika tisíc ppm. Pro zlepšení stability oleje za studena se musí obsah vosku snížit na úroveň ≤ 10 ppm. Koncentrace a složení vosků jsou důležitými parametry, které se používají pro ověřování kvality a falšování olejů. Vysoce kvalitní rostlinné oleje jsou často falšovány levnějšími oleji (např. přidání slunečnicového oleje do olivového oleje). Z množství vosků u olivového oleje lze určit, zda se jedná o olej extra panenský nebo získaný extrakcí rozpouštědlem, který obsahuje méně vosků (Nařízení Evropské unie č. 183/93) (Reiter et Lorbeer, 2001).

3.2.4 Vitamin E

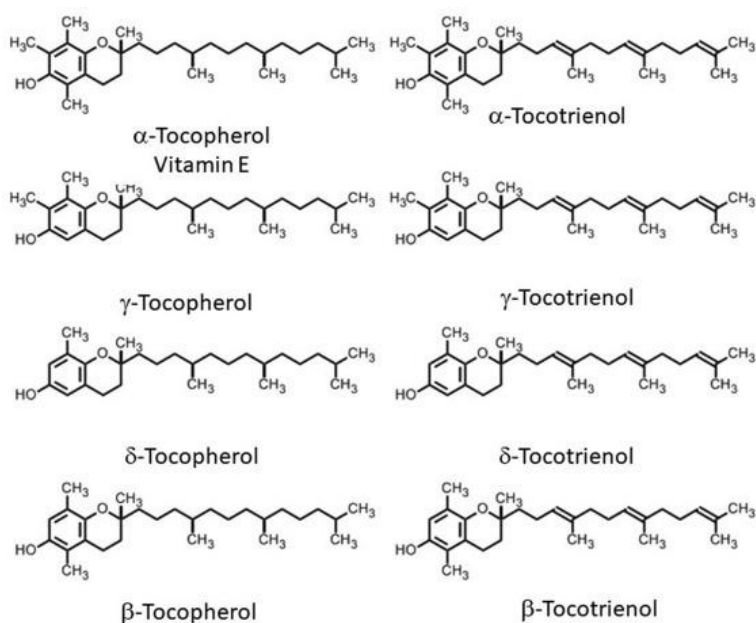
Vitamin E patří mezi nezbytné mikronutrienty pro člověka a zlepšuje jeho zdraví. Doporučená denní dávka vitaminu E se v různých zemích liší od 3 do 15 mg/den a závisí na věku člověka (Szymańska et al., 2020). Dosud nebyly popsány žádné nepříznivé účinky vitaminu E, a proto lze předpokládat, že jeho toxicita je velmi nízká. Rada pro potraviny a výživu v roce 2000 stanovila horní limit pro vitamin E, který může být pro dospělého člověka

až 1000 mg/den. Toto množství zahrnuje přírodní i syntetické formy (Järvinen et Erkkilä, 2016). Bylo zjištěno, že vitamin E chrání před lidským onemocněním ataxie (neurologický symptom naznačující dysfunkci části nervové soustavy zodpovědné za koordinaci pohybů). U této vzácné genetické poruchy byl pozorován závažný nedostatek vitaminu E (Azzi, 2019).

Hadolin a kolektiv (2001) tvrdí, že vitamin E působí primárně jako antioxidant, chrání tkáň těla před poškozujícími reakcemi (peroxidace), které vznikají z mnoha normálních metabolických procesů a exogenních toxických látek. Také uvádí, že přírodní vitamin E se lépe absorbuje v tělních tkáních a má vyšší biologickou aktivitu než syntetický vitamin E. Proto se neustále studuje izolace a koncentrace tokoferolů z rostlinných olejů (Hadolin et al., 2001), které jsou nejbohatšími zdroji vitaminu E. Nejvyšší obsah tokoferolů se nachází v oleji ze semen granátového jablka (247 mg/100 g oleje), v pšeničných klíčcích (225 mg/100 g oleje) a v malinovém oleji (195,6 mg/100 g) (Trela et Szymańska, 2019). V přirozeně konzumovaných přírodních potravinách (obiloviny, čerstvá zelenina, ovoce) a v živočišných produktech (maso, mléko, máslo, vejce, ryby) se tokoferoly vyskytují v menším množství (Järvinen et Erkkilä, 2016).

Z chemického hlediska vitamin E představuje skupinu osmi příbuzných izomerů, které se dělí na dvě skupiny tokoferolů a tokotrienolů rozpustné v tucích. Jejich strukturní vzorce jsou znázorněny na obrázku 1. Každá podskupina se skládá z α , β , γ a δ izomeru, které se liší v substituci methylu na chromanovém kruhu a ve stupni konjugace ve svém fytylovém postranním řetězci (Abu-Fayyad et Nazzal, 2017). Rozdíl mezi tokoferoly a tokotrienoly je v přítomnosti tří dvojných vazeb v postranním řetězci. Bylo zjištěno, že jednotlivé izomery se liší v biologické aktivitě (Azzi, 2019).

Obr. 1 Tokoferolové a tokotrienolové izomery (Azzi, 2019)



Tokoferoly a tokotrienoly jsou stabilní vůči teplu, kyselinám a alkalickým látkám, ale snadno se zničí ultrafialovým světlem (Hadolin et al., 2001). Piironen a kolektiv (1987) uvádí, že se tyto látky velmi snadno zničí oxidačními reakcemi, které nastávají převážně během přípravy pokrmů a jsou urychlovány vlivem světla, přítomností alkálií a kationtů, jako jsou Fe^{3+} a Cu^{2+} . Tokoferoly a tokotrienoly také velmi rychle degradují, pokud jsou v přítomnosti peroxidované lipidy (Piironen et al., 1987).

Nejrozšířenější formou vitamínu E je α -tokoferol, který se vyskytuje v zelených částech rostlin. Další běžnou formou je γ -tokoferol, který často dominuje v rostlinných semenných olejích. Oba izomery se nachází v kukuřičném, řepkovém a sójovém oleji (Szymańska et al., 2020).

Ve většině olejů se nachází i tokotrienoly, ale jejich obsah je mnohem nižší. Nejvyšší koncentrace tokotrienolů je v oleji z koriandru (75,5 mg/100 g oleje). V olejích je dále zastoupen plastochromanol-8 (derivát γ -tokotrienolu s delším postranním řetězcem), jehož nejvyšší množství obsahuje lněný olej (17,8 mg/100 g oleje) (Trela et Szymańska, 2019).

Předpokládá se, že hlavní biochemickou funkcí tokoferolu je jeho antioxidační aktivita. Antioxidační α -tokoferol brání šíření radikálových reakcí polynenasycených mastných kyselin v membránách a napomáhá chránit její celistvost. Podle *in vitro* studií vykazuje α -tokoferol

několik dalších důležitých biologických funkcí, včetně modulace buněčné signalizace a genové exprese (Järvinen et Erkkilä, 2016).

V *in vitro* studiích bylo prokázáno, že tokotrienoly mají pozitivní účinky proti rakovině (většinou v důsledku potlačení angiogeneze), kardiovaskulárním a neurodegenerativním onemocněním. Byla provedena studie, která ukázala, že α -tokotrienol je neuroprotektivní. Největší protirakovinné účinky projevují δ – a γ – tokotrienoly (Azzi, 2019).

3.3 Druhy rostlinných olejů

Existuje mnoho druhů rostlinných olejů, které se od sebe liší chutí, vůní, různým obsahem vitaminů a dalších látek a mají řadu využití. V současné době se na trhu objevují i netradiční rostlinné oleje, které se využívají převážně ve studené kuchyni. Bylo zjištěno, že tyto oleje jsou bohaté na bioaktivní sloučeniny, jako jsou tokoferoly, skvalen, karotenoidy, fytosteroly a fenolické sloučeniny. Ukázalo se, že vysoké hladiny těchto látek příznivě působí na lidské zdraví (Keskin Çavdar, 2019).

3.3.1 Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum* L.)

Ostropestřec mariánský je jednoletá nebo dvouletá rostlina z čeledi hvězdnicovité (*Asteraceae*) pocházející ze Středomoří, která se rozšířila do teplých a suchých oblastí. Dosahuje výšky 60-150 cm a má velké bodlinate listy s výraznými bílými žilkami. Purpurové květy jsou zakončeny bílou korunní trubkou (Hadolin et al., 2001).

Semena ostropestřce obsahují 20–25 % množství oleje a převážně silymarinové sloučeniny, jejichž aktivní složku tvoří směs flavonolignanů, z nichž hlavní je silybin (zejména silybin A a silybin B) (Çelik et Gürü, 2015). Ostropestřecový olej dále obsahuje esenciální mastné kyseliny (zejména linolová 47,64–66,70 % a olejová kyselina 19,68–24,83 %), steroly, fosfolipidy a velké množství vitaminu E (290 mg/kg) (Afshar et al., 2014). Analýza složení tokoferolů ukázala hlavní složky, kterými jsou α – tokoferol (234 mg/kg) a γ – tokoferol (56 mg/kg) (Ciocarlan et al., 2018). Množství mastných kyselin ostropestřecového oleje je shrnuto v tabulce 2.

Uvádí se, že semena se obvykle extrahují petroletherem (Subramaniam et al., 2008). Nicméně byla provedena i superkritická fluidní extrakce (optimální teplota 60 °C a tlak

200 barů), při které byl získán relativně vysoký výtěžek (19 %) a obsah vitamínu E byl 0,08 % (Hadolin et al., 2001).

Extrahovaný olej je svým složením podobný slunečnicovému oleji a mohl by být použit jako samostatný kuchyňský olej. Doporučuje se ho však smíchat s jinými rostlinnými oleji, zejména s nasycenými, aby se zlepšila jejich nutriční hodnota (Fathi-Achachlouei et Azadmard-Damirchi, 2009). Ostropestřec mariánský se využívá především v tradiční evropské a asijské medicíně, zejména při léčbě jaterních onemocnění (Hadolin et al., 2001). Silymarinové látky jsou známé jako antioxidanty a používají se k léčbě rakoviny, jater, ledvin, srdce, mozku a otravy alkoholem, drogami nebo toxiny (Çelik et Gürü, 2015). Vilahur a kolektiv (2018) předpokládají, že tyto látky jsou také antifibrotické a protizánětlivé. Jejich experiment ukázal, že dlouhodobé podávání silybinu chránilo potkany před rakovinou a ischemií v různých orgánech (Vilahur et al., 2018).

3.3.2 Světlice barvířská (*Carthamus tinctorius* L.)

Světlice barvířská je jednoletá rostlina patřící do čeledi *Asteraceae*. Je dobře přizpůsobena polosuchým podmínkám v tropických a subtropických oblastech (Fan et Guo, 2013). Intenzivně se pěstuje v Indii, Číně, USA, Mexiku a Turecku (Han et al., 2009). Bylina s oranžovými až červenými květy a dlouhými ostny na listech dorůstá až 150 cm (Dajue et Mündel, 1996).

Světlice barvířská patří mezi důležité druhy olejnatých plodin, protože její semena obsahují 27–32 % oleje, přičemž linolové kyseliny je 70–87 % (Han et al., 2009). Conte a kolektiv (2016) však tvrdí, že obsah olejové (11 %) a linolové kyseliny ve světlicovém oleji se výrazně mění v závislosti na použité metodě extrakce (Conte et al., 2016). Mezi její další mastné kyseliny patří palmitová (7,59 %) a stearová kyselina (2,42 %). Světlicový olej je také bohatým zdrojem vitamínu E (530 mg/kg) (Conte et al., 2016). Světlicový olej obsahuje převážně α – tokoferol (449 mg/kg), následuje γ – tokoferol (26 mg/kg), β – tokoferol (12 mg/kg) a δ – tokoferol (6 mg/kg) (Bozan et Temelli, 2008). Množství mastných kyselin světlicového oleje je shrnuto v tabulce 2.

Konvenční průmyslové způsoby výroby světlice barvířské zahrnují běžnou extrakci rozpouštědlem a lisováním. Nicméně extrakce rozpouštědlem může kontaminovat olej a lisování může způsobit tepelnou degradaci aktivních složek (vitamin E a další bioaktivní

látky). Bylo zjištěno, že nejlepší alternativní metodou extrakce je superkritická fluidní extrakce CO₂. Tato metoda poskytuje olej s mnohem vyšší kvalitou než běžné metody (Han et al., 2009).

Světlice barvířská je široce využívána v potravinářském průmyslu jako olej na vaření, salátový dressing, margarín a barviva. Uvádí se, že olej má antikoagulační, protinádorový, antihypertenzní, antioxidační a neuroprotektivní účinky. Dále chrání játra a inhibuje produkci melaninu (Conte et al., 2016). Han a kolektiv (2009) tvrdí, že světlicový olej je vynikajícím produktem pro léčbu hyperlipémie, arteriosklerózy a koronárních onemocnění srdce. V poslední době tento olej získává stále větší pozornost (Han et al., 2009).

3.3.3 Tykev obecná (*Cucurbita pepo* L.)

Tykev obecná neboli lidově dýně obecná patří do čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*). Pěstuje se v tropech a v aridních oblastech. Jedná se o dvouletou rostlinu, jejíž silné stonky s větvenými úponky dorůstají až do 5 m. Má většinou kruhové listy, velké žluté květy a kulaté plody vážící až 45 kg (Marie-Magdeleine et al., 2011).

