Screening jedlých olejů fluorescenční spektroskopií

Mgr. Martina Fuksová

Diplomová práce
2017

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Mgr. Martina Fuksová**
Osobní číslo:	**T14768**
Studijní program:	**N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Technologie potravin**
Forma studia:	**kombinovaná**
Téma práce:	**Screening jedlých olejů fluorescenční spektroskopií**

Zásady pro vypracování:

I.Teoretická část:

1. **Rostlinné oleje a hodnocení jejich kvality (produkce a roční spotřeba rostlinných olejů, výživová doporučení).**
2. **Technologie výroby olejů.**
3. **Chemicko-fyzikální vlastnosti olejů (smažení, popis změn při tepelném namáhání olejů a dopad na konzumaci, skladování olejů).**
4. **Spektrometrické metody – informace o chemicko – fyzikálních vlastnostech potravin (olejů) na molekulární úrovni (UV-VIS, spektrofluorometrie).**

II. Praktická část:

1. **Vzorky rostlinných olejů (5 rostlinných olejů od různých výrobců, minimálně 20 vzorků).**
2. **Simulace tepelného stárnutí olejů.**
3. **Spektrofotometrické hodnocení kvality připravených vzorků olejů – stárnutí olejů.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] GUNSTONE, F. D., Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses, Second Edition.
[2] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 978-80-86659-17-6.
[3] ZAJÍC, Jiří a Milan BAREŠ. Chemie a technologie tuků. Vyd. 1. Praha: MON, 1988, 244 s.
[4] O'BRIEN, Richard D. Fats and oils: formulating and processing for applications. 2nd ed. Boca Raton, Fla.: CRC Press, c2004, 592 s. ISBN 0849315999.
[5] LI-CHAN, Eunice, Peter R. GRIFFITHS a John M. CHALMERS. Applications of vibrational spectroscopy in food science. 1st pub. Chichester: Wiley, 2010, 2 sv. (xviii, 345 s. ; xviii, s. 350-715). ISBN 978-0-470-74299-0.
[6] KLOUDA, Pavel. Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Mgr. Barbora Lapčíková, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **3. února 2017**

Termín odevzdání diplomové práce: **28. dubna 2017**

UNIVERZITA TOMÁŠE BATI VE ZLÍNĚ
Fakulta technologická

Ve Zlíně dne 3. února 2017

L.S.

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Mgr. Martina Fuksová Obor: CHTP - TP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby [1];
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 [2];
- beru na vědomí, že podle § 60 [3] odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 [3] odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 5. 5. 2017

Fuksová

[1] Zákon č. 111/2009 Sb. o základních registrech a doplnění dalších zákonů ve znění pozdějších předpisů, ve znění pozdějších právních předpisů.

(2) Vysoká škola neuplatňuje vstupní přijímací zkoušky pro absolventy bakalářské a magisterské studijní programy, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, a absolventy magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, pokud se přihlásí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium.

(3) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(4) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(5) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(6) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(7) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(8) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(9) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(10) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(11) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(12) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(13) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(14) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(15) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(16) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(17) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(18) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(19) Absolventi bakalářských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do magisterského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný bakalářskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

(20) Absolventi magisterských studijních programů, kteří dosáhli průměrného prospěchu nejvýše 1,2 z předchozího studia, mají právo na přijetí do doktorského studijního programu, který je svým zaměřením shodný nebo obdobný magisterskému studijnímu programu, z něhož absolvovali předchozí studium, bez vstupní přijímací zkoušky.

ABSTRAKT

Cílem diplomové práce byla studie vybraných reprezentativních vzorků jedlých olejů, které byly zakoupeny v běžně dostupných prodejních sítích. V práci je uvedeno chemické složení olejnin používaných pro výrobu olejů a jejich zpracování. Řepkový, slunečnicový, sójový, olivový a arašídový olej byly analyzovány fluorometricky a UV/VIS spektroskopií. Fluorescenční spektra rostlinných olejů byla naměřena v oblasti excitačních vlnových délek 220 – 400 nm a emisní spektra 300 – 800 nm pro jednotlivé oleje. Oleje byly ředěny n-hexanem v poměrech 1:50, 1:100, 1:500 z důvodu zjištění koncentrační závislosti. Směsi řepkového, slunečnicového, olivového a arašídového se sójovým olejem byly analyzovány jako typický příklad efektivnosti této metody rozlišit směsi olejů a jako možnosti detekce této metody při falšování olejů. Tepelné stárnutí bylo simulováno zahříváním olivového oleje při 110 °C po dobu 25 hod. a analyzováno na spektrofluorometru při excitaci 220 – 400 nm a následné emisi 300 – 800 nm. V průběhu zahřívání obsah oxidačních produktů narůstal a obsah chlorofylu klesal. Kvalitativní parametry olivového oleje byly hodnoceny UV/VIS spektroskopií vyhodnocením parametrů K232 a K270 dle „International Olive Council“. Prezentované výsledky demonstrují schopnost fluorescenčních technik charakterizovat a rozlišit rostlinné oleje.

Klíčová slova: rostlinné oleje, spektrofluorometrie, UV/VIS spektrometrie

ABSTRACT

The aim of the diploma thesis was the study of selected representative samples of edible oils, which were purchased in ordinarily accessible stores. Rapeseed, sunflower, soybean, olive and peanut oils were measured by UV/VIS absorption spectrometry and spectrofluorometry, and their spectra were analysed. Detected substances were compared to expected composition. The fluorescent spectra of vegetable oils were measured in the range of excitation wavelengths of 220 – 400 nm, and emission spectra 300 – 800 nm for individual oils. Oils were diluted with n-hexane in proportions 1:50, 1:100, 1:500 for observed concentration dependences. Mixtures of rapeseed, sunflower, olive and peanut oils with soybean oil were created as a typical example of the effectiveness of this method

to distinguish oil blends, and to detect oil fakes. Thermal aging was simulated by heating the olive oil at 110 ° C for 25 hours, and analysed on a spectrofluorometer in excitation of 220 - 400 nm and subsequent emission of 300 – 800 nm. During the heating the amount of oxidation products increased and the amount of chlorophyll decreased. Olive oil qualitative parameters were evaluated by UV/VIS spectroscopy by assessing the K232 and K270 parameters defined by the „International Olive Council“. Presented results demonstrate the ability of fluorescent techniques to characterize and to distinguish vegetable oils.

Keywords: vegetable oils, spectrofluorometry, UV/VIS spectrometry

Děkuji vedoucí mé diplomové práce Doc. Mgr. Barboře Lapčíkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky a péči, kterou věnovala přípravě a realizaci diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Tomáši Valentovi, doktorandovi za pomoc při práci v laboratoři.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD **11**
I TEORETICKÁ ČÁST **12**
1 VÝROBA A ZPRACOVÁNÍ OLEJŮ **13**
1.1 NUTRIČNÍ VÝZNAM 13
1.2 HLAVNÍ OLEJNATÉ SUROVINY 14
1.3 ZÍSKÁVÁNÍ TUKŮ A OLEJŮ 18
2 SLOŽENÍ ROSTLINNÝCH OLEJŮ **23**
2.1 OBECNÉ SLOŽENÍ TUKŮ 23
2.2 MASTNÉ KYSELINY 24
2.2.1 Nasycené MK 24
2.2.2 Nenasycené MK 24
2.2.3 Biosyntéza MK 25
2.3 ROSTLINNÉ OLEJE 25
2.3.1 Řepkový olej 25
2.3.2 Olivový olej 26
2.3.3 Arašídový olej 27
2.3.4 Slunečnicový olej 28
2.3.5 Sójový olej 29
3 STÁRNUTÍ OLEJŮ **31**
3.1 KVALITATIVNÍ ZMĚNY V PRŮBĚHU SKLADOVÁNÍ 31
3.2 SMAŽENÍ 33
3.3 ŽLUKNUTÍ 36
3.4 CHUŤOVÁ REVERZE 36
3.5 ZTRÁTY VÝŽIVNÉ HODNOTY PŘI OXIDACI A ZÁHŘEVU TUKŮ 37
4 SKLADOVÁNÍ ROSTLINNÝCH OLEJŮ **38**
4.1 OBALOVÉ MATERIÁLY 38
5 SPEKTROSKOPICKÉ METODY **39**
5.1 UV-VIS SPEKTROSKOPIE 39
5.1.1 Elektronová absorpční spektra 40
5.1.2 Elektronové přechody 40
5.1.3 Instrumentace 42
5.1.4 Využití spektroskopie 42
5.1.5 Spektrometr 43
5.1.6 Monochromátory 43
5.1.7 Kyveta 44
5.1.8 Fotonásobič 44
5.2 FLUORESCENČNÍ SPEKTROSKOPIE 44
5.2.1 Excitační a emisní spektra 46
5.2.2 Jablonskeho diagram 46
5.2.3 Intenzita fluorescence 47

5.3 Analytické využití fluorescenční spektroskopie 48
5.4 Ramanova spektroskopie 48
5.5 Fourier transform infrared spectroscopy - FTIR 49
II PRAKTICKÁ ČÁST 51
6 CÍL PRÁCE 52
7 MATERIÁL A METODIKA 53
7.1 Screening jedlých olejů fluorescenční spektroskopií 54
7.1.1 Detekce směsi rostlinných olejů fluorescenční spektroskopií 55
7.1.2 Tepelné stárnutí panenského olivového oleje 55
7.2 Hodnocení kvality olejů UV-VIS spektroskopií 55
8 VÝSLEDKY A DISKUZE 56
8.1 Hodnocení kvality olejů fluorescenčním spektrometrem 56
8.2 Detekce směsí rostlinných olejů fluorescenční spektroskopií 60
8.3 Hodnocení kvality olejů UV/VIS spektroskopií 62
8.4 Hodnocení kvality extra panenského olivového oleje 65
8.5 Zkouška kvality olivového oleje dle kritérií „International Olive Council“ 68
ZÁVĚR 70
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 71
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK 76
SEZNAM OBRÁZKŮ 77
SEZNAM TABULEK 78

ÚVOD

Náš příjem potravou se skládá ze tří makroživin (bílkovin, sacharidů a lipidů) a také, z neznámého množství stopových prvků (vitamíny, minerály, antioxidanty, atd). Dobrý zdravotní stav spočívá částečně v přiměřeném a vyváženém dodávání těchto komponentů. Tuky jsou hlavním energetickým zdrojem z potravy (37,7 KJ/g), což znamená, že odbouráním 1g tuku náš organismus získá mnohem více energie než při odbourávání sacharidů (16,7 KJ/g) nebo bílkovin (16,9 KJ/g). V těle slouží tuk jako zdroj energie v podobě tukové tkáně. Stále více pozornosti je cíleno na kardiovaskulární onemocnění, problematiky aterosklerózy jako příčiny těchto onemocnění. Hlavní roli při vzniku těchto onemocnění hrají stravovací návyky, velký příjem tuků, zvýšený příjem cholesterolu, přejídání, nedostatek antioxidačních látek. Problematika tuků je velmi aktuální, neboť spotřeba je daleko vyšší, než jsou výživová doporučení. Důležitým faktorem je současně složení mastných kyselin. Ve stravování bychom se vyvarovat nasyceným a trans nenasyceným mastným kyselinám.

Spektrální metody analýzy jsou v dnešní době používány téměř ve všech vědních disciplínách, monitoring životního prostředí, energetika, kriminalistika, potravinářství. Tyto techniky vynikají svou citlivostí a nedestruktivností. Studovali jsme několik rostlinných olejů, které jsou běžně k dispozici na trhu, sójový, řepkový, slunečnicový, olivový olej a arašídový oleje. Praktická část je věnována kvalitativní analýze vybraných olejů spektrálními metodami, UV/VIS a fluorescenční analýzou. Fluorescence má mnoho uplatnění, v analytické chemii, v kvantitativní i kvalitativní analýze, v biochemii. UV/VIS spektrofotometrie se využívá jako analytická metoda ke stanovení absorpčního profilu. Sleduje závislost absorpce na vlnové délce. V závěru praktické části jsme se zabývali analýzou tepelného stárnutí v olivovém oleji. Výsledky mají charakterizovat a rozlišit rostlinné oleje, a navíc, charakterizovat účinek tepelné oxidace na tyto produkty.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VÝROBA A ZPRACOVÁNÍ OLEJŮ

1.1 Nutriční význam

Tuky a oleje patří mezi základní potraviny a jejich zpracování je historicky známé. Hlavními zdroji surových olejů a tuků jsou zejména semena a plody rostlin, tkáně zvířat a tkáně mořských savců a ryb. Vedle svého nutričního hlediska mají i své průmyslové využití jako chemická surovina, popřípadě palivo (využití olejů na výrobu bionafty). Jedná se o obnovitelný zdroj energie [1].