Dýňová semena jsou bohatým zdrojem mastných kyselin a bílkovin. Tykev obsahuje převážně palmitovou (9,5–14,5 %), stearovou (3,1–7,4 %), olejovou (21,0–46,9 %) a linolovou kyselinu (35,6–60,8 %). V dýňovém oleji se nachází vysoké množství α - tokoferolu (18 a 282 mg/kg) a γ -tokoferolu (do 800 mg/kg) (Potočník et al., 2018). Množství mastných kyselin dýňového oleje je shrnuto v tabulce 2.

Většina dýňových olejů není rafinována, a proto proces výroby dýňového oleje vyžaduje krok pražení, během kterého jsou semena dýně vystavena po dobu až 60 minut teplotám 110 °C. Tento krok je nezbytný pro získání požadované vůně a zlepšení separace frakcí lipidů lisováním. Pražení také ovlivňuje změnu složení oleje (Potočník et al., 2018). V literatuře lze nalézt řadu zpráv popisujících použití různých metod pro extrakci oleje ze semen různých druhů dýně. Mezi tyto metody patří extrakce nadkritickou tekutinou, vodná enzymatická extrakce za pomoci mikrovlnné trouby, extrakce mechanickým lisováním a extrakce organickým rozpouštědlem (Can-Cauich et al., 2019). Bylo zjištěno, že tradiční způsoby extrakce mohou mít negativní vliv na obsah biologicky aktivních látek. Např. polynenasycené mastné kyseliny mohou být degradovány v důsledku dlouhodobého vystavení vysokým teplotám (degradaci látek lze zabránit pomocí ultrazvukových vln). Triglyceridy mohou být hydrolyzovány na volné mastné kyseliny, a proto dochází k tzv. hydrolytickému žluknutí. Triglyceridy a volné mastné

kyseliny mohou být vlivem oxidace přeměněny na těkavé sloučeniny, které ovlivňují vývoj pachů a netěkavých sloučenin. Následně dochází i k ovlivnění chutě (Hernández-Santos et al., 2016).

Dýňová semena mají velký potenciál pro použití v potravinářském průmyslu (např. jako doplněk stravy). V Mexiku se dýňová semena používají při výrobě svačinek (pražená semena) nebo jako ingredience při přípravě tradičních jídel (Hernández-Santos et al., 2016). V zemích, jako je Slovinsko, Maďarsko, Chorvatsko a jih Ruska, se však dýňová semena používají hlavně pro výrobu oleje. Díky své barvě, silné vůni a složení mastných kyselin se olej nepoužívá k vaření, ale jako tzv. „studené koření“ (zálivkový salát). Olej může sloužit k prevenci onemocnění prostaty a inhibici progresu hypertenze, artritidy a ledvinových kamenů (Potočník et al., 2018).

3.3.4 Černucha setá (*Nigella sativa* L.)

Černucha setá je jednoletá kvetoucí bylina z čeledi pryskyřníkovité (*Ranunculaceae*) a obvykle roste ve východní Evropě, na Středním východě a v západní Asii. Jedná se o malý keř, který má zúžené zelené listy a růžové, bílé nebo purpurové květy. Jeho zralé ovoce obsahuje drobná semena tmavě černé barvy (Aljabre et al., 2015).

Rostlinný olej obsahuje 11 mastných kyselin. V oleji se nejvíce vyskytuje linolová (59 %), olejová (27,7 %), palmitová (11,9 – 13,1 %) a stearová kyselina (2,3 – 3,25 %). Další mastnou kyselinou je například myristová, heptadekanová, arachidová a v menším množství je přítomná i linolenová kyselina (Saxena et al., 2017). Semena černuchy obsahují také bílkoviny (26,7 %), tuk (28,5 %), sacharidy (24,9 %), surovou vlákninu (8,4 %) a některé vitaminy (např. vitamin E v rozsahu 90–250 mg/g oleje) a minerální látky (Darand et al., 2019). Bylo zjištěno, že olej z černuchy obsahuje největší množství γ -tokoferolu v rozmezí 8,57 – 34, 23 mg/kg. Naopak nejméně se vyskytuje δ – tokoferol (1,8 mg/kg), a to zejména při extrakci rozpouštědlem (Kiralan et al., 2014). Množství mastných kyselin oleje z černuchy seté je shrnuto v tabulce 2. Mezi další významné látky patří tymochinon, fenolové sloučeniny a další bioaktivní látky rozpustné v tucích (Mohammed et al., 2017). Farmakologicky účinné látky jsou nigellicin, nigellidin, dithymoquinon, thymohydrochinon, nigellon, steryl-glukosid, flavonoidy, esenciální aminokyseliny, askorbová kyselina, železo a vápník (Al-Seeni et al., 2018).

Bylo zjištěno, že olej extrahovaný pomocí SFE měl ve srovnání s jinými extrakčními metodami vysokou koncentraci účinné látky thymochinonu (Mohammed et al., 2017). Další studie se věnovala extrakci pomocí bezšroubového lisu za studena a extrakci rozpouštědlem. Výsledky obou metod byly odlišné, protože výtěžek za studena lisovaného oleje byl nižší ve srovnání s olejem extrahovaným rozpouštědlem (Gharby et al., 2015).

Semena černuchy seté se používají v potravinářském i farmakologickém průmyslu v mnoha zemích včetně Indie, Egypta a Sýrie. Přípravují se z nich tradiční sladké pokrmy složené z černé kmínové pasty, která je nasycena medem nebo sirupem. Slouží i k ochucování pekařských výrobků a sýrů a k výrobě oleje (Takruri et Dameh, 1998). Al-Seeni a kolektiv (2018) provedli studii s olejem z černuchy seté, ve které prokázali, že má cytoprotektivní, protizánětlivé a antioxidační účinky. Dále zjistili, že snižuje i celkové sérové lipidy, tělesnou hmotnost a plazmatickou glukózu nalačno. Ukázalo se, že olej má ochranné účinky na ledviny, játra a strukturu žaludku, a navíc chrání před toxicitou tartrazinu (Al-Seeni et al., 2018).

3.3.5 Mák setý (*Papaver somniferum* L.)

Mák setý z čeledi makovité (*Papaveraceae*) se pěstuje v oblastech, kde jsou horká léta a mírné deště (Tanzanie a oblast od Bombaje po Moskvu). Jedná se o rostlinu, která dorůstá do výšky až 100 cm. Vyznačuje se šedozelenými listy, které jsou společně se stonkem částečně pokryty hrubými chloupky (Muhammad et al., 2019). Dlouhá historie domestikace a šlechtění máku setého vedla k rozvoji několika různých odrůd a kultivarů přizpůsobených různým účelům a klimatickým podmínkám (Krist et al., 2005).

Mák se vyskytuje v různých odrůdách (např. modrý, bílý a žlutý), mezi kterými existují významné rozdíly v obsahu oleje i ve složení (Ghafoor et al., 2019). Bílá odrůda obsahuje 40 % oleje a modrá pouze 33 %. V makovém oleji se nachází laurová (0-13,4 %), palmitová (7,8-30,66 %), myristová (0-1,1 %), stearová (1,4-10,9 %), olejová (13,2-36,8 %), linolová (18,4-80,0 %) a linolenová kyselina (stopa - 9,4 %) (Krist et al., 2005). Studie ukazují, že obsah tokoferolů a tokotrienolů v olejích extrahovaných SFE se pohybuje od 223,7 do 333,5 mg/kg, což je vyšší než u oleje extrahovaného petroletherem (15,28 mg/kg) (Bozan et Temelli, 2003). Množství mastných kyselin makového oleje je shrnuto v tabulce 2. Bylo zjištěno, že γ -tokoferol je hlavní složkou (309 mg/kg) makového oleje. Sekundární metabolity korelující s antioxidační aktivitou jsou důležité fenolické sloučeniny v různých částech rostliny (Ghafoor et al., 2019).

Olej z máku se většinou extrahuje ručním lisováním při pokojové teplotě a extrakcí pomocí superkritického CO₂ (Krist et al., 2005). Byla provedena studie, kde se makový olej extrahoval pomocí superkritické fluidní extrakce s oxidem uhličitým, přičemž bylo získáno 38,7 g oleje/100 g semen. Takto získaný olej měl podobné složení jako při extrakci petroletherem (p > 0,05) s největším množstvím linolové kyseliny (Bozan et Temelli, 2003).

Hlavním cílem pěstování máku v různých zemích je produkce opia a výroba vysoce kvalitního a chutného oleje. Díky vysokému obsahu polynenasycených mastných kyselin je vhodný pro lidskou výživu. Často se používá k vaření (hlavně v Turecku), k výrobě barev, jedlých obalů, aromatických přípravků, ozdobných předmětů a k výrobě kosmetiky. Také nachází využití v cukrářských a pekárenských výrobcích (Ghafoor et al., 2019). Maková semena mají analgetickou účinnost a v současné době se používají jako pomocná látka pro farmaceutickou a léčivou diagnostiku (adjuvans pro sonografii, hysterosalpingografii a angiografii). Makový olej přináší určité zdravotní přínosy, jako je například snížení hladiny cholesterolu v krvi, udržuje imunitní systém a zpožďuje patogenezi různých degenerativních onemocnění. Olej z máku se také používá jako nosič kancerostatik při léčbě hepatocelulárního karcinomu a jako nosič cyklosporinu A po transplantaci orgánů. Jodový olej z máku lze využít ke korekci nedostatku jódu (Krist et al., 2005).

Tabulka 2 Zastoupení mastných kyselin (% hmotn.) a celkový obsah tokoferolů (mg/100 g oleje)

	Myristová (14:0)	Palmitová (16:0)	Stearová (18:0)	Olejová (18:1)	Linolová (18:2)	Linolenová (18:3)	Σ tokoferolů
Ostropestřec	0,07	9–11	6–9	20–25	48–67	0,5	29
Světlice	0,13	7–8	2	10–11	70–87	-	53
Tykev	0,08	9–14	3–7	21–47	35–61	0,26	26–45
Černucha	0,1	11	3,2	28	59	0,5	9–25
Mák	0–1	7,8–30,66	1,4–10,9	13,2–36,8	18,4–80	0–9,4	27–30

4 Materiál a metodika

Olej z vybraných rostlin byl získán pomocí lisování, extrakcí dimethyl etherem a superkritickou fluidní extrakcí. Následně byl pomocí plynové a kapalinové chromatografie analyzován obsah a složení mastných kyselin a dalších látek. Dále byla porovnána výtěžnost a barva oleje.

4.1 Rostlinný materiál

K pokusu byla využita semena černuchy seté, která byla zakoupena na trhu v Turecku. Semena světlíce barvířské a ostropestřce mariánského byla získána z polních pokusů (2018) výzkumné stanice katedry rostlinné výroby FAPPZ ČZU v Praze se sídlem Praha-Uhřetěves. Semena máku setého mletého a tykve obecné byla zakoupena v obchodě Grizly, přičemž mák pocházel z České republiky a tykev ze Slovenské republiky.

K získávání olejů byly využity tři extrakční metody – extrakce dimethyl etherem (DME), superkritická fluidní extrakce pomocí CO₂ (SFE) a mechanické lisování. U získaných olejů byla hodnocena výtěžnost a jejich barva, obsah vitamínu E, množství a složení mastných kyselin a také bylo stanoveno číslo kyselosti. Všechny pokusy proběhly ve třech nezávislých opakováních.

4.2 Příprava rostlinného materiálu pro extrakci

Pro extrakci oleje pomocí DME a SFE byla semena homogenizována pomocí elektrického mlýnku (IKA A 11 basic, DE) (obr. 2). K lisování byla použita celá semena, která byla těsně před lisováním kondicionována.



Obr. 2 Homogenizovaná směs ostropestřce, světlice a černuchy

4.2.1 Extrakce dimethyl etherem (DME)

K extrakci DME byl použit extraktor Dexso Oil extraktor, CH (obr. 3). Do prázdné kolony byl nasypán zhomogenizovaný vzorek o hmotnosti 100 g.



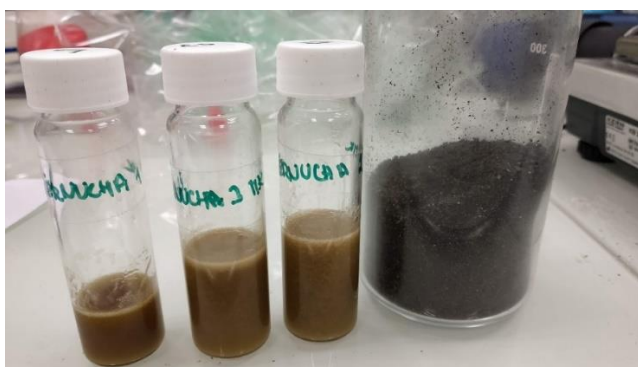
Obr. 3 Dexso Oil extraktor (<http://www.growcenter-noord.nl>)

Poté byl do extraktoru vpuštěn dimethyl ether v 99,9% čistotě ze zásobní lahve Dexso Organic Degreaser (1x 500 ml) (viz obr. 4) a následně byl změřen a zaznamenán extrakční čas.



Obr. 4 *Extrakce dimethyl etherem*

Z extrahovaného oleje bylo potřeba odpařit zbylý dimethyl ether. Kádinka s extraktem proto byla umístěna na magnetické míchadlo s ohřevem nastaveným na teplotu 25 °C, obsah kádinky byl míchán do doby úplného odpaření DME. Získaný olej (obr. 5) byl do dalšího použití skladován při teplotě - 20 °C.