Z nutričního hlediska představují oleje a tuky významný zdroj energie, esenciálních MK, fosfolipidů, lipofilních vitaminů a dalších biologicky aktivních složek. Rostlinné oleje a tuky neobsahují cholesterol, který je v současné době často diskutovaným tématem.

Z historického pohledu se stávaly živočišné tuky postupně omezené a docházelo k přechodu na pěstování olejnatých druhů rostlin. Rostlinné oleje jsou z ekonomického hlediska cenné nejen pro svoji užitnou hodnotu, ale také pro svou poměrně jednoduchou výrobu. Hned na začátku svého rozvoje se musel tukový průmysl vyrovnat se skutečností, že většina produkce představovala kapalné oleje, kdežto tradiční spotřeba vyžadovala tuky o vhodnější konzistenci. Tuto disproporci vyřešil objev parciální katalytické hydrogenace olejů, tedy výroba ztužených tuků. Důsledkem tohoto vývoje byl nárůst tělních lipidů obsahujících zvýšené množství trans-kyselin, neboť tyto výrobky obsahovaly 30 – 40 % těchto izomerních MK. Koncem 20. století zesílily pochybnosti o nepříznivém vlivu na lidské zdraví a bylo přistoupeno k jejich výraznému snižování, nejprve v margarinech. V současné době již většina produkce výrobců obsahuje i méně než 1 – 2 % trans-izomerů [2].

Základním produktem tukového průmyslu je plně rafinovaný rostlinný olej (jednodruhový nebo směsný) se základním použitím v kuchyni. Z důvodu nižší oxidační stability není správné používat oleje obsahující kyselinu linolenovou při vysokých teplotách, např. při smažení.

Druhou hlavní skupinu představují emulgované tuky, pod běžným názvem margariny a pokrmové tuky. Jejich uplatnění je v domácnosti široké, především v pekárenství a u cukrářských výrobků.

Zvláštní skupinu představují tzv. tukové speciality, jako jsou tuky pro výrobu cukrovinek a čokolád, u kterých se požadují specifické fyzikální a konzistenční vlastnosti [3].

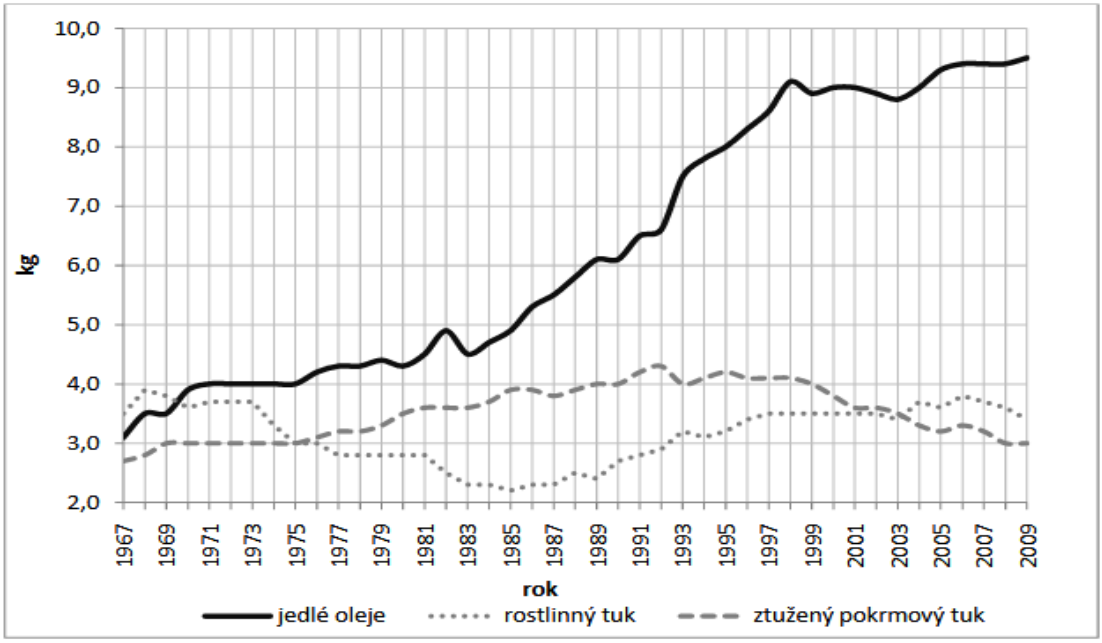
Energetický příjem z tuků by neměl být vyšší než 30 % energetického příjmu, což představuje přibližně 60 – 80 gramů za den u dospělého člověka. V současnosti je v lidské stravě nadbytek tuků, téměř 150 % denní doporučené dávky, tj. zhruba 115 gramů na den u dospělého člověka. Největší podíl mají potraviny a pokrmy s tak zvaným skrytým tukem, jehož největším zdrojem jsou trvanlivé pokrmy, vysoce upravené pokrmy, jemné pečivo, smažené pokrmy apod. Důležitý není jen celkový příjem, ale i složení přijímaného tuku. Podle nejnovějších studií by měl být poměr nasycených mastných kyselin: monoenových : polyenových 1 : 1,4 : 0,6 a poměr n-6 a n-3 = 5:1 až 2:1 [2].

1.2 Hlavní olejnaté suroviny

Objem světové výroby rostlinných olejů a tuků je na trvalém vzestupu, oproti tomu produkce živočišných tuků zaznamenává vzestup nižší. Významně se změnily hlavní produkční oblasti, kde se podíl na světové produkci olejnin podstatně rozšířil podíl na Severní Ameriku, Evropu, jihovýchodní Asii, zatímco v tradičních produkčních oblastech Asie a Afriky produkce vzrůstá pomaleji [3].

Podle množství vyráběného oleje je nejvýznamnější olejninou sója, následuje palma olejná. Z další produkce se získává olej řepkový, slunečnicový, bavlníkový, podzemnicový, kokosový, sezamový, olivový, palmojádrový, lněný, ricinový. Řada dalších olejnin má pouze lokální nebo jinak omezený význam a na světovém trhu se neuplatňuje (klíčkové oleje, tabákový, makový aj.).

V České republice je hlavním představitelem pro výrobu oleje řepka olejná a pěstování dalších olejnin má pouze okrajový význam, jako například slunečnice [3].



Obr. 1: Graf spotřeby jedlých olejů, rostlinných tuků a ztužených pokrmových tuků v tržní síti v letech 1967 – 2009 (kg/os/rok) [9].

Řepka olejná*(Brasicanapus L.*)

Jedná se o jednoletou rostlinu kvetoucí žlutými květy, patřící do skupiny brukvovitých. V našich klimatických podmínkách je řepka nejdůležitější olejninou a také jednou z nejproduktivnějších plodin vůbec. Plodem řepky jsou šešule, obsahující 9 až 25 semen s přibližně 45 % oleje, ve kterém převažuje kyselina eruková [1].

Len setý (*Linumusitatissimum L.)*

Nejstarší kulturní plodina, kdy je její použití jako vlákniny známé více než 12 000 let. Dnes se len pěstuje ve dvou typech jako len přadný a len olejný. Tobolky jsou kulovitého tvaru a obsahují 5 až 10 leskle hnědých semen s obsahem 30 – 40 % oleje. Len je nejznámějším představitelem vysychavých olejů, který se často zpracovává pro výrobu nátěrových hmot, v některých zemích se konzumuje i jako stolní olej [1].

Hořčice bílá (*Sinapis alba L.*)

Jarní olejnina obsahující 25 – 35 % oleje podobného složení jako klasická řepka, pro své malé výnosy a nízkou olejnatost se zpracovává jako olejnina jen výjimečně [1].

Mák setý (*Papaversomniferum L.*)

Makové semeno obsahuje přes 40 % oleje s až 70 % kyseliny linolové, jeho výnosy jsou však velmi malé a v tukovém průmyslu se zpracovává jen výjimečně. Makový olej je dieteticky velmi cenný [1].

Slunečnice roční (*Heliantumannuus L.)*

Rostlina je velmi náročná na živiny a při nedostatku je odčerpává z půdy. Semeno obsahuje 25 – 50 % oleje výborné potravinářské jakosti, je vhodné k výrobě stolních olejů, obsahuje převážně kyselinu linolovou. Důležitá je doba sklizně, kdy se začíná olej hromadit ke konci kvetení a maximálního obsahu dosahuje až s koncem vegetace [1].

Podzemnice olejná *(Arachishypogaea L.)*

Společně se sójou patří do čeledi bobovitých. Její původ je v jižní Americe, odkud ji rozšířili portugalští objevitelé. Jednoletá rostlina se žlutými až červenavě žlutými květy. Podzemnicový olej obsahuje 43 – 60 % kyseliny olejové, maximálně 33 % kyseliny linolové. Díky svému složení má velkou trvanlivost jako salátový olej a může sloužit i jako náhražka kakaového másla do čokolády [1].

Sója luštinatá (*Glycine soja*)

Na sójové boby připadá až 35 % celkové světové výroby rostlinných olejů. Jedná se o velmi starou rostlinu pocházející z Číny. Z dietetického hlediska je sójový olej vynikající, jelikož obsahuje zhruba 50 % kyseliny linolové a více než 80 % nenasycených kyselin. Možnost použití je ve ztužené formě do margarínů, shorteningů nebo jako stolní olej [1, 3].

Oliva (*Olea europaea var. Europia*)

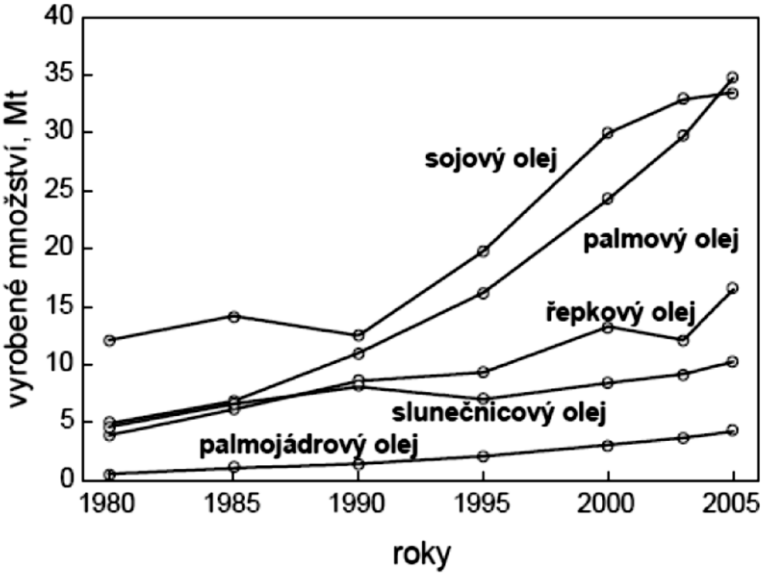
Olivový olej se získává z dužin plodů. Jedná se o tradiční potravinářský salátový olej ze středomořské oblasti. Má vynikající oxidační stabilitu a největší cenu z rostlinných olejů, což je důvod častého falšování. Dužina obsahuje přibližně 40 – 60 % oleje, pecka uzavírá jádro s obsahem 12 % oleje složením podobného dužině. Na tom, jak bude olej kvalitní, má vliv surovina, způsob zpracování a skladování. Olivový olej obsahuje 70 % kyseliny olejové, pod 10 % nasycených kyselin a neobsahuje kyselinu linolenovou. Takovéto složení zaručuje čirost a velkou trvanlivost, což je příčinou značné obliby u spotřebitelů [1].

Palma olejná (*Elaeisguineensis L.*)

Strom původem z tropické Afriky je nyní pěstován na velkých plantážích. Plody jsou seskupeny do hroznovitého útvaru, kde je několik set plodů velikosti švestky. Plod má oranžově červenou barvu a uvnitř pecku. Dužina dle obsahu vody a zralosti plodu obsahuje 40 – 60 % palmového oleje s kyselinou palmitovou a stearovou [3,1].

Tab. 1: Přehled nejdůležitějších olejnatých semen, jejich složení a množství oleje v nich [16].

semeno	Poměr jednotlivých částí semen (%)		Množství oleje (%)		
	tobolka skořápka slupka	jádro	celé semeno	jádro	slupka
bavlník	38 - 50	50 - 62	15 - 25	28 - 40	-
hořčice	20	80	25 - 45	-	-
kakaové boby	12	88	48 - 57	-	-
kokosový ořech	65 - 75	35 - 45	-	35 - 40	-
kopra (sušené jádro)	-	-	-	62 - 70	-
len	43	57	30 - 45	55 - 60	20 - 25
lnička	-	-	25 - 35	-	-
mák	-	-	30 - 55	-	-
palma olejná	75	25	-	46 - 53	51 - 67
podzemnice olejná	25	75	30 - 39	42 - 56	0,5 - 1,0
ricinové boby	25 - 30	70 - 80	40 - 50	-	-
řepka olejná	18	82	35 - 48	-	-
sezam	-	-	45 - 55	-	-
slunečnice	40 - 55	45 - 60	25 - 36	40 - 57	0,5 - 2,0
sójové boby	7	93	16 - 26	-	-



Obr. 2: Celosvětový vývoj produkce olejů [14].

1.3 Získávání tuků a olejů

Rostlinné oleje a tuky se získávají:

- Z dužin plodů, nelze je přepravovat a je nutné jejich zpracování na místě ihned po sklizni, obchoduje se tak výhradně s oleji.
- Ze semen, bobů, zde náleží většina olejů, semena je možné dlouhodobě skladovat a přepravovat, což umožňuje jejich obchodování v podobě semen a bobů nebo již jako hotové oleje [3].

Oproti živočichům, kteří ukládají tuk převážně v těle, rostlina ukládá tuk v semenech, výjimečně v dužině plodů. Tam tvoří zásobu energie pro růst nové rostliny. Rostlinné suroviny pro výrobu tuků a olejů se nazývají olejniny. Chemické a fyzikální vlastnosti tuků a olejů získaných z různých druhů olejnin jsou odlišné [16].

V současné době se oleje a tuky získávají z rostlinných semen dvěma základními způsoby, a to lisováním, což je mechanické oddělení oleje z rostlinných pletiv působením tlaku a extrakcí, tedy pomocí organického rozpouštědla obvykle hexanu. Většina výrobců využívá obou způsobů. Extrahovaný a lisovaný surový olej se po oddělení mechanických nečistot dále zpracovává společně. Z tuků a olejů rostlinného původu lze použít v zásadě všechny, které jsou poživatelné (nevhodný je např. olej ricinový, konopný, lněný). Rafinované oleje by měly být světlé, s neutrální nebo jen velmi slabou charakteristickou chutí a vůní a ob-

sahem vyšších mastných kyselin do 0,3%. U nás se nejčastěji používá olej slunečnicový, sójový, podzemnicový, řepkový, hořčičný, daleko méně než olej bavlníkový, kokosový, palmojádrový a palmový tuk, a to v kapalné nebo ztužené formě.

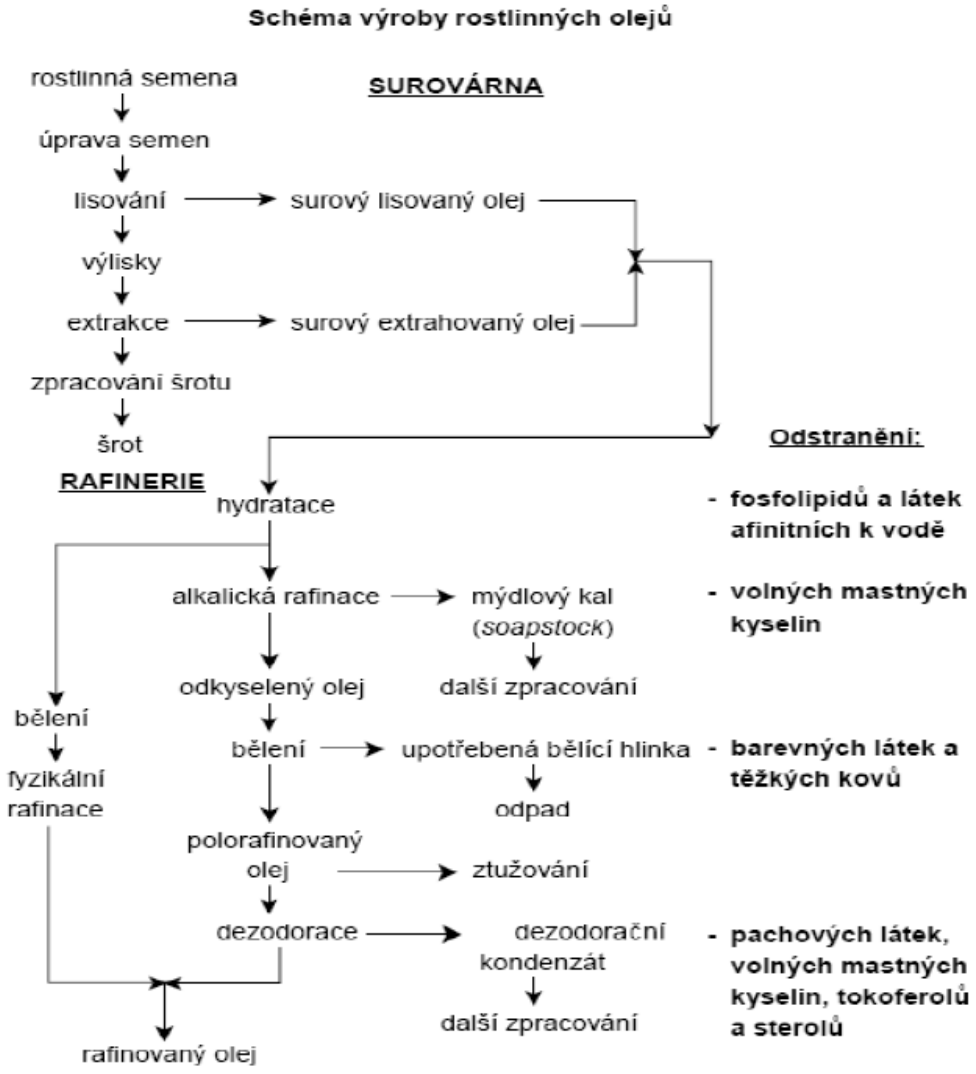
Základním procesem získávání olejů je lisování. Za hranici využití tohoto postupu se považuje obsah tuku v olejnině více než 25 - 30% své hmotnosti [18].

K mletí semen se využívá mlecí stolice, která má horizontální nebo diagonální uspořádání válců, ty se otáčejí nestejnou rychlostí proti sobě. Působením střižných sil dochází k dezintegraci semene na průměrnou velikost částic 1 - 2 mm, čímž se dosáhne částečného mechanického narušení pletiv a buněk. Následují další fyzikálně-chemické pochody působící na semeno, jakými jsou např. klimatizace, kdy se účinkem páry a zvýšené teploty narušuje struktura materiálu a dosahuje se lepšího uvolňování oleje při lisování a extrakci. Tento proces se realizuje v nahřívacích pánvích, v kterých se při teplotách dosahujících 90 - 100ºC upravuje obsah vlhkosti narušených semen na 6 – 9% hmotnosti. Klimatizovaný materiál postupuje přímo do šnekových lisů. Lisy se skládají ze šnekovice, ceďákového koše s lamelami, jejichž výřezy odtéká olej. Stlačením semen se docílí uvolnění oleje.

K dalšímu snížení obsahu oleje v semeni se využívá technologie extrakce. Extrakce probíhá za teploty asi 45 – 55°C a rychlost je ovlivňována např. rychlostí toku rozpouštědla. Z vyextrahovaného materiálu se odpaří rozpouštědlo v zařízení zvaném toaster, účinkem přímého parního ohřevu a nepřímého ohřevu, k tomu vznikají šroty, které mohou být využity např. jako krmivo. Hlavním cílem extrakce je získat pomocí vhodných rozpouštědel maximální množství olejů z nízkoolejnatých surovin nebo z výlisků vysokoolejnatých semen na zbytkový obsah oleje ve šrotech pod 1% hmotnosti. Zpravidla je používán hexan. Získaný surový olej obsahuje řadu doprovodných látek, které se ze surového oleje odstraňují. Proces čištění oleje se nazývá rafinace. Prvním rafinačním krokem je tzv. hydratace - odslizení, která je založena na působení vody, roztoků kyselin a zejména koncentrovaných polyfunkčních kyselin (ortofosforečná, citronová) na glycerofosfolipidy, glykolipidy a další látky afinitní k vodě. Tyto látky mají schopnost vázat vodu a koagulovat. Koagulát je separován sedimentací nebo odstředěním. Získá se hydratační kal, ze kterého se odpaří voda, a dále je získáván lecitin. Nejpoužívanějším způsobem odkyselování olejů je alkalická rafinace – neutralizace, která spočívá v neutralizaci volných mastných kyselin vodným roztokem hydroxidu sodného za vzniku mýdel. Současné kontinuální linky zahrnují hydratační, neutralizační a sušící stupeň. Dalším způsobem k odstranění volných mastných kyselin z oleje je destilování při teplotě 220 - 240ºC, tlaku 0,5 kPa a vstřiku nasycené vodní páry [21].

Barevné látky se odstraňují při bělení, čímž se získá se polorafinovaný olej. Podstatou tohoto procesu je adsorpce karotenoidních a feofytinových barviv na bělící lince bentonitového typu. Bělení probíhá při teplotě 80 - 95ºC za vakua, aby nedocházelo k oxidaci olejů.

Posledním rafinačním krokem je deodorace. Jedná se o destilaci s vodní parou po dobu působení 1 - 6 hodin při teplotě 180 - 240ºC. Při dezodoraci jsou odstraněny nežádoucí pachové a chuťové látky, volné mastné kyseliny, steroly a tokoferoly. Takto rafinovaný olej je určen k přímé spotřebě [3,14].



Obr. 3: Schéma výroby rostlinných olejů [19].

Krystalizace a emulgace tuků

Rostlinné oleje a tuky se konzumují přímo nebo se emulgují. Základním problémem je, že většina rostlinných olejů má kapalnou podobu, zatímco jsou více žádané tuky vhodnější konzistence, tedy podobu jako tradičně využívané živočišné tuky sádlo a máslo. Tuková násada je pojem určený pro rostlinný tuk určený k výrobě pokrmových a emulgovaných roztíratelných tuků. Tuková násada se vyrábí mísením tekutého oleje a tzv. strukturního tuku. Strukturní tuk je složen z triacyglycerolů o vyšších bodech tání, které v tukové násadě krystalizují, čímž vytvoří krystalickou strukturu. Strukturní tuk je nositelem tukové násady a jejích fyzikálních i texturních vlastností. Strukturní tuk je možné vyrobit parciální katalytickou hydrogenací neboli ztužováním, esterovou výměnou – transesterifikací a frakcionací. V současné době není využíváno ztužování, jelikož je přítomnost transisomerů v tucích považována za nevhodné z výživového pohledu [25].

Pokrmové tuky neboli shorteningy jsou určeny pro smažení nebo jako tuky do tukových těst. Z hlediska konzistence mohou být tekuté, polotekuté i tuhé.
Klasickým emulgovaným tukem je margarin, který obsahuje minimálně 80 % tuk a zbytek je tvořen vodnou fází. Proces získání margarinu je mechanický, který se provádí emulgací tukové násady obohacené o emulgátor s vodnou fází a následnou krystalizací. Jedná se o obdobu másla, emulzi typu voda v oleji. Dnešní technologie umožňuje vyrábění emulgovaných tuků s nižším obsahem tukové fáze.

Zvláštním druhem emulgovaných tuků jsou majonézy. Emulgátor zde představuje vaječný žloutek. Jedná se o ochucenou emulzi typu olej ve vodě [4].

Kvalitativní zkoušky

Stanovení čísla kyselosti tuku:

Vzorek se rozpustí v nepolárním rozpouštědle a titruje se ethanolickým roztokem hydroxidu draselného na indikátor s intervalem přechodu v mírně alkalické oblasti. Vzorek se odváží do baňky, rozpustí se ve stejném objemu ethanolu a diethyletheru. Roztok se titruje ethanolickým roztokem hydroxidu draselného na fenolftalein nebo na thymolftalein pokud by se jednalo o tmavý vzorek. Pokud má vzorek obzvlášť tmavou barvu, lze titrovat pomocí potenciometrie. Číslo kyselosti se vyjádří jako množství hydroxidu draselného v mg potřebného k neutralizaci 1 g vzorku. Výsledek je možné vyjádřit v ml 1 M roztoku hydroxidu draselného potřebného k neutralizaci 100 g vzorku [44].

Stanovení peroxidového čísla:

S přesností na 1 mg se odváží dané množství vzorku, který se rozpustí v chloroformu, přidá se koncentrovaná kyselina octová, promíchá se a přidá se nasycený roztok jodidu draselného. Baňkou se třepe po dobu jedné minut a poté se nechá stát pět minut v temnu. Následně se přidá voda a uvolněný jód se titruje za intenzivního třepání vodným roztokem thiosíranu sodného. Stejným způsobem se provede slepý pokus, tato hodnota se odečte od vlastního stanovení [45].