Obr. 5 *Vyextrahovaný olej černuchy seté*

4.3 Superkritická fluidní extrakce (SFE)

K extrakci SFE byl použit přístroj SFE-Helix od společnosti Applied Separations, USA (obr. 6). Nejprve byla připravena extrakční patrona s homogenizovaným vzorkem (cca 30 g)

a vatou. Spodní i horní část patrony byla uzavřena fritou a šroubovací koncovkou. Extrakční parametry jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3 *Optimální podmínky pro SFE*

Tlak CO ₂ a v patroně [Bar]	Průtok CO ₂ / min [L]	Vnitřní teplota [°C]	Teplota CO ₂ [°C]	Teplota patrony [°C]	Teplota výstupu (MMV) [°C]	Doba extrakce [min]
400	6	20	40	40	120	10–15



Obr. 6 *Extrakce SFE*

4.4 Lisování

K mechanickému lisování za studena byl využit hydraulický lisovací stroj od společnosti TEMPOS, CZ (obr. 7). Pro zlepšení lisovatelnosti a dosažení vyšší výtěžnosti oleje bylo nejprve 100 g olejnatých nehomogenizovaných semen (kromě mletého máku) kondicionováno v sušárně (50 °C). Následně proběhlo lisování při síle 200 kN a při teplotě 40 °C. Po 10–15 minutách byl získaný olej se zbylými pokrutinami zvážen a vyextrahovaný olej byl do dalšího zpracování skladován v mrazáku při teplotě -20 °C.



Obr. 7 *Extrakce mechanickým lisováním*

4.5 Příprava vzorků pro měření obsahu vitamínu E pomocí kapalinové chromatografie

Do 10 ml odměrné baňky bylo naváženo 100 mg vyextrahovaného oleje a následně byla baňka doplněna po rysku isopropanolem ($\geq 99,9\%$, PESTINORM® Supra Trace od firmy VWR) a uzavřena zátkou. Vzorek byl protřepán a vložen na 10 minut do ultrazvukové lázně (Bandelin sonorex digitec, DE) (obr. 8). Získaný alikvot 1,5 ml byl pomocí injekční stříkačky filtrován přes nylonový PTFE filtr ($0,45 \mu\text{m}$) do 2 ml mikrozkušavky (vialky). Vzorek byl do další analýzy skladován v chladničce při teplotě $4 \text{ }^\circ\text{C}$.



Obr. 8 Ultrazvuková lázeň

4.5.1 Podmínky analýzy stanovení vitamínu E

Analýza byla provedena za použití systému Ultimate 3000 HPLC (Thermo Fisher Scientific, Dionex, Sunnyvale, CA, USA) připojeného k fluorescenčnímu detektoru Ultimate 3000 RS. Analyty byly separovány isokratickou elucí na analytické koloně Develosil 5 μ RP AQUEOUS (250 mm x 4,6 mm; Phenomenex, Torrance, CA, USA) vybavené předkolonou ZORBAX SB-C18 (12,5 mm x 4,6 mm, 5 μ m; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Mobilní fáze sestávala z methanolu (Sigma Aldrich, CZ) a deionizované vody (97:3, obj./obj.). Provozní podmínky byly následující: průtok 1 ml/min; čas analýzy 33 min; teplota kolony 30 °C; teplota autosampleru 20 °C; vstřikovací objem 10 μ l; detekce FLD při 292 nm (excitace) a 330 nm (emise). Jednotlivé tokoly byly identifikovány porovnáním retenčních časů a emisních spekter s analytickými standardy. Kvantifikace byla založena na ploše píku a externí kalibraci (koncentrační rozmezí 0,025-50 μ g/ml na analyt; 10-bodová kalibrace). Obsah tokolů byl vyjádřen jako průměrná hodnota ze tří opakování.

4.6 Příprava vzorků pro měření obsahu mastných kyselin (derivatizace)

Pro stanovení mastných kyselin v testovaných olejích byla nejprve provedena derivatizace pomocí alkalické transmethylace. Do 10 ml odměrné baňky bylo odpipetováno 50 μ l oleje, který byl rozpuštěn v 1 ml analyticky čistém petroletheru (Penta, CZ). Poté byl

přidán 1 ml analyticky čistého 0,4 M hydridu sodného (Sigma Aldrich, CZ) rozpuštěného v methanolu (VWR, CZ). Po 20 minutách byla odměrná baňka naplněna destilovanou vodou, roztok byl intenzivně protřepán, zavičkován a ponechán při pokojové teplotě po dobu 24 hodin. Alikvot 50 μ l výsledné vrstvy petroletheru byl dále zředěn v 950 μ l analyticky čistém n-hexanu (VWR, CZ) a analyzován pomocí plynové chromatografie s plamenově ionizačním (GC-FID) a hmotnostním detektorem (GC-MS).

4.6.1 Podmínky analýzy stanovení MK

Kvantitativní analýza mastných kyselin byla provedena na přístroji GC-FID (Agilent, Santa Clara, USA), zatímco kvalitativní analýza proběhla za stejných chromatografických podmínek na přístroji GC-MS (Agilent, Santa Clara, USA). Separace mastných kyselin byla provedena na koloně Rt-2560 (100 metrů, 0,25 mm i.d., 0,2 μ m; Restek, Lisses, Francie). Teplota nástřiku byla nastavena na 225 °C, objem nastříkovaného vzorku byl 1 μ l v režimu split (1:50). Jako nosný plyn bylo použito helium (1,2 ml/min). Počáteční teplota pece byla nastavena na 70 °C (udržování 2 min), poté se zvýšila na 225 °C rychlostí 5 °C/min. Tato teplota se udržovala 9 min a poté se zvýšila na 240 °C rychlostí 10 °C/min a udržovala se po dobu 6,5 min (celkový proces trval 45,5 min). Průtoky plynů FID byly nastaveny na následující hodnoty: H₂: 30 ml/min, vzduch: 400 ml/min a doplňovací tok: 30 ml/min. Teplota detektoru byla nastavena na 260 °C.

Přístroj GC-MS měl pec 7890 A s hmotnostním spektrometrem typu 5975C. Teplota zdroje iontů a kvadrupólu byla 230 °C, respektive 150 °C. Hmotnostní spektra byla získána ve skenovacím režimu (rozsah: 40–400 m / z) a byla identifikována pomocí hmotnostní spektrální knihovny NIST (Národní institut pro standardy a technologie) ver. 2.0fa dále s porovnáním spekter 37 dostupných standardů (FAME mix, Supelco, CZ).

4.7 Stanovení čísla kyselosti

Číslo kyselosti je ukazatelem obsahu volných mastných kyselin v tuku. Vyjadřuje se jako množství hydroxidu draselného v miligramech, které je potřeba k neutralizaci volných mastných kyselin obsažených v 1 g tuku (Zhou et al., 2019).

Rostlinný olej byl navážen do titrační baňky podle umožňujícího množství (0,5 – 4 g). Následně byl připraven neutralizovaný ethanol (96% potravinářský ethanol – Penta, CZ) vytemperovaný na 60–65 °C ve vodní lázni. K neutralizaci ethanolu bylo potřeba přidat 2 kapky roztoku fenolftaleinu (1%) a 2 kapky 0,1 M KOH (Penta, CZ) až do světle růžového zbarvení, které zůstalo po dobu 15–30 s. Podle navážky rostlinného oleje byl přidán požadovaný obsah neutralizovaného přehřátého ethanolu (10 – 50 ml) a 0,5 ml fenolftaleinu. Vzorek byl lehce zamíchán a ihned titrován odměrným roztokem hydroxidu draselného, přičemž jeho molární koncentrace byla 0,01 M nebo 0,1 M v závislosti na množství oleje. Titrovalo se do růžovofialového zbarvení stálého 30 s. Spotřeba KOH se pohybovala v rozmezí 6–25 ml. Stanovení každého vzorku se provedlo ve dvou opakováních.

4.8 Stanovení sušiny

Homogenizovaná semena rostlin o hmotnosti 3-5 g byla umístěna na 24 hodin do sušárny (Memmert GmbH, DE) se stálým prouděním vzduchu. Semena byla sušena při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti. Po vychladnutí v exikátoru byl vzorek opět zvážen na základě rozdílu hmotností před a po vysušení byla vypočítána jeho vlhkost.

4.9. Statistické vyhodnocení dat

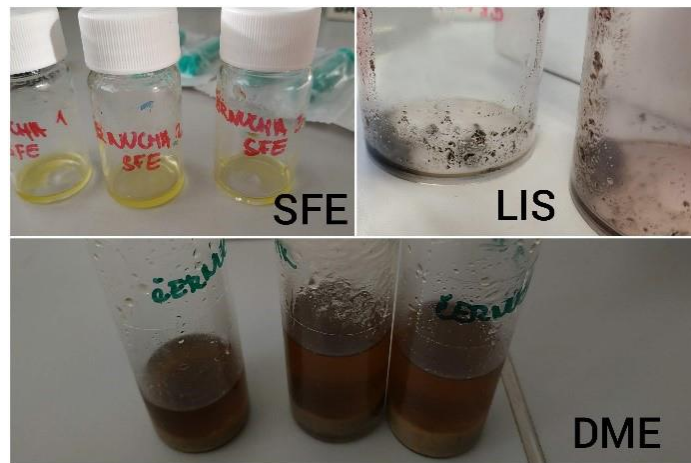
Výsledná data byla vyhodnocena pomocí programu Statistica (výrobce StatSoft, verze 12), kde se nejprve udělal test normality. Pokud bylo zjištěno, že soubor dat je v normálním rozdělení, byla použita metoda analýzy rozptylu ANOVA a následně Tukeyův test. V případě zamítnutí normality byla využita neparametrická statistika (Kruskal Wallisův test) a následně byl použit test vícenásobného porovnání p hodnot.

5 Výsledky

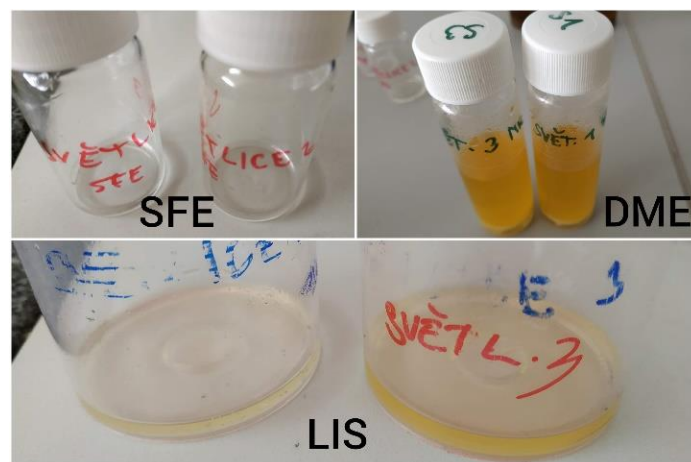
5.1 Barva testovaných olejů

Z výsledků je patrné (obr. 9–13), že různé extrakční metody měly vliv na barvu jednotlivých olejů. Nejsvětlejší barva byla u olejů extrahovaných pomocí SFE a u extrakce

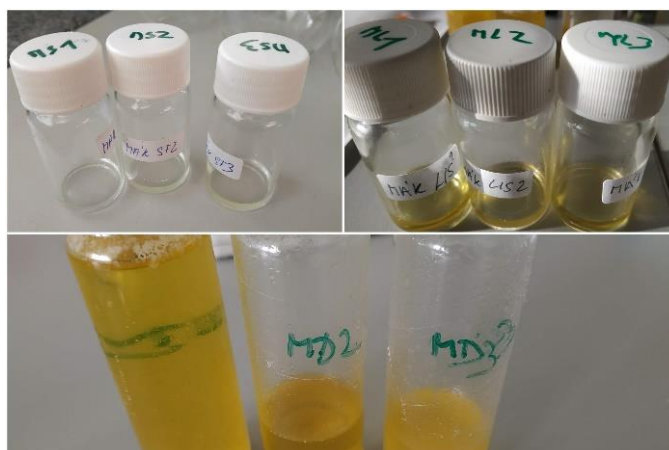
pomocí DME byla barva nejtmavší. Téměř u všech olejů převažovala světle až tmavě žlutá barva. Výjimkou byla černucha setá s hnědou barvou a tykev obecná s tmavě zelenou barvou.