Jodové číslo:

Ukazatelem obsahu dvojných vazeb je jodové číslo. Ke stanovení obsahu těchto vazeb se používá Hanušova metoda, jejímž principem je adice interhalogenové sloučeniny na vzorek tuku a pomocí titrace stanovení nadbytku činidla. Jodové číslo vyjadřuje míru nenasycenosti MK v tuku. Podle tohoto čísla se olej děli na nevysychavé – hodnota do 60% čísla, polovysychavé – hodnota mezi 60 – 120 % čísla a vysychavé – hodnota nad 120 % čísla [49].

2 SLOŽENÍ ROSTLINNÝCH OLEJŮ

2.1 Obecné složení tuků

Po chemické stránce se rostlinné oleje řadí do skupiny lipidů, které jsou organické sloučeniny esteru trojsytného alkoholu glycerolu a mastných kyselin, které je velmi složité vyrábět syntetickým způsobem. Nejčastěji se proto získávají z různých rostlinných součástí. Rozdílné mastné kyseliny a způsob jejich uložení v molekule ovlivňuje ve značné míře fyzikální a chemické vlastnosti, zvláště pak jejich konzistenci. Mastné kyseliny jsou u olejů navázány esterovou vazbou na všechny tři alkoholické skupiny glycerolu. Vyšší obsah nenasycených mastných kyselin dává olejům tekutý charakter. Jedním z důvodů může být také skutečnost, že rostliny jsou schopny využívat své tuky pouze v tekuté podobě. Slunečnicový, makový nebo olej z lískových oříšků ovšem netuhne ani při nižších teplotách [5].

V současné době se za lipidy považují mastné kyseliny a jejich deriváty odvozené jak biochemicky, tak funkčně. Většinou jsou za lipidy považovány netěkavé lipofilní sloučeniny, které v přírodních i průmyslových produktech doprovázejí vlastní lipidy. Z tohoto důvodu se nazývají jako doprovodné látky lipidů. Do této skupiny náleží velké množství sloučenin jako například terpenoidy, steroidy, karotenoidy a dále lipofilní vitaminy a některá barviva, přírodní antioxidanty a další [15].

Podle chemického hlediska se lipidy člení do tří hlavních skupin a jedné doprovodné skupiny:

- Homolipidy
- Heterolipidy
- Komplexní lipidy
- Doprovodné látky lipidů

Estery glycerolu

Představují nejvýznamnější potravinářské lipidy. Podle svého skupenství se označují jako tuky nebo oleje. Jako oleje se označují, pokud jsou při okolní teplotě kapalné. V přírodě jsou nejčastěji na molekulu glycerolu vázány tři MK, což dává vzniku triacylglycerolům. V organismech jsou konečnými produkty a syntetizují se z MK a glycerolu za působením lipás. Triacylglyceroly slouží v organismech hlavně jako rezervní zdroj energie. Když organismus potřebuje energii, kterou není schopen získat ze zásob sacharidů, převádí

triacylglyceroly ve formě hydrofilních lipoproteinů k příslušným buňkám, kde jsou metabolizovány. Ve střevní stěně nedojde ke tvorbě triacylglycerolů, ale k transportu do jater kde jsou odbourávány. Jistá část je využita ke tvorbě tkání, membrán a syntéze heterolipidů [5].

2.2 Mastné kyseliny

Nejvýznamnější složkou lipidů jsou mastné kyseliny, které se vyskytují v těchto skupinách:

- Nasycené MK
- Nenasycené MK s dvojnou vazbou – monoenové
- Nenasycené MK s několika dvojnými vazbami – polyenové
- MK s trojnými vazbami a různými substituenty – rozvětvené, cyklické, s kyslíkatými, sirnými nebo dusíkatými akčními skupinami

2.2.1 Nasycené MK

Nasycené mastné kyseliny jsou běžnou složkou lipidů, ve kterých tvoří přibližně 10 – 40 % z celkových MK. Často jsou pro ně používány názvy triviální místo systematických názvů odvozených od odpovídajících uhlovodíků. Mají z pravidla lineární nerozvětvený řetězec, nejčastěji v sudém počtu atomů uhlíku [5].

Jejich obecný vzorec je **CH_3-$(CH_2)_n$-COOH**

2.2.2 Nenasycené MK

Z výživového hlediska jsou hodnoceny pozitivně a jejich podíl ve výživě bychom měli navýšit. V uhlíkatém řetězci obsahují jednu nebo více nenasycených dvojných vazeb (-CH=CH-). Dle počtu těchto vazeb v uhlíkatém řetězci se dále dělí na monoenové (s jednou dvojnou vazbou), jejichž hlavním zástupcem je kyselina olejová, polyenové (s více dvojnými vazbami). Mezi polyenovými kyselinami rozlišuje MK řady n-6 a n-3.

Zdrojem n-6 MK jsou rostlinné oleje jako olej slunečnicový, sezamový, makový, zdrojem n-3 MK je oleje řepkový, sójový a lněný.

Nenasycené mastné kyseliny jsou reaktivnější než nasycené. Významné jsou jejich oxidační reakce s různými formami kyslíku, při nichž dochází k tzv. oxidačnímu žluknutí olejů, které vede k jejich senzorickým a chuťovým vadám. Díky svému nízkému bodu tání mají oleje tekutou konzistenci [13].

2.2.3 Biosyntéza MK

Mastné kyseliny přijímáme potravou a navíc jsou syntetizovány i v organismu, především v tukové tkáni a játrech. Jednotlivé kroky jsou katalyzovány enzymovým systémem, syntázou MK. Najdeme ji v cytoplazmě a jako výchozí molekulu využívá acetyl-CoA. Acetylový zbytek se v cyklické reakci sedmkrát prodlouží o C_2, a redukčním činidlem je NADPH. Výsledným produktem je nasycená C_{16} MK, kyselina palmitová, která se může následně přeměňovat na další MK [8].

„De novo“ syntézou vznikají v cytoplazmě nenasycené MK. Při procesu elongace (prodlužování) se vytvářejí MK s vyšším počtem uhlíků v endoplazmatickém retikulu a v mitochondriích. Nenasycené MK vznikají v endoplazmatickém retikulu pomocí desaturás na nasycené MK. Některé z nenasycených MK nemohou být u člověka syntetizovány kvůli vysoké specifitě těchto enzymů a musejí být dodávány z vnějšího prostředí [12].

2.3 Rostlinné oleje

2.3.1 Řepkový olej

Řepkový olej patří v dnešní době mezi oleje s dobrým složením mastných kyselin. Obsahuje zhruba 60 % MUFA (kyselina olejová), do 10 % SFA a přibližně 30 % PUFA, z čehož asi 20 % tvoří n-6 a 10 % n-3, což je příznivý poměr. Nebylo tomu tak ale vždy, semena řepky jsou bohatá na kyselinu erukovou, což je mononenasycná MK s nepříznivými účinky na lidské zdraví a proto byly vyšlechtěny nové odrůdy, které tuto kyselinu obsahují v minimálním množství. Díky tomu se dnes vyrábí olej v podstatě už pouze z nich. Jedním z kultivarů je i canola - canolový olej, v zahraniční literatuře často používaný termín místo řepkového oleje [29].

Díky tomuto vylepšenému složení je řepkový olej vhodný pro výživu, zejména pro studenou kuchyni. Vhodný je i na smažení (krátké a jednorázové), ale vzhledem k vyššímu obsahu n-3 PUFA je méně stabilní a pokud je delší dobu vystavován vysokým teplotám, dochází ke vzniku oxidačních, případně polymeračních produktů. Nižší stabilita platí samozřejmě i vůči kyslíku. To s sebou přináší kratší trvanlivost oleje, a proto jsou v současnosti snahy o vyšlechtění dalších odrůd řepky s nižším obsahem kyseliny α-linolenové. Stojí tak proti sobě dva zájmy – získat kvalitní potravinářskou surovinu sloužící jako zdroj n-3 PUFA, nebo získat olej s vyšší oxidační stabilitou.

Látkové složení semene řepky je dané množstvím tuku 44 – 46 %, obsahem hrubých bílkovin 22 %, sacharidů 18,5 %, celulózy 5 %, popelovin 1,5 %. Z antinutričních látek obsahuje řepka lignin 5 %, glukosinoláty 4 % (ovlivňují vstřebávání jódu do štítné žlázy), fytin 2,5 %, tanin 1,5 %, sinapin, který způsobuje hořkou chuť je v současné technologii odstraňován pomocí exktrakce a volné MK. Kyselina Eruková je nenasycená MK, která může mít negativní vliv na lidský organismus a způsobovat poškození myokardu [26].

Zdravotní účinky řepkového oleje vycházejí z jeho příznivého profilu mastných kyselin. Vlivy MUFA na hladinu krevních lipidů a lipoproteinů již byly zmíněny a s tím i jejich pozitivní působení z hlediska kardiovaskulárního onemocnění, stejně tak účinky n-3 PUFA. Řepkový olej je druhým nejbohatším zdrojem kyseliny α-linolenové v porovnání s ostatními rostlinnými oleji, navíc je v našich podmínkách dobře dostupný [46,47].

2.3.2 Olivový olej

O olivovém oleji se dá říci, že patří mezi nejpopulárnější oleje. Stejně jako řepkový olej má příznivé složení mastných kyselin, obsahuje přes 70 % MUFA, obvykle do 15 % SFA a do 20 % PUFA, které jsou zastoupeny téměř výlučně řadou n-6 a řada n-3 je zastoupena pouze ve stopovém množství. Toto složení je však velmi proměnlivé, hodně závisí na podmínkách pěstování suroviny. Kromě těchto hlavních komponent obsahuje olivový olej další důležité látky, kterými jsou vitamin E, karotenoidy a polyfenoly. Ty jsou sice v malém množství jako tzv. minoritní látky v oleji, ale všechny mají funkci antioxidantů a spolu s nízkým množstvím kyseliny α-linolenové značně přispívají k vyšší oxidační stabilitě, než má např. řepkový olej. Díky polyfenolům má navíc olivový olej typické aroma.

Olivový olej má dobré výživové vlastnosti a hodí se jak pro přípravu studené, tak teplé kuchyně. Pro tepelnou úpravu by se neměly používat panenské olivové oleje, neboť jejich vystavením vysokým teplotám dochází ke ztrátám zmiňovaných příznivých minoritních látek. Vzhledem k vyšší ceně panenského olivového oleje je tak ztráta těchto látek spíše na škodu. Na přípravu salátových zálivek, dresinků i na ostatní použití ve studené kuchyni jsou však panenské oleje vhodné.

Zdravotní účinky olivového oleje jsou prokazovány zejména v souvislosti s tzv. středomořskou dietou, která je bohatá právě na olivový olej spolu s ovocem, zeleninou a konzumací ryb. U lidí konzumujících tuto stravu byl prokázán nižší výskyt kardiovaskulárních onemocnění. U takovéto diety se předpokládá i snížení rizika některých typů rakoviny, není však jasné, jakým mechanizmem k tomu dochází. Spekuluje se jak o vlivu MUFA, tak polyfenolů v olivovém oleji [46,47].

Tab. 2: Druhy olivového oleje.

Panenské oleje	**Kyselost**
Extra panenský olivový olej	0,8 g na 100 g
Panenský olivový olej	Méně než 2,0 g na 100 g
Obyčejný panenský olivový olej	Méně než 3,3 g na 100 g
Rafinované oleje	
Rafinovaný olivový olej	Méně než 1,5 g na 100g
Rafinovaný olivový olej z pokrutin	Méně než 0,5 g na 100 g
Směsi	
Olivový olej	Méně než 1,5 g na 100 g
Olej z pokrutin	Méně než 1,5 g na 100 g

2.3.3 Arašídový olej

Olej s příjemnou oříškovou chutí, vhodný ideálně na smažení, jelikož má jedinečnou vlastnost – neabsorbuje chutě různých druhů potravin. Díky tomu si každá z potravin

udrží své typické aroma a chuť. Arašídový oleje je jeden z nejzdravějších olejů. Jedná se rostlinný olej, který je charakteristický nízkým obsahem cholesterolu a nízkým obsahem nasycených a nenasycených MK. Nejvíce jsou zastoupeny mononenasycené MK Je zdrojem antioxidantů, vitaminu E a fytosterolů. Oxidační stabilita arašídového oleje úzce souvisí s jeho vyzrálostí, čím více vyzrálí tím více stabilní. Světle žlutá barva oleje je dána barvivy beta-karotenu a luteinu [26].

V arašídovém oleji je zastoupení až 96 % TAGs, kde je největší procento kyseliny palmitové, stearové, olejové, linolové. Olej obsahuje až 7 % MK s dlouhým řetězce a to kyselinu s počtem C22:0, C22:0, C24:0. Díky tomu, že neobsahuje kyselinu alfa-linolenovouje oxidačně stabilní a vhodný na smažení.

2.3.4 Slunečnicový olej

Slunečnicový olej patří mezi nejpoužívanější v českých kuchyních, a to i z důvodu dobré dostupnosti oproti jiným olejům. Obsahuje přes 60 % n-6 PUFA, kolem 20 % MUFA, 10 % SFA a pouze stopy n-3 PUFA. Stejně jako u řepky jsou však šlechtěny i nové varianty, které mohou obsahovat i převažující množství MUFA.

Tento olej je vhodný díky vysokému obsahu n-6 PUFA, které nejvíce ze všech MK snižují hladinu celkového cholesterolu a tím napomáhají snižovat riziko vzniku KVO. Vzhledem k množství však není příliš vhodný na smažení. Jeho „nevýhodou“ je také velmi malý obsah n-3 PUFA

Rod slunečnice je vyšlechtěný do několika forem:

1. semenné formy - olejný typ

    a) tradiční – vysoký obsah kyseliny linolové

    b) olejový – vysoký obsah kyseliny olejové

        - cukerný typ – obsahuje nižší množství oleje a více sacharidů a bílkovin

2. silážní formy – významné krmivo

3. okrasné formy

Mimo hlavního produktu což je olej, jsou využívány také pokrutiny a extrahované šroty pro výrobu krmných směsí. Tyto vedlejší produkty jsou využívány jako hodnotné krmivo s výbornou stravitelností [29].

Tab. 3: Složení slunečnicového oleje [26].

Mastná kyselina	Obsah, %
Palmitová	4 – 9
Stearová	1 - 7
Olejová	14 – 40
Linolenová	0,3

Pro výrobu jsou používána semena s obsahem oleje nad 45 %. Semeno obsahuje 20 – 30 % bílkovin, 7 – 10 % sacharidů, 3 – 3,5 % minerálních látek s převahou fosforu, draslíku, hořčíku, vápníků, 2 – 3 % hrubé vlákniny, lecitin, enzymy, tokoferoly, karotenoidy, vitaminy – vysoké množství vitaminu E, který chrání kůži a je dobrý v prevenci srdečně cévních onemocnění. Součástí oleje jsou také steroly a fosfolipidy s obsahem do 1 %.

2.3.5 Sójový olej

Základními složkami jsou voda, bílkoviny, lipidy, bezdusíkaté látky, minerální látky a vláknina. Mimo těchto látek obsahují semena lecitin a malé množství karoteny, kefaliny, cholin, enzymy, steroly, saponiny, flavonoidy, betain a širokou škálu vitamin rozpustných ve vodě i v tucích. V semeni obsahuje sója vysoký obsah kvalitních bílkovin. Zástupci jsou globuliny a malé množství albuminů. Složení bílkovin je ovlivněno druhem, odrůdou, výživou a půdně klimatickými podmínkami [26].

Obsah oleje v bezcholesterolové formě je přibližně 17 – 22 %. Olej v semenech patří k olejům vysychavým. Je charakteristický vysokým obsahem omega-3 MK a je bez kyseliny erukové. Olej má vysokou biologickou hodnotu. Zvýšený příjem fosfolipidů je prospěšný ke snižování rizika aterosklerózy, prevenci a léčbě žlučových kamenů a zlepšuje

trávení tuků. Vitamíny jsou další složkou, pro kterou je sója cenná, hlavně díky obsahu vitaminů skupiny B. Obsah sacharidů je poměrně nízký a stálý okolo 20 – 30 % v semenu. Minerální složky jsou zastoupeny v množství přibližně v 5 – 6 %, z toho je 1/3 vápníku, a téměř 1/7 fosforu. Významný je i obsah železa.

Sója obsahuje kromě látek prospěšných i látky, které jsou z výživového hlediska negativní. Antinutričními látkami jsou proteiny s nízkou molekulovou hmotností, způsobují inhibici proteolytického enzymu trypsinu, dále fytohemaglutiny, které zpomalují růst. Obsažené oligosacharidy (stachyóza, verbaskóza, rafinóza) způsobují nepříjemnou tvorbu plynů v trávicím traktu. V neposlední řadě obsahují fytoestrogeny, látky které mají vliv na hormonální dění v těle [17].

Tab. 4: Složení sójového oleje [26].

Mastná kyselina	Obsah, %
Palmitová	2,4 - 14
olejová	15 - 36
linolenová	2 - 14
stearová	2 – 7,5
Linolová	43 - 56

3 STÁRNUTÍ OLEJŮ

3.1 Kvalitativní změny v průběhu skladování

Jednotlivé oleje mají své charakteristické vlastnosti, kterými se od sebe navzájem liší, jedná se o aroma, chuť, barvu i nutriční vlastnosti. Dané vlastnosti se mohou během skladování měnit. Změny složek olejů můžeme jistými způsoby ovlivnit, např. vhodným skladováním, správně vybraným obalovým materiálem, uchováním v chladu a zamezení přístupu světla. Obecně lze říci, že oleje musí být udržovány na tmavém místě, chráněné před světlem, aby se zabránilo oxidaci a degradaci olejů. Nádoba by měla být co nejméně průhledná [23].

Během několika měsíčního skladování se změny mohou projevit nejen na lipidech a mastných kyselinách, ale také na minoritních složkách skladovaného oleje. K významným ztrátám chlorofylu, karotenoidů a celkového obsahu fenolu olejů dochází po celou dobu uchovávání. Rostlinné steroly mohou být cenné při snižování kardiovaskulárního rizika vzniku ischemické choroby srdeční [22,24].

V rostlinných materiálech se hlavní steroly nazývají fytosteroly, z nichž nejvýznamnější jsou sitoterol, kampesterol, stigmasterol, brassicasterol (typický pro řepkový olej). Chemická struktura je podobná cholesterolu, avšak rozdíl je v bočním řetězci. V lidské stravě jsou fytosteroly důležitou součástí pro udržení zdraví. Fytosteroly jsou tepelně stabilní, až teplota kolem 190 °C způsobuje přibližně 50 % přeměnu v oxidační a polymerační produkty. Převážně řepkový, slunečnicový, sojový, palmový a olivový olej jsou hlavním přirozeným zdrojem fytosterolů [23].

Autooxidace je hlavní příčinou zhoršení olejů během skladování. To závisí na několika faktorech, jako je počáteční složení oleje, chemické struktuře, zda jsou přítomny minoritních látky, obsah antioxidační aktivity (minerály, tokoferoly, karotenoidy, chlorofyly) a na skladovacích podmínkách. Ve skutečnosti, na jedné straně, triestery mohou hydrolyzovat a dát vzniku parciálních glyceridů a volných mastných kyselin, a na druhé straně, nenasycené řetězce mohou reagovat s kyslíkem za vzniku oxidačních produktů zodpovědných za žluknutí tuků. Tyto dva jevy jsou příčinou dvou hlavních forem změn potravinářských tuků - okyselování a oxidace[23].

Panenský olivový olej

Panenský olivový olej má své specifické vlastnosti, kterými se odlišuje od ostatních olejů, je u tohoto druhu největší snaha zachovat tyto vlastnosti co nejdéle beze ztrát.

Obal musí adekvátním způsobem chránit produkt před autooxidačními procesy, a také musí uchovávat jeho specifické senzorické vlastnosti. Barva, chuť a aroma odlišují panenský olivový olej od ostatních olejů. Díky rafinaci jsou jiné druhy téměř bez vůně, nevýrazné, mdlé až téměř bez barvy. V dnešních velkoobchodech jsou navíc vystavovány nepříznivým podmínkám, jako je vysoká teplota a působení světla, což nejsou optimální podmínky pro žádný druh oleje [22].

Náchylnost olejů k oxidaci je závislá na skladbě mastných kyselin a obsahu antioxidantů. Obzvláště počet dvojných vazeb určí typ a rozsah chemických reakcí, které proběhnou během skladování. Velké množství kyseliny olejové, která tvoří 56 – 84 % z celkového počtu mastných kyselin je hlavní rys, kterým se olivový olej odlišuje od ostatních jedlých olejů. Panenský olivový olej je bohatým zdrojem přírodních antioxidantů, karotenoidů, tokoferolů, polyfenolů, které jsou nápomocné proti působení nepříznivých vlivů, jako jsou volné radikály. Vliv na stabilitu se odhaduje u polyfenolů 30 %, α-tokoferolu 11 % a karotenoidů 6 % [23, 47].

Slunečnicový olej

Trvanlivost oleje je 12 až 18 měsíců, pokud je správně uložen na tmavém a chladném místě. Po jeho otevření je vhodnější způsob skladování při chladničkových teplotách. V původních obalech je atmosféra inertní, což brání oxidaci oleje. Pokud uplynulo datum minimální trvanlivosti, není nutné olej hned likvidovat, pokud byl totiž správným způsobem skladován, nemusí být žluklý, případnou počínající žluklost pak poznáme po přičichnutí. Oxidační stabilita a zhoršení kvality je závislé na počátečním složení oleje, koncentraci minoritních složek, antioxidantů, prooxidantů, stupni zpracování. Důsledkem oxidace je nepříjemná chuť a charakteristická vůně [27].

Řepkový olej

Olej je doporučeno skladovat při teplotě do 20 °C, při nízkých teplotách jeho trvanlivost dosahuje přibližně 12 měsíců po otevření. Testy, které byly provedeny na řepkovém oleji, ukazují ztráty tokoferolu již po 4 týdnech a skladování při 40 °C v otevřených i uzavřených lahvích. Po 16 týdnech skladování při konstantní teplotě 40 °C poklesl celkový obsah tokoferolu v oleji o 90%. Obsah α-tokoferolu v oleji je 35 % a je nejúčinnějším lipofilním antioxidantem před vlivem kyslíkových radikálů [28].

3.2 Smažení

Jedná se o proces přípravy pokrmů, kde je přenos tepla od zdroje k potravině zprostředkován tukem. Smažení je oblíbený způsob přípravy pokrmů, z důvodu rychlosti, jednoduchosti a také pro získání příjemné vůně a chutě smažených pokrmů. Z výživového hlediska však smažení není ideálním způsobem úpravy pokrmů [30].

Během smažení vzniká chemickými reakcemi probíhajícími ve smažící lázni široké spektrum látek. TAG tvořící hlavní složku významných olejů a tuků, se za těchto podmínek hydrolyzují a při překročení tzv. bodu zakouření dochází také k jejich pyrolýze. Při pyrolýze se odštěpují volné MK a vzniká akrolein. Obzvláště probíhá řada radikálových reakcí řetězců MK, oxidačních i neoxidačních. Produkty těchto reakcí jsou hydroperoxidy, různé typy polymerů, aldehydy a aldehydokyseliny, uhlovodíky, trans-izomery nenasyceným MK a další látky. Mimo jiné dochází k oxidaci přítomných sterolů, tokoferolů a antioxidantů, reakcím oxidačních produktů lipidů se sloučeninami obsaženými ve smažené potravině, zejména s bílkovinami. Řada takto vznikajících látek je potenciálně toxická, a to v závislosti na jejich příjmu a dalších faktorech [31].

Dochází ke změně senzorických charakteristik potravin a ke zvýšení stravitelnosti. Smažení je současně jednou z možností jak prodloužit trvanlivost potravin, jelikož jsou potraviny po tomto procesu prakticky sterilní, a nedojde ke druhotné kontaminaci, je trvanlivost prakticky ovlivněna jen senzorickými změnami zhoršujícími se během skladování [11].

Při smažení je nutné používat vhodné druhy tuků a olejů. Typickým příkladem nevhodného tuku pro delší smažení je olej slunečnicový (výjimkou je speciálně vyšlechtěný slunečnicový olej s vysokým obsahem kyseliny olejové). Nejvhodnější z olejů je rafinovaný olivový olej používaný na smažení zvláště v zemích v oblasti Středozemního moře.

Olivový olej lze zahřát na teplotu 210 °C, jelikož je stabilní vzhledem k přítomnosti velkého množství antioxidantů a nižšímu obsahu MK. Lze použít i kvalitní olej řepkový. Pro dlouhodobější smažení je vhodné používat tuky k tomu určené – pokrmové tuky, fritovací oleje [29].