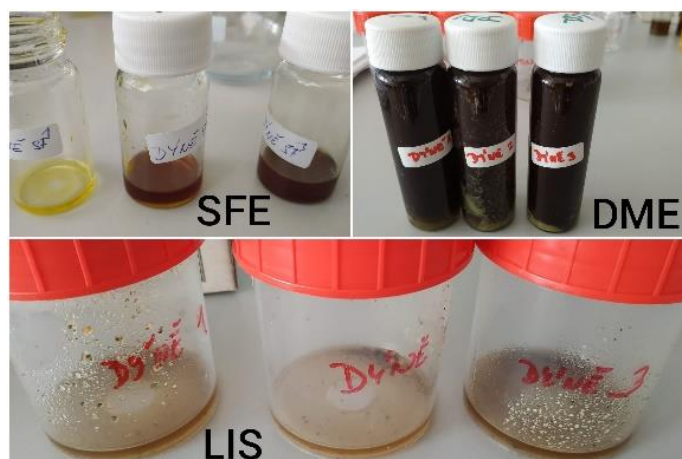
Obr. 9 Barva extrahovaného oleje z černuchy seté



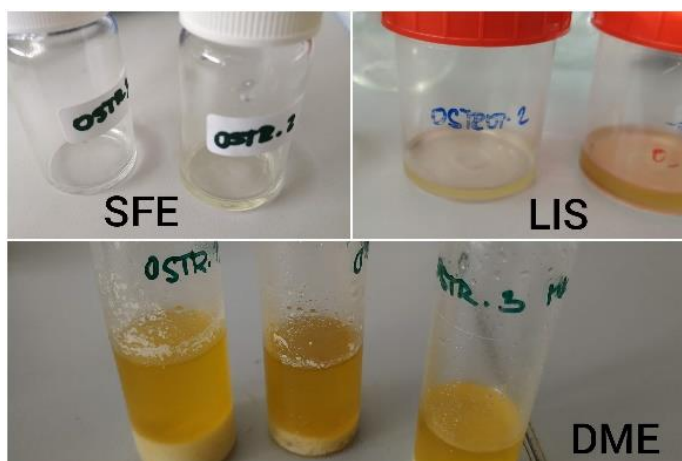
Obr. 10 Barva extrahovaného oleje ze světlice barvířské



Obr. 11 Barva extrahovaného oleje z máku setého



Obr. 12 Barva extrahovaného oleje z tykve obecné

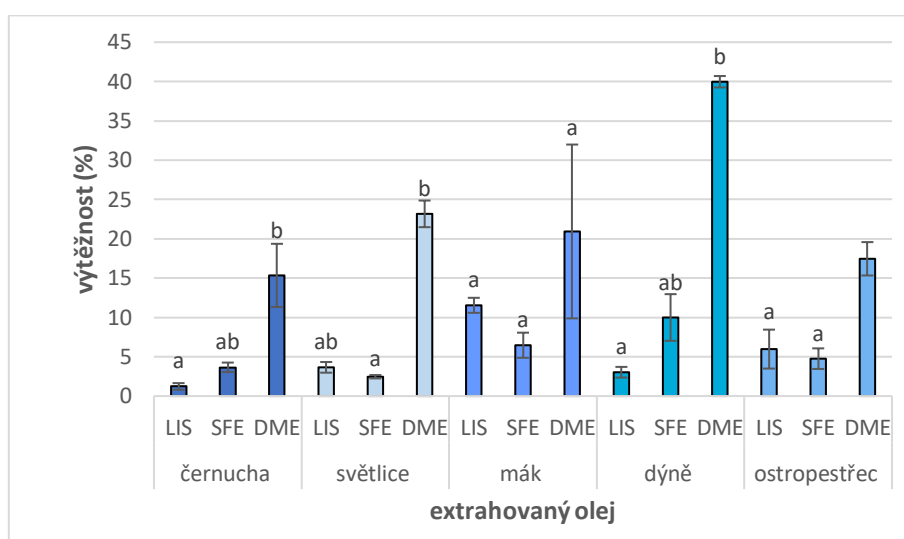


Obr. 13 Barva extrahovaného oleje z ostropestřce mariánského

5.2 Výtěžnost testovaných olejů

V grafu 1 je znázorněna průměrná výtěžnost rostlinných olejů získaných třemi různými způsoby extrakce. Výsledky jsou vyjádřeny v %. Z grafu je zřejmé, že nejvyšší výtěžnost rostlinných olejů poskytovala extrakce DME, přičemž nejvyšší výtěžek byl dosažen u dýňového oleje ($39,97 \pm 0,73$ %). Naopak nejnižší výtěžnost byla při lisování oleje z černuchy seté ($1,22 \pm 0,42$ %). Z výsledků analýzy lze konstatovat, že mezi lisováním a SFE neexistovaly statisticky významné rozdíly.

Graf 1 Výtěžnost rostlinných olejů (%)



***Použité zkratky v grafu:** LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem

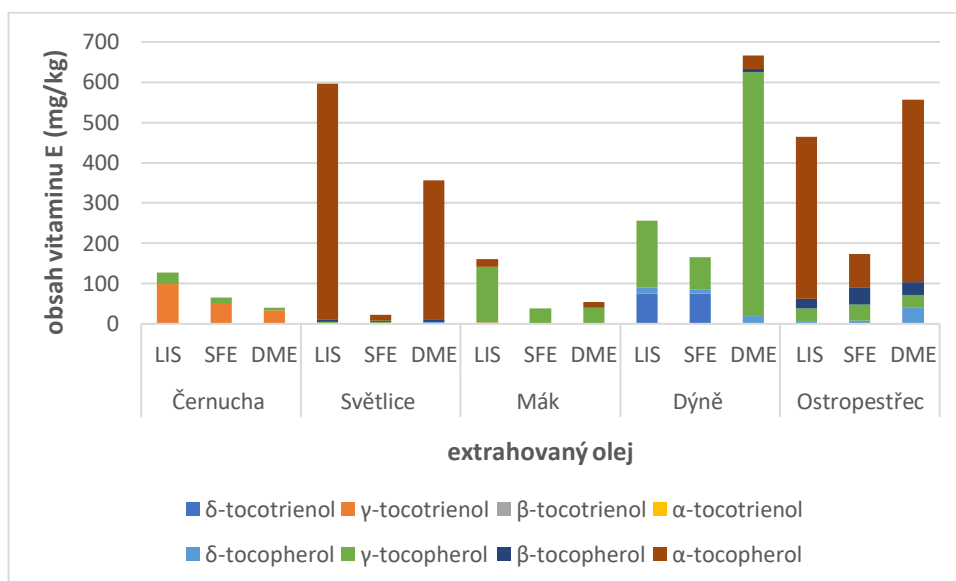
Stejná písmena (a,b) vyjadřují statisticky nevýznamný rozdíl ve výtěžnosti rostlinných olejů v rámci jednotlivých plodin v závislosti na extrakci na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

5.3 Obsah vitamínu E

Ze souhrnného grafu 2 lze vidět, že každý rostlinný olej měl odlišné složení tokoferolů a tokotrienolů. Nejvyšší množství všech tokoferolů bylo zjištěno při extrakci pomocí DME v dýňovém oleji ($666,31$ mg/kg), kde dominoval γ -tokoferol ($605,08 \pm 132,68$ mg/kg). Nejnižší obsah všech tokoferolů ($5,29 \pm 2,40$ mg/kg) obsahoval olej z černuchy seté extrahovaný pomocí DME, kde byl nalezen pouze γ -tokoferol.

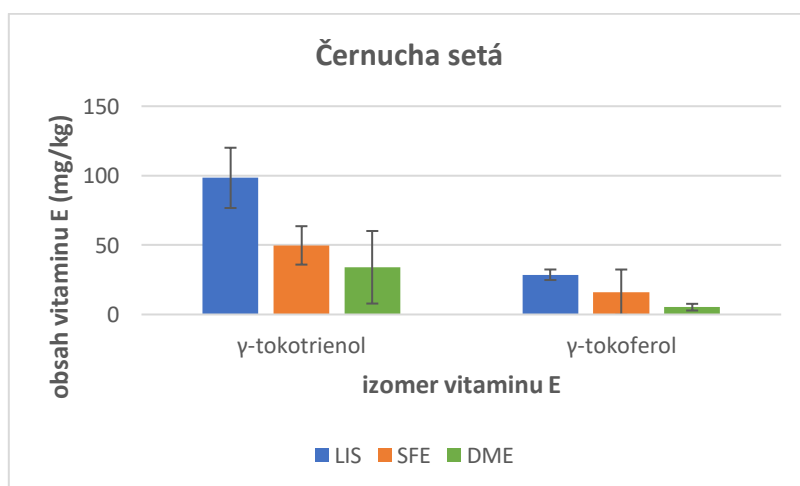
Graf 2 Obsah vitamínu E v rostlinných olejích (mg/kg)



*Použité zkratky v grafu: LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem.

V grafu 3 je znázorněn obsah vitamínu E v oleji z černuchy seté, ve kterém byly nalezeny pouze dva izomery (γ -tokotrienol a γ -tokoferol). Nejvyšší množství izomerů bylo získáno lisováním (γ -tokotrienol $98,39 \pm 21,8$ mg/kg a γ -tokoferol $28,62 \pm 3,8$ mg/kg). Mezi obsahem tokoferolů neexistoval statisticky významný rozdíl.

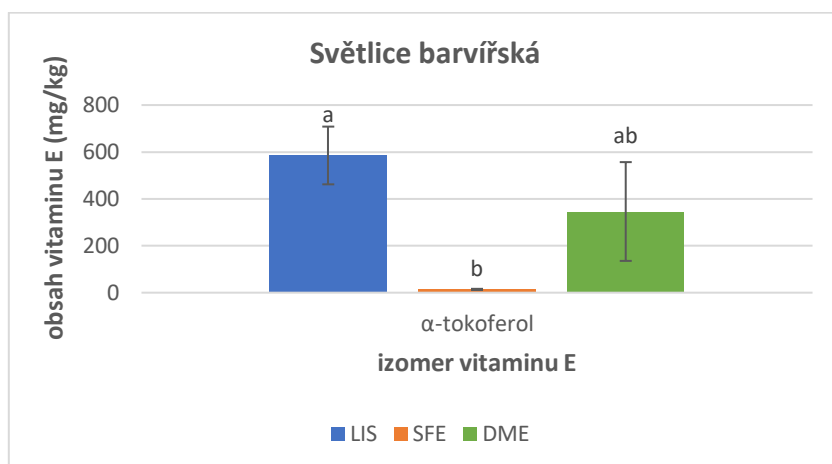
Graf 3 Obsah vitamínu E v oleji z černuchy seté (mg/kg)



*Použité zkratky v grafu: LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – dimethyl ether.
Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Ve světlicovém oleji (graf 4) byl detekován převážně α -tokoferol, přičemž jeho nejvyšší množství ($585,03 \pm 123,1$ mg/kg) bylo zjištěno při lisování. Nejnižší obsah α -tokoferolu byl zjištěn u SFE ($13,81 \pm 2,54$ mg/kg), který se statisticky významně lišil od lisování.

Graf 4 Obsah vitamínu E ve světlcovém oleji (mg/kg)



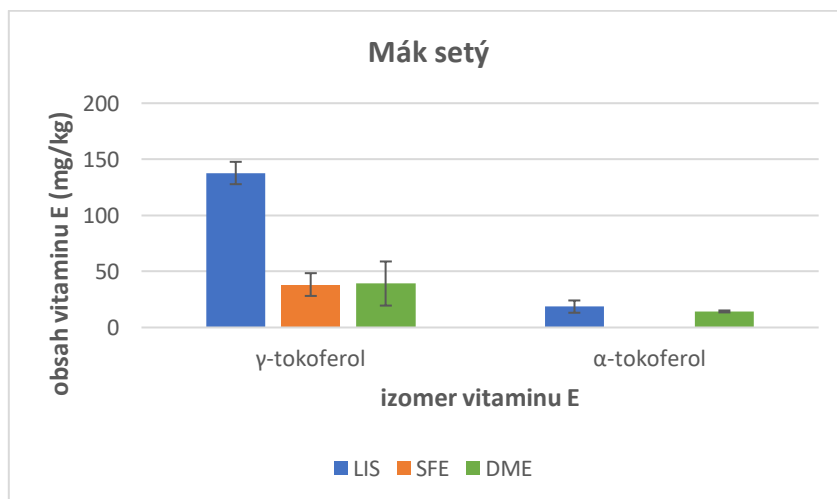
**Použité zkratky v grafu: LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem.*

Stejné písmeno (a, b) vyjadřuje statisticky nevýznamný rozdíl v rámci jednotlivých skupin tokoferolů v závislosti na extrakci na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

Obsah vitamínu E v makovém oleji je zobrazen v grafu 5. Tento olej obsahoval nejvyšší množství γ -tokoferolu (138 ± 10 mg/kg) získaného lisováním. Mezi obsahem tokoferolů neexistoval statisticky významný rozdíl.

Graf 5 Obsah vitamínu E v makovém oleji (mg/kg)

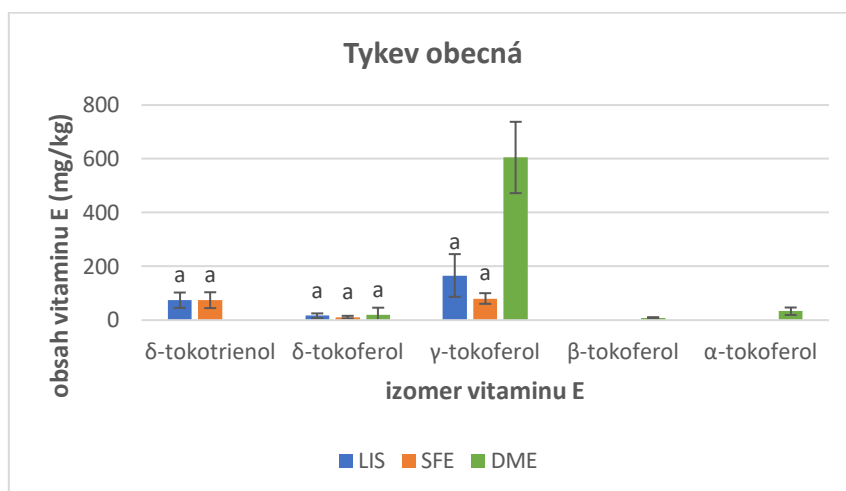


**Použité zkratky v grafu: LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem.*

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

U dýňového oleje (graf 6) se v největším množství nacházel izomer γ -tokoferol ($605 \pm 132,68$ mg/kg), přičemž nejvýhodnější extrakce byla pomocí DME. Tato extrakce se statisticky významně lišila od ostatních metod.