Smažit můžeme dvěma způsoby, a to buď na tenké vrstvě tuku, nebo v hluboké vrstvě tuku neboli fritování. První způsob je v domácnostech běžnější, na pánvi se předehřeje tuk a teplotu kolem 180 °C, nevýhodou je však nutná delší doba tepelné úpravy a smažení je nutné po obou stranách potraviny. Po ukončení smažení je nutné tuk z pánve vyměnit jelikož v tuku zůstávají drobné částečky smažené potraviny a tuk pění. Zvýšíme tím bezpečnost konzumovaného pokrmu, chuť i vůni. Při použití velmi malého množství tuku lze používat pojmu opékání. Druhý způsob se rozšířil po zavedení fritéz v domácnostech. Hmotnostní poměr potraviny a tuku by měl činit 1:10. Takovýto způsob se označuje fritování. Fritovací oleje, které se vyrábějí převážně na bázi palmového oleje, musí obsahovat pouze malé množství polyenových MK, aby se snížila rychlost oxidace při fritování [11].

Fritování se provádí ve speciálních hrncích, kde je teplota automaticky regulována a je zamezeno přístupu okolního vzduchu. Podle druhu pokrmu trvá smažení krátkou dobu 8 - 10 min. Smažící tuk lze použít několikrát po sobě, a při použití vhodných druhů dokonce 8 – 10 x. při delším používání smažící lázně bývá obsah oxidačních produktů z hygienického a zdravotního hlediska příliš vysoký a je nutné celou lázeň vyměnit [11].

Provedené studie ukázaly, že při smažení na palmovém oleji byla nejnižší koncentrace akrylamidu a naopak nejvyšších hodnot dosahovaly potraviny po usmažení na slunečnicovém oleji [31].

V poslední době je v oblibě smažení bez tuku na speciálních pánvích, správnost použitého pojmu by tak mělo být pražení.

Tab. 5: Srovnání bodu varu [32]

Druh tuku/oleje	**Teplota (°C)**
máslo	110
slunečnicový olej	170
arašídový olej	210
extra panenský olivový olej	180
panenský olivový olej	180
olivový olej	220

Tab. 6: Reakce probíhající při smažení [33].

Typ reakce	**Reaktanty**		**Hlavní produkt reakce**
	Složka oleje	**Partnerská složka**	
Hydrolytické	Esterové skupiny	Vodní pára ze smažené potraviny	MK a glycerol
Oxidační	Polyenové MK	Rozpuštěný kyslík	Polární produkty a aromatické složky
Polymerační	Polyenové MK	Rozpuštěný kyslík	Cyklické a lineární polymery
Pyrolytické	Polární oxidační produkty	a) Polární oxidační produkty	Polymery a jiné produkty, aromatické složky a netěkavé produkty
		b) Sacharidy a bílkoviny smažené potraviny	

3.3 Žluknutí

Rozeznáváme několik typů žluknutí:

Hydrolytické

Oxidační

Ketonové

Chuťovou reverzi

Aby bylo zabráněno nežádoucím oxidačním reakcím nenasyceným MK, jsou do tuků v malém množství přidávány antioxidační prostředky. Z přirozených antioxidačních činidel mají největší význam tokoferoly [20].

Hydrolýza vzniká převážně účinkem mikrobiálních lipáz. Postupem žluknutí se flóra mění, počet mikroorganismů klesá, naprosto žluklý tuk tak může být sterilní. Výsledkem hydrolýzy jsou MK o 16 – 18 atomech uhlíku, které málo narušují chuť tuku, avšak uvolňování nižších MK o 6 – 8 atomech uhlíku vede ke znatelnému narušení chutnosti a vůně tuku.

Prostou hydrolýzu můžeme odlišit od oxidace s tvorbou kyselin a aldehydů. Při oxidaci vznikají peroxidy mající vliv na senzorickou jakost, jejich produkty vyvolávají charakteristické pachutě, ty však závisí na koncentraci sekundárních produktů a na jejich složení [21].

S ketonovým neboli parfémovým žluknutím se setkáváme spíše u másla. MK s 6 – 12 atomy uhlíku uvolněné z triacylglycerolů hydrolýzou mikrobiálními lipázami se enzymově odbourávají a po eliminaci karboxylu vznikají alkan-2ony zvané methylketony. Nejčastějšími methylketony jsou pentan-2-on a nonan-2-on, jež vykazují specifickou parfémovou příchuť. Příchuť sama o sobě není nepříjemná, ale pro strávníky netypická [1].

3.4 Chuťová reverze

Typická pro sójový olej, ale vyskytuje se také u olejů obsahujících kyselinu linolenovou, např. řepkový olej. Projevuje se v době, kdy olej obsahuje málo hydroperoxidů MK. Pach po trávě a fazolích jsou nositeli různé sloučeniny vznikající rozkladem hydroperoxidů. Oleje, u kterého tato vada vznikla, lze zbavit rafinací, ale vada se po čase opět

projeví (proto název reverze). Reverze je velmi nepříjemná konzumentům, kteří vyžadují olej naprosto bez chuti [1].

3.5 Ztráty výživné hodnoty při oxidaci a záhřevu tuků

Při smažení nedochází ke změnám pouze u smažícího tuku ale i u smažených potravin. Změny obsahu živin mohou být značné, nejvýraznější jsou v povrchových vrstvách. Mezi typické změny patří neenzymové hnědnutí přítomných aminokyselin s redukujícími cukry, které způsobují barevné změny na povrchu smažených výrobků. Dále se při smažení rozkládá kyselina askorbová, vitamin E, karoteny a některé vitaminy. Bílkoviny a další složky smažené potraviny inhibují degradaci smažícího oleje. I zdánlivě stabilní složky se mění, například minerální látky. Těkavější složky částečně uniknou, některé se však mohou oxidovat na netěkavé sloučeniny [35, 36].

4 SKLADOVÁNÍ ROSTLINNÝCH OLEJŮ

4.1 Obalové materiály

Trvanlivost olejů ovlivňuje způsob plnění do obalových materiálů. Obal musí adekvátně chránit produkt proti autooxidačním procesům [28].

Obalovým materiálům se připisuje řada funkcí, kterými jsou ochrana výrobku před nepříznivými vlivy okolí, vytvoření manipulační jednotky a úloha vizuálně komunikační. Nároky na ochranu před znehodnocením jsou u potravinových výrobků větší oproti ostatním průmyslovým výrobkům. Obalové materiály na bázi polymerů jsou od ostatních materiálů charakterizovány částečným odporem při transportu hmoty z jednoho povrchu na druhý, čímž se odlišují od skla, kovů, kde takovéto sdílení nepřichází v úvahu. Z toho vyplývá, že kovové či skleněné obaly představují absolutní bariéru pro pronikání látek [24].

Ze spotřebitelského hlediska je důležitý i požadavek snadného otevírání a manipulace, pokud možno bez použití některého z dalších nástrojů. Řešením se stává technicky náročné odtrhávací uzávěry (easy open). V řadě případů spotřebitel ocení pohodlné znovu uzavření otevřeného obalu, ale i snadné vyprazdňování obalů.

Požadavky na obalové materiály pro potraviny a na jejich uzávěry jsou zejména hygieničnost, dostatečná těsnost, snadné otevření popřípadě opětovné uzavření a nezbytností je aplikace uzávěrů poskytujících garanci autentičnosti obsahu, což vyplývá ze zákona č. 11/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích [10].

5 SPEKTROSKOPICKÉ METODY

Rychlé a nedestruktivní měření kvalitativních parametrů na molekulární úrovni umožňuje využití různých spektrofotometrických měření. Jedná se o fluorescenční spektroskopii, Ramanovu a Fourierovu transformaci infračervené spektroskopie (FTIR), nukleární magnetická rezonance (NMR), hmotnostní spektroskopie, rentgenová fluorescenční spektroskopie, ultrafialová spektroskopie (UV). Jednotlivé metody zkoumají strukturně-funkční vztahy v potravinách, mobilitu různých chemických složek v potravinách a jejich vliv na kvalitu potravin jako celku. Mimo jiné je možné těmito metodami studovat bezpečnost a senzorické vlastnosti potravin.

Fluorescenční spektroskopie slouží ke kvantifikaci tukových produktů a obsahu polyfenolických látek v nápojích apod. Poskytuje vysokou citlivost, jednoduchost a selektivitu a může sloužit jako doplněk ostatních metod používaných při analýze potravin. [6].

5.1 UV-VIS spektroskopie

Podstatou ultrafialové a viditelné spektrometrie je absorpce ultrafialového a viditelného záření v oblasti 200 – 800 nm zředěnými roztoky. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů, které jsou součástí molekulových orbitalů. Spektroskopii v klasickém jednoduchém uspořádání a pro viditelnou oblast nazýváme fotometrií [6].

Řadí se mezi nejstarší a nejvyužívanější fyzikálně-chemické metody:

- Přesnost, rychlost, citlivost a experimentální nenáročnost
- Sleduje absorpci elektromagnetického záření v intervalu od 200 do 800 nm
- Pro zvýraznění průběhu spektra se využívá derivační spektrometrie

Metody pro měření UV/VIS spektroskopie:

- Kolorimetrie – je nejstarší optickou metodou. Spočívá ve vizuálním porovnání intenzity zbarvení vzorku a standardu. Porovnává se buď roztok vzorku se sadou různě koncentrovaných roztoků při stejných tloušťkách absorpční vrstvy, nebo se mění tloušťka absorpční vrstvy, dokud se nedosáhne shodné absorbance.
- Fotometrie – principem je objektivní měření prošlého zářivého toku. K měření se využívají jednodušší fotometry (k vymezení intervalu vlnových délek používají ba-

revné filtry) nebo spektrofotometry, které obsahují monochromátor. Přístroje jsou jedno-paprskové nebo dvou-paprskové.

Látky, které jsou schopny absorbovat pouze záření s vlnovou délkou nižší než 380 nm, se projevují jako bezbarvé, látky schopné absorbovat z bílého slunečního záření vlnové délky v rozpětí 380 – 770 nm se projevují jako barevné. Oblast záření s vlnovou délkou nižší než 200 nm se nazývá vakuová ultrafialová oblast. UV-VIS spektroskopie se využívá pro studium barevných sloučenin. Barva látky je určena vlnovou délkou viditelného světla, které nemůže být absorbováno [3].

5.1.1 Elektronová absorpční spektra

Elektronové absorpční spektrum je závislost absorbance na vlnové délce v dané oblasti. Vzhledem k závislosti absorbance na koncentraci se pro účely porovnání spekter používá závislost logaritmu molárního absorpčního koeficientu na vlnové délce.

Vnitřní energie molekuly je dána součtem tří druhů energií – elektronové, vibrační, rotační. Energie nabývají pouze určitých diskrétních hodnot odpovídajících hladinám energie. Mezi základní a excitovanou elektronovou hladinou je velký rozdíl energií. Nižší energetický rozdíl je mezi energiemi sousedních vibračních hladin a nejmenší mezi energiemi rotačních hladin. Dostatečnou energii nesou fotony z ultrafialového nebo viditelného spektra. Fotony z infračervené oblasti mají nižší energii, z toho důvodu nemůže jejich absorpce vést ke změnám elektronových stavů molekul.

Molekula se za běžných podmínek nachází v základní vibrační hladině a její elektrony nejsou excitovány. Absorpcí fotonu příjme energii, díky které dojde k přechodu elektronu na excitovanou hladinu a molekula přejde na jednu z mnoha vibračních a rotačních hladin. Tímto způsobem je možná absorpce fotonů, které se jen málo energeticky liší a vytváří tak velmi blízké absorpční čáry ve spektru, které splývají v pás [6].

5.1.2 Elektronové přechody

- 1. Přechod z vazebného orbitalu σ do antivazebného orbitalu σ*

Aby došlo k přechodům elektronů z vazebného orbitalu σ do antivazebného orbitalu σ*, je nutné dodat velké množství energie. Tento typ přechodu lze pozorovat při absorpci krátko-

vlnného záření – vakuové ultrafialové oblasti pod 200 nm. Uhlovodíky s jednoduchými vazbami se používají v UV/VIS spektrofotometrii jako rozpouštědla pro měření spekter jiných látek [37, 38, 39].

- 2. Přechod z nevazebného orbitalu n do antivazebného orbitalu σ*

  Pro přechod látek z nevazebného orbitalu n do antivazebného orbitalu σ* je nutné, aby látka obsahovala atom s volnými elektronovými páry. Na excitaci volných elektronových párů není potřeba dodání takové energie, jaké je potřeba k excitaci vazebných σ elektronů. Maximum je pozorováno při vlnových délkách kolem 200 nm. U látek, které obsahují silně elektronegativní atomy, je absorpce opět pod 200 nm a nelze ji pomocí UV/VIS spektrometrie změřit [37, 38, 39].