Graf 6 Obsah vitamínu E v dýňovém oleji (mg/kg)



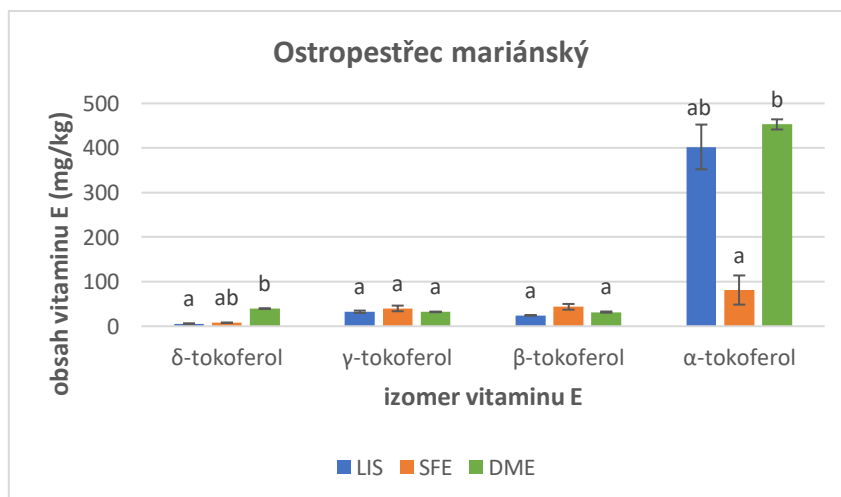
***Použité zkratky v grafu:** LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem.

Stejné písmeno (a) vyjadřuje statisticky nevýznamný rozdíl v rámci jednotlivých skupin tokoferolů v závislosti na extrakci na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

V grafu 7 je zobrazen obsah vitamínu E v oleji z ostropestřce mariánského, ve kterém převládá α -tokoferol ($452,91 \pm 11,39$ mg/kg) získaného extrakcí pomocí DME. Nejvyšší množství α -tokoferolu bylo u SFE ($81,27 \pm 32,72$ mg/kg), kde byl prokázán statisticky významný rozdíl od DME.

Graf 7 Obsah vitamínu E v oleji z ostropestřce mariánského (mg/kg)



***Použité zkratky v grafu:** LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem.

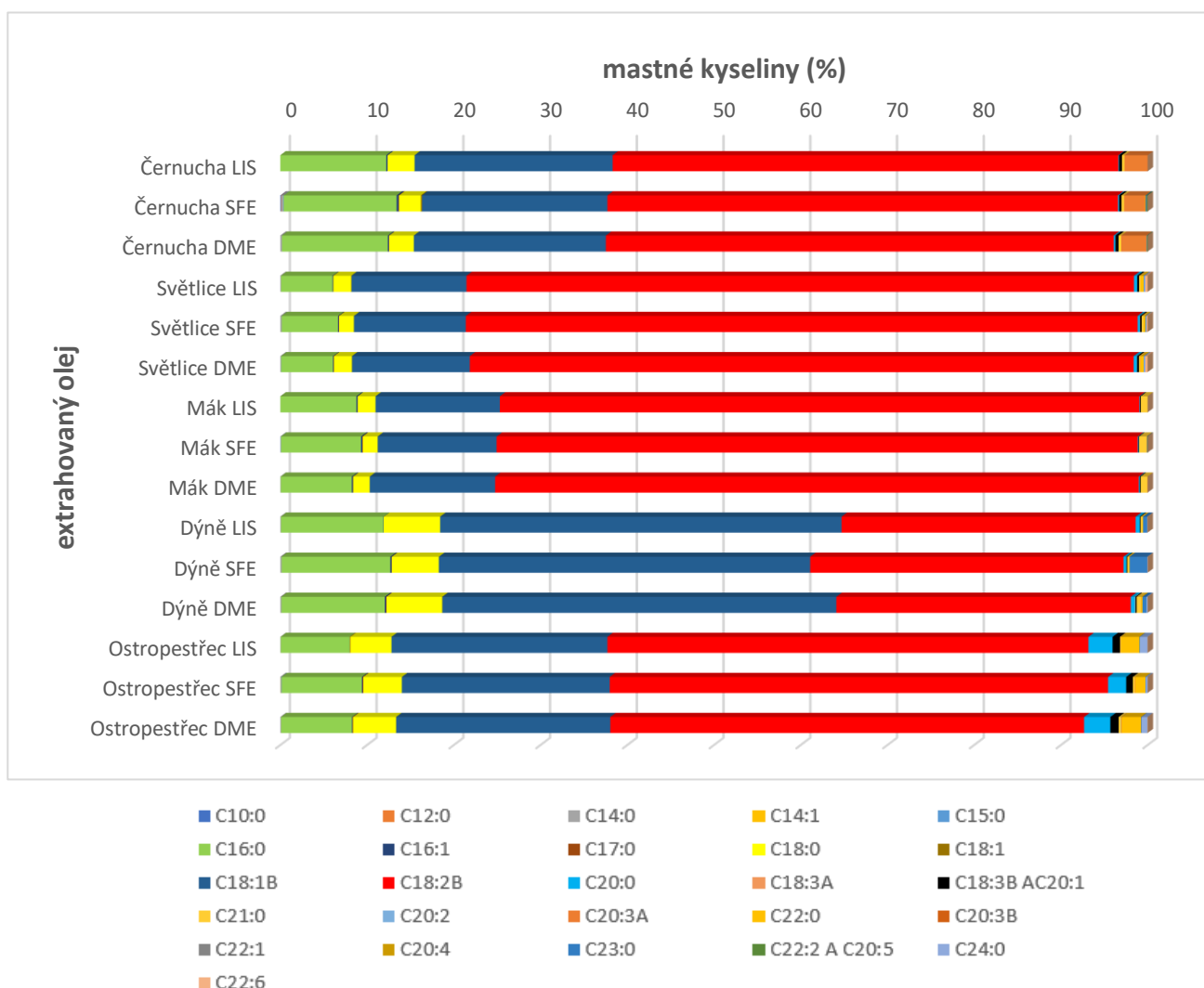
Stejné písmeno (a, b) vyjadřuje statisticky nevýznamný rozdíl v rámci jednotlivých skupin tokoferolů v závislosti na extrakci na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

5.4 Profil mastných kyselin

Profil mastných kyselin v rostlinných olejích (v %) je znázorněn v souhrnném grafu 8. Z výsledku vyplývá, že extrakční metody neměly velký vliv na složení a obsah mastných kyselin. V závislosti na extrakční metodě v rámci jedné plodiny však existoval u některých mastných kyselin statisticky významný rozdíl. Ukázalo se, že ve všech olejích se v nejvyšším množství vyskytovala linolová kyselina (18:2), přičemž její nejvyšší obsah měl světlicový olej ($77 \pm 0,29$ %). Zde se až na výjimky neprokázal statisticky významný rozdíl mezi metodami. Značný podíl tvořila i olejová kyselina (18:1), která se nejvíce nacházela v dýňovém oleji ($45 \pm 0,82$ %). U této kyseliny byl statisticky průkazný rozdíl mezi technikami.

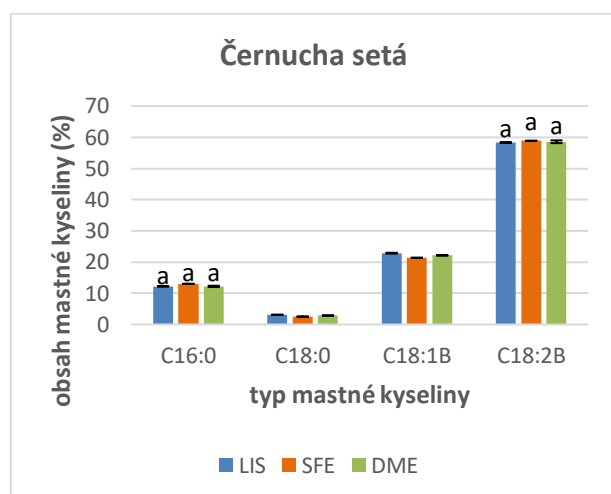
Graf 8 Profil mastných kyselin rostlinných olejů (%)



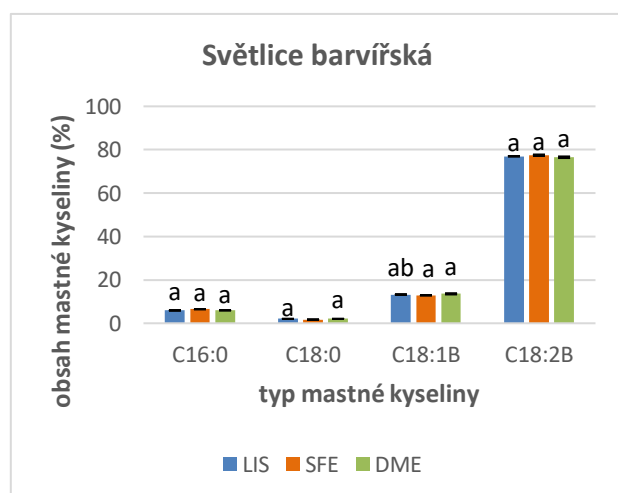
***Použité zkratky v grafu:** LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem. C10:0 = 10 uhlíků, 0 dvojných vazeb.

V následujících grafech (9–13) jsou znázorněny čtyři hlavní mastné kyseliny (MK) v jednotlivých olejích. V grafu 9 jsou zobrazeny MK oleje z černuchy seté, přičemž je patrné, že linolová kyselina ($59 \pm 0,20$ %) patří mezi nejvýznamnější mastnou kyselinu tohoto oleje. Mezi metodami nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. V grafu 10 jsou uvedeny hodnoty MK světlicového oleje, kde dominovala linolová kyselina ($77 \pm 0,29$ %). Extrakce se od sebe statisticky nelišily. Z grafu 11 je zřejmé, že ani makový olej nebyl výjimkou. I tento olej obsahoval nejvyšší množství linolové kyseliny ($74 \pm 0,30$ %), kde nebyl prokázán statisticky významný rozdíl. V grafu 12 jsou uvedeny MK dýňového oleje, kde převažovala olejová kyselina ($45 \pm 0,82$ %). Při extrakci oleje pomocí SFE bylo získáno oproti lisování statisticky významně méně kyseliny olejové. V grafu 13 jsou zobrazeny MK oleje z ostropestřce mariánského, který obsahoval nejvyšší množství linolové kyseliny ($57 \pm 0,68$ %). Zde existoval statisticky významný rozdíl mezi olejem extrahovaným pomocí SFE a DME.

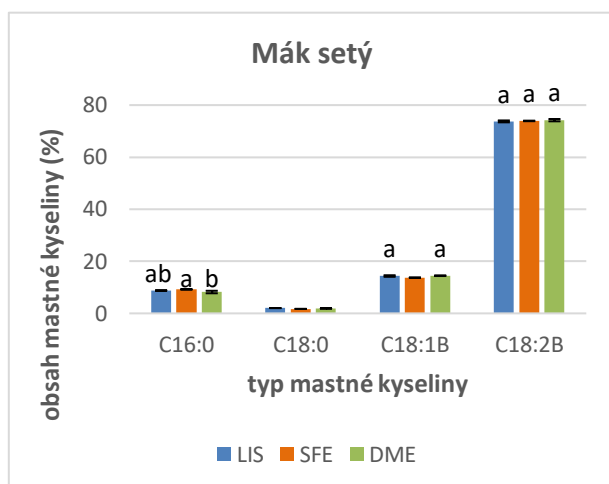
Graf 9 Hlavní mastné kyseliny v oleji z černuchy seté (%)



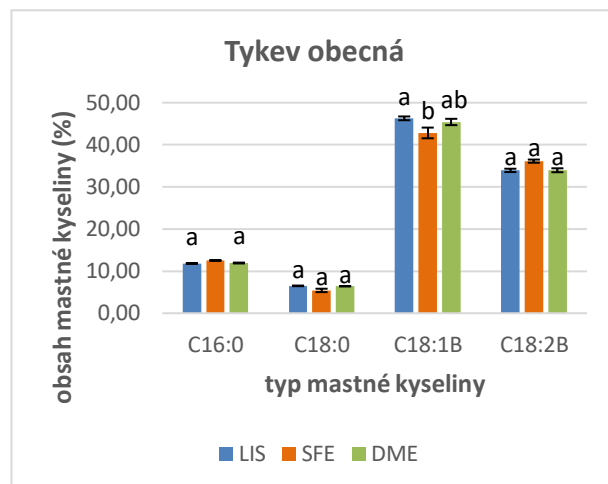
Graf 10 Hlavní mastné kyseliny světlicového oleje (%)



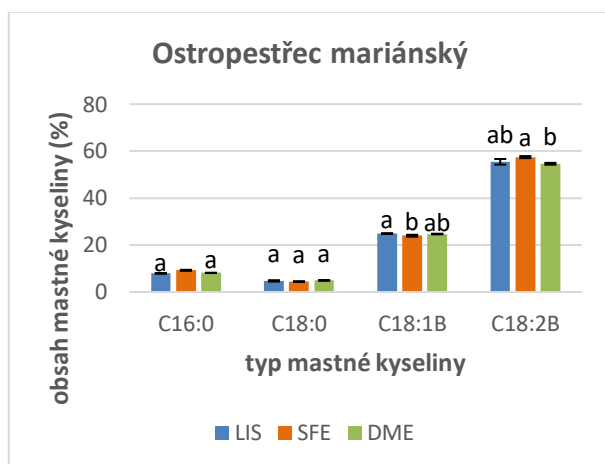
Graf 11 Hlavní mastné kyseliny makového oleje (%)



Graf 12 Hlavní mastné kyseliny dýňového oleje (%)



Graf 13 Hlavní mastné kyseliny v oleji z ostropestřce mariánského (%)



***Použité zkratky v grafu:** LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem.

C16:0 = palmitová kyselina, C18:0 = stearová kyselina, C18:1 = olejová kyselina, C18:2 = linolová kyselina.