- 3. Přechod z vazebného orbitalu π do antivazebného orbitalu π*

Přechod z vazebného orbitalu π do antivazebného orbitalu π* je typický pro sloučeniny obsahující ve svých molekulách násobné vazby. Čím větší množství má látka konjugovaných vazeb, tím je absorpční maximum posunuto k delším vlnovým délkám, neboť u látek s konjugovanými dvojnými vazbami dochází ke zvýšení energie nejvyššího vazebného orbitalu a ke snížení energie nejnižšího antivazebného orbitalu. Tím dojde ke snížení rozdílu energie, která je potřebná k přechodu mezi orbitaly. U aromatických sloučenin obsahující větší počet konjugovaných nenasycených vazeb je rozdíl energie mezi hladinami π-π* tak malý, že jejich absorpční maxima se nacházejí při vlnových délkách, patřících do viditelné oblasti [37, 38, 39].

- 4. Přechod z nevazebného orbitalu n do antivazebného orbitalu π*

Jestliže molekula obsahuje kromě dvojných vazeb i atomy s volným elektronovým párem dojde k přechodu elektronů mezi hladinami n-π*. Přechod není tak energeticky náročný, jako je tomu u přechodu π-π* a absorpční maxima leží v oblasti delších vlnových délek. Přítomností atomů s volným elektronovým párem je ovlivněn i přechod π-π*, neboť některé atomy či skupiny s volným elektronovým párem, které leží mezi násobnými vazbami snižují energii n orbitalu a znemožňují konjugaci [37, 38, 39].

5.1.3 Instrumentace

Existuje mnoho různých typů UV-VIS spektrofotometrů lišící se v použitých součástech. Experimentální uspořádání je však stejné.

Nehledě na typ UV-VIS spektrofotometru musí každý obsahovat: zdroj záření, monochromátor, absorbující prostředí (kyveta se vzorkem), detektor záření a výstupní či řídící zařízení (počítač) [37,41].

Zdroje záření

UV-VIS spektrometry mají zdroj, který emituje elektromagnetické záření v rozsahu od 190 do 900 nm, některé přístroje umožňují kromě viditelné a ultrafialové oblasti měřit i v blízké infračervené oblasti.

UV-VIS spektrofotometry nejčastěji disponují dvěma zdroji záření, jeden zdroj pro viditelnou oblast a druhý pro ultrafialovou oblast.

5.1.4 Využití spektroskopie

UV-VIS spektrofotometrie nachází své využití v kvantitativní i v kvalitativní analýze. Spektrofotometrií lze analyzovat látky anorganické i organické. Analýza pomocí UV-VIS spektrofotometrie se užívá především v lékařství, v biochemii, v klinickém testování léčiv, v potravinářství při kontrole jakosti či v ekologii při kontrole látek přítomných v životním prostředí. Výhodou spektrofotometrie oproti jiným analytickým metodám je snadnost, rychlost, citlivost měření a nízká finanční nákladnost. To se týká přístrojů pro běžná použití v akreditovaných laboratořích, kde se pořizovací cena přístroje s příslušenstvím pohybuje v rozpětí od 200 do 700tis. korun. Více je tato metoda využívána pro kvantitativní analýzu, jelikož kvalitativní analýza není obvykle jednoznačná a k identifikaci látek je nutné použít ještě další metody (IČ, NMR, hmotnostní spektroskopie) [41, 42].

Často jsou využívány dvou-paprskové spektrometry, které umožní kompenzovat kolísání zdroje. Paprsek ze zdroje je rozdělen rotujícími zrcadlovými segmenty na dva paprsky. Z jednoho je vymezena vhodná vlnová délka prvním monochromátorem (emisním) nebo filtrem. Excitační paprsek vstupuje do kyvety se vzorkem, kde vyvolá emisi fluorescenční, která je sledována v pravém úhlu k zdrojovému paprsku. Emisní paprsek prochází druhým (excitačním) monochromátorem nebo filtrem, čímž dojde k izolaci vlnové délky pro měření. Jako srovnávací paprsek slouží druhý paprsek ze zdroje, který je před

měřením zeslaben. Paprsky se měří na fotonásobičích, jejichž signál je srovnáván a vyhodnocován.

Zdroj musí poskytovat dostatečně intenzivní záření jedné z oblastí a to ultrafialové nebo viditelné. U fluorescenčních fotometrů je zdrojem rtuťová výbojka. Ve fluorescenčních spektrofotometrech bývá využita vysokotlaká oblouková xenonová lampa. V drahých přístrojích jsou někdy užívány lasery. Laditelný barvivový nebo pulsní dusíkatý laser jako primární zdroje dávají monochromatické záření mezi 360 a 650 nm. Jelikož zdroj záření poskytuje monochromatické záření, přístroj nepotřebuje excitační monochromátor. Možností je použití CCD detektorů [6].

5.1.5 Spektrometr

Přístroj se využívá převážně pro analytické metody ke stanovení cenných látek v organickém a farmaceutickém průmyslu. Sleduje závislost absorpce na vlnové délce. Pro analytické výpočty pracuje metodou analytické křivky a použití Lambert-Beerova vztahu.

Pro měření koncentrace neznámého roztoku využijeme platnost Lambert-Beerova zákona:

I_0…….intenzita dopadajícího záření,

I.....intenzita prošlého záření

ε…….molární absorpční koeficient,

c…….molární koncentrace roztoku,

d…….délka světelné dráhy v kyvetě.

$$A = \varepsilon * c * d = -\log T = \log I_0/I \quad (1)$$

Dekadický logaritmus z poměru dopadajícího a prošlého záření nazýváme absorbancí:

$$A = -\log10(I/I0) \quad (2)$$

5.1.6 Monochromátory

Každý monochromátor se skládá ze vstupní a výstupní štěrbiny, zobrazovací optiky a dispergujícího systému, což je hranol nebo mřížka. Pro zobrazovací optiku se většinou

používá povrchově hliníkovaných nebo zlacených zrcadel, čoček se používá málo. Materiál, z něhož jsou zhotoveny hranoly, má optimální disperzi pouze v jisté spektrální oblasti. Velkou předností mřížek na odraz ve srovnání s hranoly je jejich velká disperze a rozlišovací schopnost. Mřížky jsou vyráběny jako rovinné nebo konkávní. Nakláněním mřížky si určujeme, jakou vlnovou délku chceme měřit

5.1.7 Kyveta

Laboratorní pomůcka pro měření optických vlastností materiálů. Pro měření kapalin jsou složeny ze dvou destiček z transparentního materiálu, a jsou k sobě spojeny tak aby mezi vnitřními stěnami vznikl prostor pro měřený vzorek. Kyvety jsou rozkládací nebo pevně tmelené. Kyvety musejí být před měřením dokonale vyčištěny, aby nedocházelo k rozptylu světla a v důsledku toho i k chybnému měření. Paprsek emitovaného světla musí procházet kyvetou tak, aby byl snímán kolmo na paprsek excitačního záření [40].

5.1.8 Fotonásobič

Jedná se o zařízení, které přeměňuje elektromagnetické záření na měřitelný elektrický proud. Vynález poloviny 20. století, jenž je stále zdokonalován. Emitovaný foton dopadá na fotokatodu a na základě fotoelektrického jevu dojde na fotokatodě k emisi elektronů. Elektrony dopadají na dynody za sebou řazeny v počtu 8 až 12 dynod od nejmenšího kladného potenciálu k největšímu. Na povrchu každé dynody dochází k sekundární emisi elektronů. Takto seřazené dynody dokážou zesílit slabý elektrický proud vyzářený z fotokatody přibližně milionkrát. Zesílený proud elektronů je pak snadno zaznamenatelný na měřícím zařízení [40].

5.2 Fluorescenční spektroskopie

Metoda určená ke stanovení vlastností vzorku, např. koncentrace určitých látek, na základě pohlcování světla o určité vlnové délce se označuje jako fotometrie. Pokud se hodnotí určitý úsek spektra, měří se při několika vlnových délkách, jedná se o spektrofotometrii.

Spektrofluorimetry jsou přístroje na měření fluorescence. Musí obsahovat zdroj budícího záření v ultrafialové a viditelné oblasti spektra. Běžně se používají vysokotlaké výbojky nebo pulzní lasery. Budící záření prochází excitačním monochromátorem a dopadá na vzorek v kyvetě ve směru kolmém k budícímu paprsku a měří se emitované fluorescenční záření, které musí nejprve projít monochromátorem a je detekováno na fotonásobiči. Uspořádání může být s jedním monochromátorem nebo se dvěma protilehlými.

Nejznámějším druhem luminiscence je fotoluminiscence – fluorescence a fosforescence. U těchto jevů dochází k vyzařování světla vzorkem, který byl vystaven záření o kratší vlnové délce, než je vlnová délka vyzařovaného záření. Tuto schopnost mají látky nazývané luminofory nebo také fluorofory (látky schopné absorbovat světlo o určité vlnové délce s následnou emitací světla o delší vlnové délce). Fluorofory jsou vnitřní, které se vyskytují přirozeně a vnější, které jsou do vzorků přidávány uměle. U Fluorescence dochází k vyzařování světla po velmi krátkou dobu, a excitační záření prakticky okamžitě vyhasíná. Fosforescenční záření je po jistou dobu pozorovatelné [6].

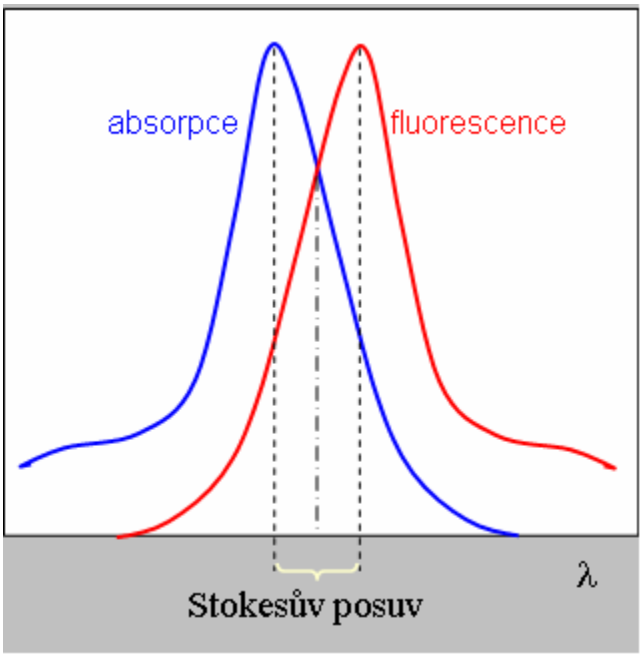
Fluorescence se projeví, dojde-li k excitaci z vibračního stavu na základní elektronové hladině na jednu z mnoha hladin v elektronovém excitovaném stavu vyzářením energie emisí fotonu. Obvykle se jedná o první excitovaný singletový stav. Molekula nacházející se na vysoké vibrační hladině ztrácí během kolizí s okolními molekulami energii a přechází na nejnižší vibrační hladinu. Jedná se o zářivý přechod na základní hladinu. Při nezářivém přechodu nastává intramolekulární konverze energie molekuly, kdy se elektron navrátí do základní hladiny a odevzdanou energií rozvibruje molekulu. Molekula přechází na základní vibrační hladinu přes řadu vibračních stavů vibrační relaxací.

K měření fluorescence se mohou v jednoduchých případech použít fluorescenční nástavce k běžným spektrometrům pro ultrafialovou a viditelnou oblast. Nástavce umožní měření fluorescence kolmo na směr dopadajícího paprsku. Fluorescenční fotometry se používají pro vymezení vlnové délky excitačního a emisního záření filtrů (absorpčních nebo interferenčních). Náročnější fluorescenční spektrometry mají zabudovány dva mřížkové monochromátory.

5.2.1 Excitační a emisní spektra

Excitační spektrum je závislost intenzity fluorescence na vlnové délce, při konstantní vlnové délce emitovaného záření. Excitační slouží k zjištění excitačního spektra a nalezení nejvhodnější excitační vlnové délky. Analyzační umožňuje získat fluorescenční spektrum.

Zrcadlová symetrie absorpčního a fluorescenčního pásma je běžná, a je způsobena tím, že emise a absorpce ze stejných vibračních hladin mají stejnou relativní pravděpodobnost. Většina molekul se nachází v rovnovážném vibračním stavu. Po absorpci dojde k přechodu elektronu z rovnovážné vibrační hladiny na vyšší vibrační hladinu a k rychlé vibrační relaxaci na rovnovážnou vibrační hladinu excitovaného stavu a následuje zářivý přechod na vyšší hladinu a opětovná relaxace. Energetickému rozdílu mezi absorpčními a emisními maximy se říká Stokesův posuv [6].