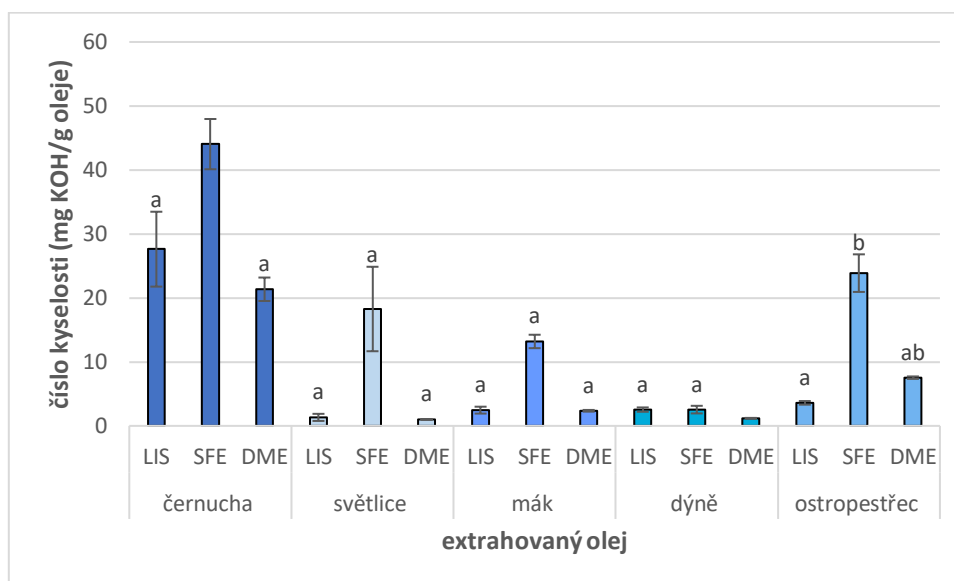
Stejné písmeno (a, b) vyjadřuje statisticky nevýznamný rozdíl v rámci jednotlivých mastných kyselin v závislosti na extrakci na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

5.5 Obsah volných mastných kyselin

V grafu 14 je znázorněno číslo kyselosti neboli obsah volných mastných kyselin. Z výsledků vyplývá, že nejvyšší množství volných mastných kyselin v olejích bylo získáno extrakcí pomocí SFE. Nejvyšší hodnotu čísla kyselosti měl olej z černuchy seté ($44,03 \pm 3,93$ mg KOH/g oleje). Nejnižší hodnota byla zjištěna u světlicového oleje získaného pomocí DME ($1,01 \pm 0,01$ mg KOH/g oleje). Bylo zjištěno, že mezi metodami většinou neexistoval statisticky významný rozdíl.

Graf 14 Číslo kyselosti rostlinných olejů (mg KOH/g oleje)



*Použité zkratky v grafu: LIS – lisování, SFE – superkritická fluidní extrakce, DME – extrakce dimethyl etherem.

Stejně písmeno (a, b) vyjadřuje statisticky nevýznamný rozdíl v obsahu volných mastných kyselin v rámci jednotlivých plodin v závislosti na extrakci na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Úsečky v grafu znázorňují směrodatnou odchylku.

6 Diskuze

Cílem této diplomové práce bylo zjistit, zda mají různé způsoby extrakce (lisování, SFE, DME) olejnatých semen vliv na výtěžnost a výslednou kvalitu oleje (zastoupení vitamínu E, mastných kyselin a volných mastných kyselin). Porovnávaly se kvalitativní parametry olejů vybraných rostlin z čeledi *Asteraceae*, *Ranunculaceae*, *Cucurbitaceae* a *Papaveraceae* získaných různými extrakčními technikami.

Z výsledků vyplývá, že barva a výtěžnost rostlinných olejů, ale i množství jednotlivých látek se výrazně liší v závislosti na použité metodě extrakce a na druhu rostlinného oleje. Nejprve se porovnávala barva extrahovaných olejů, přičemž nejsvětlejší barvu měly oleje extrahované pomocí SFE a nejtmaší barvu měly oleje extrahované pomocí DME. Barvy byly hodnoceny subjektivně, protože neexistuje žádná stupnice barev rostlinných olejů (kromě olivového oleje). Již mnoho studií potvrdilo, že rostlinný olej extrahovaný pomocí superkritického oxidu uhličitého má světlejší barvu než olej extrahovaný jiným způsobem (Sovová, 1994). Uvádí se, že barva rostlinného oleje závisí hlavně na přítomnosti karotenoidů a chlorofylů v oleji. Oxid uhličitý pravděpodobně nemá tak velkou schopnost extrahovat tyto látky (V. Le et al., 2018). Dýňový olej měl vždy nejtmaší barvu ze všech extrahovaných olejů. Při extrakci DME měl zeleno-červenou barvu, která byla pravděpodobně způsobena především

protochlorofylovým pigmentem (Kreft et al., 2009). Během mého pokusu extrakcí SFE nejspíš došlo k neznámé chybě. První vzorek měl žlutou barvu, ale další následující vzorky měly již světle hnědou barvu (viz. obr. 12). S největší pravděpodobností nebyl přístroj po předešlé analýze dostatečně pročištěn ethanolem, a proto se do vzorku mohly dostat cizí látky z předešlé extrakce.

Z výsledků je zřejmé, že nejvyšší výtěžnost u všech rostlinných olejů byla získána pomocí extrakce DME, přičemž nejlepší výtěžnost měl dýňový olej ($39,97 \pm 0,73$ %). Tato metoda však nebyla doposud příliš zkoumána, a proto ji nelze porovnat s ostatními studiemi. Naopak nejnižší výtěžek byl získán z černuchy seté při extrakci pomocí lisu ($1,22 \pm 0,42$ %). Lisování černuchy seté bylo obtížné a proběhlo několik neúspěšných pokusů. Využilo se různých lisovacích pomůcek a zkoušela se zvýšit i snížit lisovací síla. Nejvyšší výtěžnost nakonec poskytlo lisování za stejných podmínek jako u ostatních semen. K lisovací hlavě bylo však nutné přidat protlačovací síto, které pomohlo získat alespoň $1,22 \pm 0,42$ % oleje. Mohammed a kolektiv (2016) tvrdí, že extrakce oleje z černuchy seté pomocí lisování za studena obecně vedou jen k částečnému získání oleje. Tato metoda poskytuje nízké výtěžky a proces je obvykle časově náročný, což může ovlivnit i koncentraci cílových složek. Autoři uvádí, že pro černuchu setou je lepší využít SFE metodu, která má vyšší selektivitu (Mohammed et al., 2016). Mé laboratorní výsledky se shodují s tvrzením, že pro lepší výtěžnost oleje z černuchy seté je výhodnější použít SFE než lisování, avšak extrakce DME byla ještě mnohem účinnější.

Pro zdraví člověka jsou prospěšné vysoce kvalitní rostlinné oleje, které obsahují velké množství vitamínu E, příznivé mastné kyseliny a mají nízké číslo kyselosti. Během mého pokusu bylo zjištěno, že nejvyšší množství všech tokoferolů ($666,31$ mg/kg) měl dýňový olej extrahovaný pomocí DME. Naopak nejnižší obsah ($5,29 \pm 2,40$ mg/kg) byl u oleje z černuchy seté extrahovaného pomocí DME, kde byl nalezen pouze γ -tokoferol. Tento izomer se vyskytoval ve všech testovaných olejích a jeho nejvyšší množství bylo detekováno v dýňovém oleji extrahovaného pomocí DME ($605,08 \pm 132,68$ mg/kg). Uvádí se, že vysoce kvalitní olej z dýňových semen obsahuje γ -tokoferol do 800 mg/kg (Potočník et al., 2018). Naopak nejnižší množství γ -tokoferolu bylo zjištěno u světlicového oleje extrahovaného pomocí DME ($0,45 \pm 1,12$ mg/kg). Tento olej se tak stává termolabilní vůči vysokým teplotám, a proto se v současné době zpracovatelé snaží vyšlechtit novou odrůdu světlice s vyšším obsahem γ -tokoferolu (Fernández-Cuesta et al., 2014). Ve světlicovém oleji dominoval α -tokoferol, přičemž jeho nejvyšší obsah byl zjištěn při lisování ($585,03 \pm 123,1$ mg/kg).

Literatura uvádí, že světlicový olej je vynikajícím zdrojem vitamínu E, protože obsahuje až 95 % α -tokoferolu. Aydeniz a kolektiv (2014) vyhodnotili lisování jako vhodnou metodu pro získávání kvalitního světlicového oleje bez potřeby rafinace. Ve své studii také zjistili, že zahřátí semen před lisováním zvýšilo výsledný obsah α -tokoferolu (Aydeniz et al., 2014).

Rostlinné oleje většinou neobsahovaly žádné tokotrienoly. Výjimkou byl olej z černuchy seté, ve kterém byl detekován γ -tokotrienol (nejvyšší množství bylo u lisování $98,39 \pm 21,8$ mg/kg). Dýňový olej při lisování a SFE obsahoval δ -tokotrienol v množství 74 ± 29 mg/kg. Trela a Szymańska (2019) objevili u lisovaného oleje z černuchy seté γ -tokotrienol v množství 24,90 – 36,60 mg/100 g oleje. U dýňového oleje detekovali α -tokotrienol a β -tokotrienol, ale žádný δ -tokotrienol. Jelikož jejich zkoumané rostlinné oleje byly získány ze supermarketu, není možné dohledat způsob získávání olejů (Trela et Szymańska, 2019). Nicméně neexistují další data, se kterými by se výsledky mohly porovnat.

Z výsledků je zřejmé, že různé druhy extrakčních metod neměly téměř žádný vliv na profil mastných kyselin. Analýza mastných kyselin ukázala, že v rostlinných olejích se vyskytovala převážně linolová (18:2) a olejová kyselina (18:1). Nejvyšší obsah linolové kyseliny byl detekován u světlicového oleje, přičemž různé metody extrakce téměř neovlivnily její množství ($77 \pm 0,29$ %). Obsah olejové a linolové kyseliny ve světlicovém oleji zjišťovali i autoři Han a kolektiv (2009), kteří získali podobné výsledky. Tvrdí, že semena světlice barvířské jsou bohatá na linolovou kyselinu. Svoji studii provedli extrakcí pomocí SC-CO₂ (Han et al., 2009).

Dýňový olej obsahoval nejvíce olejové kyseliny ($45 \pm 0,82$ %), ale pouze $35 \pm 0,41$ % linolové kyseliny. Literatura uvádí, že dýňový olej by měl přibližně obsahovat 21–46,9 % olejové kyseliny. Někteří autoři tvrdí, že v dýňovém oleji spíše převládá linolová kyselina (35,6–60,8 %). Předpokládá se, že k mírnému poklesu linolové kyseliny dochází při pražení dýňových semen (Potočník et Košir, 2017).

Uvádí se, že rafinované oleje by měly mít číslo kyselosti max. 0,6 mg KOH/g oleje. Hodnoty pro oleje lisované za studena a takto deklarované musí být max. 4 mg KOH/g oleje. Nekvalitní rostlinné oleje mají číslo kyselosti v rozmezí 10–50 mg KOH/g oleje. Tento zákon byl však v České republice zrušen v roce 2003 (Vyhláška, č. 90/2000). Čím vyšší je hodnota čísla kyselosti, tím vyšší je hladina volných mastných kyselin. Vysoká kyselost snižuje kvalitu a bezpečnost jedlého oleje a u člověka může vést ke gastrointestinálním problémům a poškození jater (Zhou et al., 2019). Z laboratorních výsledků vyplývá, že oleje extrahované pomocí SFE

měly vysoké číslo kyselosti. Nejvyšší obsah volných mastných kyselin měl olej z černuchy seté extrahovaný pomocí SFE ($44,03 \pm 3,93$ mg KOH/g oleje). Işik a kolektiv (2019) zjistili, že semena černuchy seté měla před extrakcí nižší obsah volných mastných kyselin než po extrakci. To dokazuje, že metody získávání olejů a vysoká provozní teplota mohou negativně ovlivnit množství volných mastných kyselin v oleji (Işik et al., 2019). Nejnižší množství bylo zjištěno u světlicového oleje extrahovaného pomocí DME ($1,01 \pm 0,01$ mg KOH/g oleje). Při zkoumání kvality a stability světlicového oleje pro potravinářské účely a komerční aplikace došli k podobnému závěru i autoři Andhale a Sontakke (2018). Jejich výsledky ukázaly nižší hodnotu kyselosti ($0,22$ mg KOH/g oleje), čímž vyhodnotili světlicový olej jako velmi stabilní vůči oxidaci (Andhale et Sontakke, 2018). Byly provedeny různé vědecké studie, které naznačují, že hodnota kyselosti je závislá na provozní teplotě, tlaku a délce extrakce (Muangrat et Pongsirikul, 2019).

7 Závěr

Na základě laboratorních výsledků lze konstatovat, že hypotéza byla potvrzena. Způsob extrakce měl vliv na výtěžnost a výslednou kvalitu oleje.

Zjistilo se, že nejlepší výtěžnost rostlinných olejů měla extrakce DME (dýňový olej $39,97 \pm 0,73$ %). Při lisování a SFE se výtěžnost lišila dle druhu rostlinného oleje. Nejnižší výtěžnost byla při lisování (olej z černuchy seté $1,22 \pm 0,42$ %) a při SFE (světlicový olej $2,46 \pm 0,21$ %).

Ukázalo se, že výsledná kvalita oleje závisela na způsobu extrakce. Pro získání vysokého obsahu vitamínu E bylo vhodné použít lisování (černucha, světlice, mák) nebo extrakci DME (ostropestřec, dýně). Extrakce SFE v tomto případě nebyla příliš vhodná. Nejvyšší obsah všech tokoferolů ($596,37$ mg/kg) při lisování byl zjištěn ve světlicovém oleji, kde dominoval α -tokoferol ($585,03 \pm 123,1$ mg/kg). Při extrakci DME měl nejvyšší množství tokoferolů ($666,31$ mg/kg) dýňový olej, ve kterém převládal γ -tokoferol ($605,08 \pm 132,68$ mg/kg).

Z výsledků vyplývá, že extrakční metody neměly téměř žádný vliv na množství a složení mastných kyselin v rostlinných olejích. Bylo zjištěno, že v olejích převažovala linolová a olejová kyselina. Nejvyšší obsah linolové kyseliny byl detekován u světlicového

oleje ($77 \pm 0,29$ %), zatímco olejová kyselina se nacházela nejvíce u dýňového oleje ($45 \pm 0,82$ %).

Z hlediska oxidační stability rostlinných olejů byla nejvhodnější extrakce DME. Nejnižší číslo kyselosti měl světlicový olej ($1,01 \pm 0,01$ mg KOH/g oleje). Naopak extrakce SFE se ukázala jako nevyhovující, protože všechny testované oleje měly vysoké číslo kyselosti. Nejvyšší hodnotu vykazoval olej z černuchy seté ($44,03 \pm 3,93$ mg KOH/g oleje).

Extrakční metody měly také vliv na barvu jednotlivých olejů, u kterých převažovala světle až tmavě žlutá barva, výjimkou byl dohněda zbarvený olej z černuchy seté a tmavě zelený dýňový olej. Oleje extrahované pomocí SFE měly velmi světlou barvu, zatímco oleje extrahované pomocí DME byly velmi tmavě zbarvené.

Výsledky práce ukázaly, že nejúspěšnější metodou pro získání nejvyšší výtěžnosti byla extrakce dimethyl etherem. Výtěžky byly výrazně vyšší než při ostatních způsobech extrakce a také se snížil obsah nežádoucích volných mastných kyselin. Nelze jednoznačně posoudit, která extrakční metoda byla nejvhodnější pro získávání tokoferolů. Relativně vysoký obsah vitamínu E měly oleje při lisování a při extrakci DME. Nicméně je zřejmé, že pro získávání rostlinných olejů je extrakce DME velmi úspěšná. Navíc je jednodušá a cenově dostupná pro použití v jakékoli laboratoři, s potenciální aplikací v komerčním měřítku. Na rozdíl od většiny rozpouštědel se dimethyl ether rychle odpařuje při pokojové teplotě bez zanechání reziduí, je mnohem bezpečnější než jiná organická rozpouštědla a přibližně polovina použitého objemu může být snadno recyklována (Subratti et al., 2019)¹.

DME se jeví jako vhodná extrakční technika pro získávání rostlinných olejů, ale v budoucnu bude potřeba provést další laboratorní analýzy za účelem porovnání účinnosti dimethyl etheru a jiných rozpouštědel. Tyto studie by se měly zabývat kvantitativními (výtěžnost extrakce) a kvalitativními (chemické složení – biologicky aktivní látky, např. tymochinon, silymarinový komplex) vlastnostmi olejů. Také by mělo dojít k prozkoumání senzorické analýzy získaných olejů, zdravotní nezávadnosti a šetrnosti k životnímu prostředí.

8 Literatura

Abu-Fayyad, A., Nazzal, S. 2017. Synthesis, characterization, and in-vitro antitumor activity of the polyethylene glycol (350 and 1000) succinate derivatives of the tocopherol and tocotrienol isomers of Vitamin E. *International Journal of Pharmaceutics*. 519 (1-2). 145-156.

Afshar, R., Chaichi, M., Assareh, M., Hashemi, M., Liaghat, A. 2014. Interactive effect of deficit irrigation and soil organic amendments on seed yield and flavonolignan production of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.). *Industrial Crops and Products*. 58. 166-172.

Aljabre, S., Alakloby, O., Randhawa, M. 2015. Dermatological effects of *Nigella sativa*. *Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery*. 19 (2). 92-98.

Al-Seeni, M., El Rabey, H., Al-Hamed, A., Zamazami, M. 2018. *Nigella sativa* oil protects against tartrazine toxicity in male rats. *Toxicology Reports*. 5. 146-155.

Andhale, R., Sontakke, MB. 2018. Fatty acid profile and quality assessment of safflower (*Carthamus tinctorius*) oil. 7(2).

Aydeniz, B., Güneşer, O., Yılmaz, E. 2014. Physico-chemical, Sensory and Aromatic Properties of Cold Press Produced Safflower Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 91 (1). 99-110.

Azzi, A. 2019. Tocopherols, tocotrienols and tocomonoenols: Many similar molecules but only one vitamin E. *Redox Biology*. 26.

Bäumler, E., Carrín, M., Carelli, A. 2016. Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent. *Journal of Food Engineering*. 178. 190-197.

Ben Rahal, N., Barba, F., Barth, D., Chevalot, I. 2015. Supercritical CO₂ extraction of oil, fatty acids and flavonolignans from milk thistle seeds: Evaluation of their antioxidant and cytotoxic activities in Caco-2 cells. *Food and Chemical Toxicology*. 83. 275-282.

Benito-Román, O., Rodríguez-Perrino, M., Sanz, M., Melgosa, R., Beltrán, S. 2018. Supercritical carbon dioxide extraction of quinoa oil: Study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality. *The Journal of Supercritical Fluids*. 139. 62-71.

Bockisch, M. 1998. The Extraction of Vegetable Oils. *Fats and Oils Handbook*. 1. Elsevier. Germany. s. 345-445.

- Bozan, B., Temelli, F. 2003. Extraction of Poppy Seed Oil Using Supercritical CO₂. *Journal of Food Science*. 68 (2). 422-426.
- Bozan, B., Temelli, F. 2008. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bioresource Technology*. 99 (14). 6354-6359.
- Can-Cauch, C., Sauri-Duch, E., Moo-Huchin, V., Betancur-Ancona, D., Cuevas-Glory, L. 2019. Effect of extraction method and specie on the content of bioactive compounds and antioxidant activity of pumpkin oil from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*. 285. 186-193.
- Castejón, N., Luna, P., Señoráns, F. 2018. Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum* L. seeds using advanced techniques and green solvents. *Food Chemistry*. 244. 75-82.
- Çelik, H., Gürü, M. 2015. Extraction of oil and silybin compounds from milk thistle seeds using supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*. 100. 105-109.
- Cerutti, M., de Souza, A., de Souza, S. 2012. Solvent extraction of vegetable oils: Numerical and experimental study. *Food and Bioproducts Processing*. 90 (2). 199-204.
- Ciocarlan, A., Dragalin, I., Aricu, A., Ciocarlan, N., Stavarache, C., Deleanu, M. 2018. Chromatographic Analysis of *Silybum Marianum* (L.) Gaertn. Fatty Oil. *Chemistry Journal of Moldova*. 13 (1). 63-68.
- Conte, R., Gullich, L., Bilibio, D., Zanella, O., Bender, J., Carniel, N., Priamo, W. 2016. Pressurized liquid extraction and chemical characterization of safflower oil: A comparison between methods. *Food Chemistry*. 213. 425-430.
- Cuco, R., Massa, T., Postae, N., Cardozo-Filho, L., da Silva, C., Iwassa, I. 2019. Oil extraction from structured bed of pumpkin seeds and peel using compressed propane as solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*. 152.
- Dajue L., Mündel H-H. 1996. Safflower. *Carthamus tinctorius* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 7. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Darand, M., Darabi, Z., Yari, Z., Saadati, S., Hedayati, M., Khoncheh, A., Hosseini-Ahangar, B., Alavian, S., Hekmatdoost, A. 2019. *Nigella sativa* and inflammatory biomarkers in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*. 44. 204-209.

David, F., Medvedovici, A., Sandra, P. 2000. OILS, FATS AND WAXES: SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY. Encyclopedia of Separation Science. Elsevier. s. 3567-3575.

de Coning, P., Swinley, J. 2019. Overview and theory. A Practical Guide to Gas Analysis by Gas Chromatography. Elsevier. s. 1-43.

Dun, Q., Yao, L., Deng, Z., Li, H., Li, J., Fan, Y., Zhang, B. 2019. Effects of hot and cold-pressed processes on volatile compounds of peanut oil and corresponding analysis of characteristic flavor components. LWT. 112.

EFSA CEF Panel (EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids), 2015. Scientific Opinion on the safety of use of dimethyl ether as an extraction solvent under the intended conditions of use and the proposed maximum residual limits. EFSA Journal 2015;13(7):4174, 13 pp.

EFSA Panel, 2010. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. EFSA Journal. 8 (3).

Fan, L., Guo, M. 2013. Progress of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) regeneration through tissue culture. Journal of Medical Colleges of PLA. 28 (5). 289-301.

Fathi-Achachlouei, B., Azadmard-Damirchi, S. 2009. Milk Thistle Seed Oil Constituents from Different Varieties Grown in Iran. Journal of the American Oil Chemists' Society. 86 (7). 643-649.

Fernández-Cuesta, Á., Velasco, L., Ruiz-Méndez, M. 2014. Novel safflower oil with high γ -tocopherol content has a high oxidative stability. European Journal of Lipid Science and Technology. DOI: 10.1002/ejlt.201300208.

Gao, Y., Wu, S. 2019. Comprehensive analysis of the phospholipids and phytosterols in *Schisandra chinensis* oil by UPLC-Q/TOF- MSE. Chemistry and Physics of Lipids. 221. 15-23.

Ghafoor, K., Özcan, M., AL-Juhaimi, F., Babiker, E., Fadimu, G. 2019. Changes in quality, bioactive compounds, fatty acids, tocopherols, and phenolic composition in oven- and microwave-roasted poppy seeds and oil. LWT. 99. 490-496.

Gharby, S., Harhar, H., Guillaume, D., Roudani, A., Boulbaroud, S., Ibrahimi, M., Ahmad, M., Sultana, S., Hadda, T., Chafchaoui-Moussaoui, I., Charrouf, Z. 2015. Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 14 (2). 172-177.

Gouilleux, B., Marchand, J., Charrier, B., Remaud, G., Giraudeau, P. 2017. High-throughput authentication of edible oils with benchtop ultrafast 2D NMR. *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.10.016.

Hadolin, M., Škerget, M., Knez, Z., Bauman, D. 2001. High pressure extraction of vitamin E-rich oil from *Silybum marianum*. *Food Chemistry*. 74 (3). 355-364.

Hamm, W., Calliauw,., Hamilton, R. 2013. *Edible oil processing*. Second edition. Wiley. Chichester [etc.]. ISBN: 9781118535202.

Han, X., Cheng, L., Zhang, R., Bi, J. 2009. Extraction of safflower seed oil by supercritical CO₂. *Journal of Food Engineering*. 92 (4). 370-376.

Harris, L., Rosen-Kligvasser, J., Davidovich-Pinhas, M. 2019. Gelation of oil using combination of different free fatty acids. *Food Structure*. 21.

Hénon, G., Recseg, K., Kovari, K. 2001. Wax analysis of vegetable oils using liquid chromatography on a double-adsorbent layer of silica gel and silver nitrate-impregnated silica gel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78 (4). 401-410.

Hernandez, E., Kamal-Eldin, A. 2013. *Processing and nutrition of fats and oils*. ISBN: 9781118528761.

Hernández-Santos, B., Rodríguez-Miranda, J., Herman-Lara, E., Torruco-Uco, J., Carmona-García, R., Juárez-Barrientos, J., Chávez-Zamudio, R., Martínez-Sánchez, C. 2016. Effect of oil extraction assisted by ultrasound on the physicochemical properties and fatty acid profile of pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*). *Ultrasonics Sonochemistry*. 31. 429-436.

Cheng, M., Sekhon, J., Rosentrater, K., Wang, T., Jung, S., Johnson, L. 2018. Environmental impact assessment of soybean oil production: Extruding-expelling process, hexane extraction and aqueous extraction. *Food and Bioproducts Processing*. 108. 58-68.

Indelicato, S., Bongiorno, D., Pitonzo, R., Di Stefano, V., Calabrese, V., Indelicato, S., Avellone, G. 2017. Triacylglycerols in edible oils: Determination, characterization, quantitation, chemometric approach and evaluation of adulterations. *Journal of Chromatography A*. 1515. 1-16.

Işık, S., Aslan Erdem, S., Kartal, M. 2019. Investigation the fatty acid profile of commercial black cumin seed oils and seed oil capsules: Application to real samples. *Journal of Chemical Metrology*. 13 (2). 53-60.

Järvinen, R., Erkkilä, A. 2016. Tocopherols: Physiology and Health Effects. *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier. s. 303-308.

Kasote, D., Badhe, Y., Hegde, M. 2013. Effect of mechanical press oil extraction processing on quality of linseed oil. *Industrial Crops and Products*. 42. 10-13.

Keskin Çavdar, H. 2019. Active Compounds, Health Effects, and Extraction of Unconventional Plant Seed Oils. Ozturk, Munir (ed.) a Khalid Rehman Hakeem (ed.). *Plant and Human Health, Volume 2*. Springer International Publishing. Cham. s. 245-285.

Kiralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., Ramadan, M. 2014. Physicochemical properties and stability of black cumin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods. *Industrial Crops and Products*. 57. 52-58.

Kreft, M., Zorec, R., Janeš, D., Kreft, S. 2009. Histolocalisation of the oil and pigments in the pumpkin seed. *Annals of Applied Biology*. 154 (3). 413-418.

Krist, S., Stuebiger, G., Unterweger, H., Bandion, F., Buchbauer, G. 2005. Analysis of Volatile Compounds and Triglycerides of Seed Oils Extracted from Different Poppy Varieties (*Papaver somniferum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (21). 8310-8316.

Kumar, S. 2016. Chromatography techniques II: high-performance liquid chromatography and ultra-performance liquid chromatography. Kumar, S. (ed.). *Analytical techniques for natural product research*. CABI. Wallingford. s. 82-107.

Lu, T., Gaspar, F., Marriott, R., Mellor, S., Watkinson, C., Al-Duri, B., Seville, J., Santos, R. 2007. Extraction of borage seed oil by compressed CO₂: Effect of extraction parameters and modelling. *The Journal of Supercritical Fluids*. 41 (1). 68-73.

Marie-Magdeleine, C., Mahieu, M., Archimède, H. 2011. Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poir.) Seeds as an Anthelmintic Agent?. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Elsevier. s. 933-939.

Marques, F., de Oliveira Neto, J., da Cunha, L., de Paula, J., Bara, M. 2015. Identification of terpenes and phytosterols in *Dipteryx alata* (baru) oil seeds obtained through pressing. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 25 (5). 522-525.

Martínez, M., Penci, M., Marin, M., Ribotta, P., Maestri, D. 2013. Screw press extraction of almond (*Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb): Oil recovery and oxidative stability. *Journal of Food Engineering*. 119 (1). 40-45.

Ministerstvo zemědělství. 2000. Vyhláška č. 90 ze dne 30. března 2000, kterou se mění vyhláška Ministerstva zemědělství č. 328/1997 Sb., kterou se provádí §18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro mléko a mléčné výrobky, zmrzliny a mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: *Sbírka zákonů České republiky, Zákony pro lidi.cz*, článek 1, bod 35. Česká republika.

Mohammed, N., Abd Manap, M., Tan, C., Muhiadin, B., Alhelli, A., Meor Hussin, A. 2016. The Effects of Different Extraction Methods on Antioxidant Properties, Chemical Composition, and Thermal Behavior of Black Seed (*Nigella sativa* L.) Oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2016. 1-10.

Mohammed, N., Tan, C., Manap, Y., Alhelli, A., Hussin, A. 2017. Process conditions of spray drying microencapsulation of *Nigella sativa* oil. *Powder Technology*. 315. 1-14.

Muangrat, R., Pongsirikul, I. 2019. Recovery of spent coffee grounds oil using supercritical CO₂: Extraction optimisation and physicochemical properties of oil. *CyTA - Journal of Food*. 17 (1). 334-346.

Muhammad, W., Khan, M., Nazir, M., Siddiquah, A., Mushtaq, S., Hashmi, S., Abbasi, B. 2019. *Papaver somniferum* L. mediated novel bioinspired lead oxide (PbO) and iron oxide (Fe₂O₃) nanoparticles: In-vitro biological applications, biocompatibility and their potential towards HepG2 cell line. *Materials Science and Engineering: C*. 103.

Neđeral, S., Petrović, M., Vincek, D., Pukey, D., Škevin, D., Kraljić, K., Obranović, M. 2014. Variance of quality parameters and fatty acid composition in pumpkin seed oil during three crop seasons. *Industrial Crops and Products*. 60. 15-21.

Nzai, J., Proctor, A. 1998. Phospholipids determination in vegetable oil by thin-layer chromatography and imaging densitometry. *Food Chemistry*. 63 (4). 571-576.

Oladipo, B., Betiku, E. 2019. Process optimization of solvent extraction of seed oil from *Moringa oleifera*: An appraisal of quantitative and qualitative process variables on oil quality using D-optimal design. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 20.

Panadare, D., Rathod, V. 2017. Three phase partitioning for extraction of oil: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 68. 145-151.

Parasuraman, S., Ping, W., Raj, P., Sujithra, J., Syamittra, B., Yeng, W., Dhanaraj, S., Muralidharan, S. 2014. Evaluation of sub-chronic toxic effects of petroleum ether, a laboratory solvent in Sprague-Dawley rats. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 5 (4).

Piironen, V., Varo, P., Koivistoinen, P. 1987. Stability of tocopherols and tocotrienols in food preparation procedures. *Journal of Food Composition and Analysis*. 1 (1). 53-58.

Poole, C. 2012. *Gas Chromatography*. Elsevier. Amsterdam. ISBN: 9780123855404.

Potočnik, T., Košir, I. 2017. Influence of roasting temperature of pumpkin seed on PAH and aroma formation. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 119 (3).

Potočnik, T., Rak Cizej, M., Košir, I. 2018. Influence of seed roasting on pumpkin seed oil tocopherols, phenolics and antiradical activity. *Journal of Food Composition and Analysis*. 69. 7-12.

Pradhan, R., Meda, V., Rout, P., Naik, S., Dalai, A. 2010. Supercritical CO₂ extraction of fatty oil from flaxseed and comparison with screw press expression and solvent extraction processes. *Journal of Food Engineering*. 98 (4). 393-397.

Rabrenović, B., Dimić, E., Novaković, M., Tešević, V., Basić, Z. 2014. The most important bioactive components of cold pressed oil from different pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds. *LWT - Food Science and Technology*. 55 (2). 521-527.

Ramadan, M. (ed.). 2019. *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*. Springer International Publishing. Cham. ISBN: 978-3-030-12472-4.

Reiter, B., Lorbeer, E. 2001. Analysis of the wax ester fraction of olive oil and sunflower oil by gas chromatography–mass spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78. 881-888.

- Saboo, B., Singh, R., Bhardwaj, K., Maheshwari, A., Verma, N., Vargova, V., Pella, D. 2019. Fats and Oils for Health Promotion and Disease Prevention. The Role of Functional Food Security in Global Health. Elsevier. s. 273-285.
- Saxena, S., Rathore, S., Diwakar, Y., Kakani, R., Kant, K., Dubey, P., Solanki, R., Sharma, L., Agarwal, D., John, S. 2017. Genetic diversity in fatty acid composition and antioxidant capacity of *Nigella sativa* L. genotypes. LWT. 78. 198-207.
- Señoráns, F., Luna, P. 2012. Sample Preparation Techniques for the Determination of Fats in Food. Comprehensive Sampling and Sample Preparation. Elsevier. s. 203-211.
- Sovová, H. 1994. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂—I. Modelling of extraction curves. Chemical Engineering Science. 49 (3). 409-414.
- Stratakos, A., Koidis, A. 2016. Methods for Extracting Essential Oils. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Elsevier. s. 31-38.
- Subramaniam, S., Vaughn, K., Carrier, D., Clausen, E. 2008. Pretreatment of milk thistle seed to increase the silymarin yield: An alternative to petroleum ether defatting. Bioresource Technology. 99 (7). 2501-2506.
- 1Subratti, A., Lalgee, L., Jalsa, N. 2019. Efficient extraction of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil containing thymol, using liquefied dimethyl ether (DME). Journal of Food Processing and Preservation. 43 (4).
- 2Subratti, A., Lalgee, L., Jalsa, N. 2019. Liquefied dimethyl ether (DME): A green solvent for the extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. Sustainable Chemistry and Pharmacy. 12.
- Szymańska, R., Nowicka, B., Trela, A., Kruk, J. 2020. Vitamin E: structure and forms. Molecular Nutrition. Elsevier. s. 67-90.
- Takruri, H.R.H., Dameh, M.A.F. 1998. Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L.). J. Sci. Food Agric., 76: 404-410.
- Trela, A., Szymańska, R. 2019. Less widespread plant oils as a good source of vitamin E. Food Chemistry. 296. 160-166.

Trentini, C., Santos, K., Antonio da Silva, E., Garcia, V., Cardozo-Filho, L., da Silva, C. 2017. Oil extraction from macauba pulp using compressed propane. *The Journal of Supercritical Fluids*. 126. 72-78.

V. Le, A., E. Parks, S., H. Nguyen, M., D. Roach, P. 2018. Physicochemical Properties of Gac (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng) Seeds and Their Oil Extracted by Supercritical Carbon Dioxide and Soxhlet Methods. *Technologies*. 6 (4).

Vilahur, G., Casaní, L., Peña, E., Crespo, J., Juan-Babot, O., Ben-Aicha, S., Mendieta, G., Béjar, M., Borrell, M., Badimon, L. 2018. *Silybum marianum* provides cardioprotection and limits adverse remodeling post-myocardial infarction by mitigating oxidative stress and reactive fibrosis. *International Journal of Cardiology*. 270. 28-35.

Zhou, D., Shi, Q., Pan, J., Liu, M., Long, Y., Ge, F. 2019. Effectively improve the quality of camellia oil by the combination of supercritical fluid extraction and molecular distillation (SFE-MD). *LWT*. 110. 175-181.

9 Seznam obrázků

Obr. 1 Tokoferolové a tokotrienolové izomery (Azzi, 2019)	13
Obr. 2 Homogenizovaná směs ostropestřce, světlice a černuchy	21
Obr. 3 Dexso Oil extraktor (http://www.growcenter-noord.nl)	21
Obr. 4 Extrakce dimethyl etherem	22
Obr. 5 Vyextrahovaný olej černuchy seté	22
Obr. 6 Extrakce SFE	23
Obr. 7 Extrakce mechanickým lisováním	24
Obr. 8 Ultrazvuková lázeň	25
Obr. 9 Barva extrahovaného oleje z černuchy seté	28
Obr. 10 Barva extrahovaného oleje ze světlice barvířské	28
Obr. 11 Barva extrahovaného oleje z máku setého.....	29
Obr. 12 Barva extrahovaného oleje z tykve obecné.....	29
Obr. 13 Barva extrahovaného oleje z ostropestřce mariánského	29

10 Seznam grafů

Graf 1 Výtěžnost rostlinných olejů (%).....	30
Graf 2 Obsah vitamínu E v rostlinných olejích (mg/kg).....	31
Graf 3 Obsah vitamínu E v oleji z černuchy seté (mg/kg)	31
Graf 4 Obsah vitamínu E ve světlicovém oleji (mg/kg)	32
Graf 5 Obsah vitamínu E v makovém oleji (mg/kg)	32
Graf 6 Obsah vitamínu E v dýňovém oleji (mg/kg)	33
Graf 7 Obsah vitamínu E v oleji z ostropestřce mariánského (mg/kg).....	33
Graf 8 Profil mastných kyselin rostlinných olejů (%)	34
Graf 9 Hlavní mastné kyseliny v oleji z černuchy seté (%).....	37
Graf 10 Hlavní mastné kyseliny světlicového oleje (%).....	35
Graf 11 Hlavní mastné kyseliny makového oleje (%).....	37
Graf 12 Hlavní mastné kyseliny dýňového oleje (%).....	35
Graf 13 Hlavní mastné kyseliny v oleji z ostropestřce mariánského (%)	36
Graf 14 Číslo kyselosti rostlinných olejů (mg KOH/g oleje).....	37

11 Seznam tabulek

Tabulka 1 Vlastnosti vybraných rozpouštědel	6
Tabulka 2 Zastoupení mastných kyselin (% hmotn.) a celkový obsah tokoferolů (mg/100 g oleje)	19
Tabulka 3 Optimální podmínky pro SFE.....	23

12 Seznam zkratek

DME	Dimethylether
HDL	Lipoprotein s vysokou hustotou
LDL	Lipoprotein s nízkou hustotou
MK	Mastná kyselina
MUFA	Mononenasycené mastné kyseliny
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny
SC-CO ₂	Superkritický oxid uhličitý
SFA	Nasycené mastné kyseliny
SFE	Superkritická fluidní extrakce