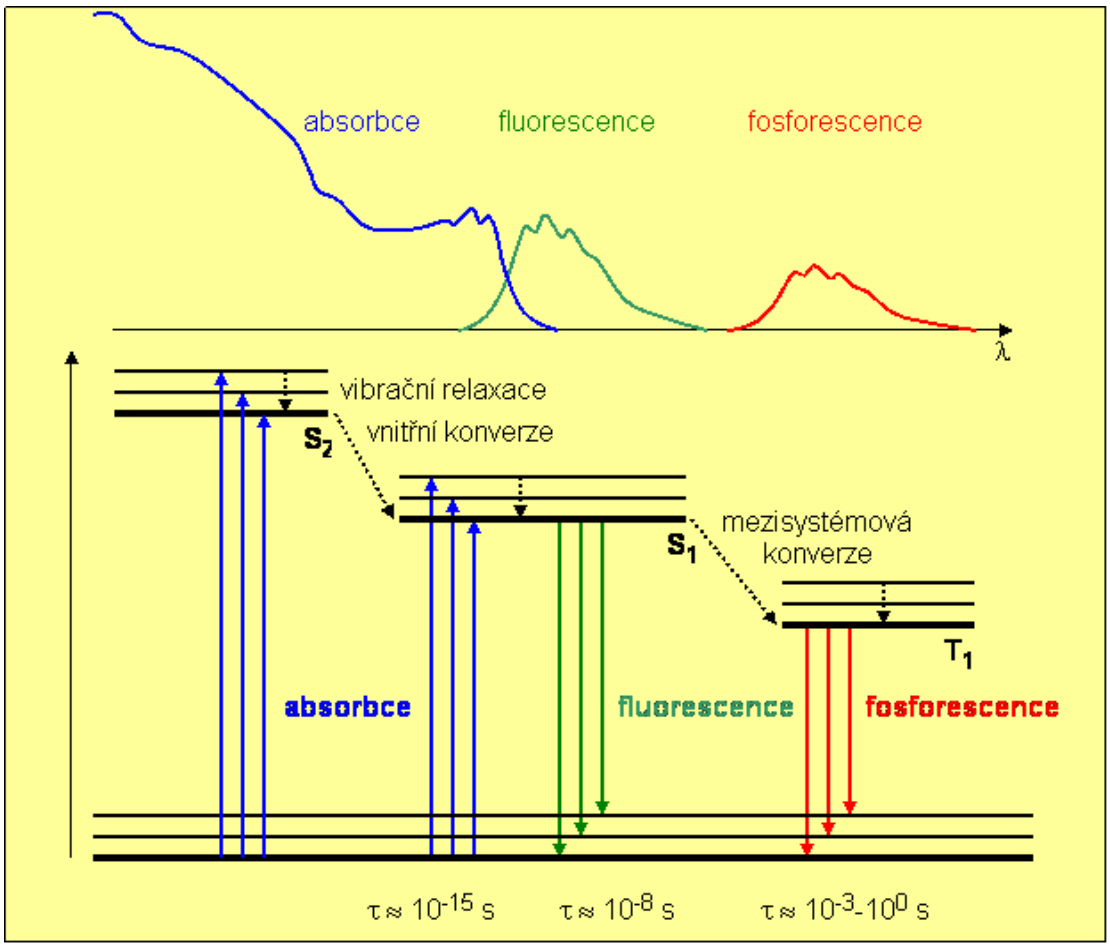


Obr. 4: Stokesův posuv [34].

5.2.2 Jablonskeho diagram

Absorpcí určitého kvanta záření, které nese určité množství energie, se daný fluorofor dostane do tzv. excitovaného stavu – stavu o vyšší energii než je jeho základní (klidová) energie. Obecně znázorňujeme tyto přechody v tzv. Jablonského diagramu, který zobrazuje jednotlivé energetické hladiny a přechody mezi nimi. Po excitaci se snaží fluorofor

dostat do rovnovážného stavu, přičemž se tak může dít dvěma způsoby – zářivými a nezářivými přechody. Zářivými přechody dochází během deexcitace k emisi světelného kvanta do okolí díky čemuž pozorujeme luminiscenci, mezi kterou patří kromě již zmíněné fluorescence a fosforescence. Mezi nezářivé přechody spadají jevy jako přeměna energie na teplo, vnitřní a mezisystémová konverze a další.



Obr. 5: Schéma zářivých a nezářivých přechodů mezi elektronově vibračními stavy složité molekuly (forma Jabłonského diagramu) [34].

5.2.3 Intenzita fluorescence

Intenzita fluorescence je úměrná intenzitě absorpce násobené kvantovým výtěžkem fluorescence. Pokud měříme pod úhly 54°44´8´´ nebo 125°15´51´´ ke směru excitačního paprsku, potom nedochází k ovlivnění intenzity případnou anizotropií emise systému. Při použití citlivých fotonásobičů pro detekci fluorescenčního záření a při buzení intenzivním světlem můžeme detekovat koncentrace rozpuštěných látek až 10^{-12}mol/l, což je o 4 řády

vyšší citlivost, než pro měření absorpční. Protože kvantový výtěžek fluorescence roztoků složitých molekul je často závislý na vlnové délce budícího záření, je excitační spektrum fluorescence zředěných roztoků přesnou kopií jejich absorpčního spektra. Můžeme tak spektrofluorometricky získat absorpční spektrum fluoreskující látky při mnohem nižších koncentracích, než při přímém měření absorpce na spektrofotometru [7].

5.3 Analytické využití fluorescenční spektroskopie

Kvantitativní analýza

Fluorescenční spektrofotometrie se využívá především k měření vzorků o nízké koncentraci, které nejde stanovit pomocí běžných absorpčních metod. Fotoluminiscence jsou schopny velké rovinné molekuly s konjugovanými dvojnými vazbami. Kvantitativní analýza využívá metodu kalibrační křivky, kdy si připravíme sérii vzorků o známé, ale rozdílné koncentraci. Tyto tzv. standardy proměříme a vyhodnotíme závislost intenzity záření na obsahu složky. Následuje změření vzorku a z grafu odečteme jeho koncentraci [6].

Kvalitativní analýza

V kvalitativní analýze můžeme stanovit co za látku je ve vzorku obsažena, protože každá látka má své charakteristické emisní spektrum, díky němuž lze látky od sebe rozeznávat. Emisní fluorescenční spektrum je závislost intenzity fluorescence na vlnové délce. Jelikož existuje několik přístrojů na měření emisních spekter a může dojít k různým výsledkům pro stejné látky, rozlišujeme 2 druhy spekter: [6]

a) Nekorigovaná – jsou zkreslena charakteristikami přístroje, detektor je různě citlivý na různé vlnové délky.

b) Korigovaná – jsou to naměřená emisní spektra vynásobená příslušným korekčním faktorem pro každou vlnovou délku. Korigovaná spektra by měli být uváděny v literaturách, aby nedocházelo k chybám [48].

5.4 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektrometrie je metodou vibrační molekulové spektroskopie, která byla pojmenována po indickém fyzikovi Čandrašékharu Venkatau Ramanovi (Nobelova cena

1930). Principem metody je měření rozptýleného záření, které vzniká interakcí monochromatického záření z oblasti viditelné až blízké infračervené s molekulami vzorku. Současně se mění jejich vibrační a rotační stavy.

Často se spektra třídí a klasifikují s využitím chemometrických metod. Ramanova spektra se využívají i pro kvantitativní analýzu. Ramanova spektrometrie se v poslední době uplatňuje i při analýzách životního prostředí nebo v medicinální chemii. Samotné měření je poměrně rychlé, většinou nedestruktivní a není potřeba obvykle žádné speciální úpravy vzorku. Minimalizuje se tak spotřeba chemikálií, jednorázově použitelných analytických setů. Vzorky lze měřit ve skleněných i některých dalších transparentních obalech. Voda se projevuje jen slabými pásy, a proto lze snáze než v případě infračervené spektrometrie analyzovat i vodné roztoky, navíc optické materiály používané v Ramanově spektroskopii nejsou citlivé na vlhkost. Mnohem pracnější a časově náročnější než samotné měření spekter je následné zpracování a vyhodnocování naměřených dat.

5.5 Fourier transform infrared spectroscopy - FTIR

Infračervená spektroskopie je analytická metoda, která je určena především pro identifikaci a strukturní charakterizaci organických sloučenin a dále pro stanovení anorganických látek. FTIR měří pohlcení infračerveného záření o různé vlnové délce analyzovaným materiálem. Infračerveným zářením je elektromagnetické záření v rozmezí vlnových délek 0,78 – 1000 μm. Celá oblast bývá rozdělena na blízkou (13000 - 4000 cm^{-1}), střední (4000 - 200 cm^{-1}) a vzdálenou infračervenou oblast (200 - 10 cm^{-1}), kdy nejpoužívanější je střední oblast.

Principem metody je absorpce infračerveného záření při průchodu vzorkem. Průchodem dochází ke změnám rotačně vibračních energetických stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. Výstupem je infračervené spektrum, které je grafickým zobrazením funkční závislosti energie, většinou vyjádřené v procentech transmitance (T) nebo jednotkách absorbance (A) na vlnové délce dopadajícího záření. Transmitance neboli propustnost je definována jako poměr intenzity záření, které prošlo vzorkem (I), k intenzitě záření vycházejícího ze zdroje (I_o). Absorbance je definována jako dekadický logaritmus 1/T. Závislost energie na vlnové délce je logaritmická, proto se používá vl-

nočet, který je definován jako převrácená hodnota vlnové délky, což znamená, že uvedená závislost energie na vlnočtu bude funkcí lineární.

Infračervená spektroskopie je používána k identifikaci chemické struktury látek již od 30. let 20. Století, avšak spektrometry pracující na principu rozkladu světla (disperzní spektrometry) neumožňovaly analýzu silně absorbujících vzorků. Analýza pevných vzorků byla většinou omezena na práškové materiály, kapalné i plynné vzorky bylo možno měřit bez omezení. S rozvojem výpočetní techniky dochází k praktickému rozšíření infračervených spektrometrů s Fourierovou transformací (FTIR spektrometry). FTIR spektrofotometry používají místo monochromátoru Michelsonův interferometr. Tyto přístroje vyžadují počítač s matematickou metodou Fourierovy transformace, abychom získali klasický spektrální záznam. FTIR spektrometry vykazují celou řadu výhod. Při měření dopadá na detektor vždy celý svazek záření, takové uspořádání umožňuje i experimenty, při nichž dochází k velkým energetickým ztrátám, tj. měření silně absorbujících vzorků nebo měření s nástavci pro analýzu pevných či kapalných vzorků v odraženém světle – reflektanční ATR [43].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍL PRÁCE

Na základě zadání diplomové práce byly stanoveny následující cíle práce:

1) Provedení rešerše aktuálního stavu ve studované oblasti.
2) Spektrální analýza 5 vzorků jedlých olejů běžně dostupných v distribuci v ČR.
3) Provedení analýzy jednotlivých vzorků pomocí UV/VIS absorpční a fluorescenční spektroskopie.
4) Shrnutí výsledků a formulace závěrů.

7 MATERIÁL A METODIKA

Použité měřící zařízení

- Spektrofluorofotometr Shimadzu RF-1501 s xenonovou lampou pro měření excitace v ultrafialové oblasti spektra mezi 220 – 360 nm, s funkcí odpočtu jednotlivých nanometrických jednotek, kyvety s optickou délkou 1 cm.

Obr. 6: Spektrofluorometr Shimadzu RF-1501.

- UV-VIS spektrometr CECIL 1021 s oblastí měření 200 – 1000 nm.

Obr. 7: UV-VIS spektrometr Cecil.

Použité oleje k analýze

Slunečnicový olej – na 10 g obsahuje 10 g tuku z toho nasycené MK 1,4 g, sacharidy 0g, bílkoviny 0 g, sůl 0g, datum spotřeby 28. 10. 2017, výrobce Viviol, množství 1 l

Řepkový olej – tuky 92 g z toho nasycené MK 7,4 g, sacharidy 0g, bílkoviny 0 g, sůl 0g, minimální trvanlivost do 24.1.2018, výrobce LUKANA, množství 1 l

Extra panenský olivový olej, z prvního lisování lisovaný za studena – tuky 91,6 g z toho nasycené MK 12,8 g, mononenasycené MK 70,5 g, polynenasycené MK 8,3 g, sacharidy 0g, bílkoviny 0 g, sůl 0g, minimální trvanlivost do 8.9.2017, výrobce Kreolis, původ: Řecko, množství 250 ml

Arašídový olej – jednodruhový rostlinný olej, sacharidy 0g, bílkoviny 0g, tuky 91g z toho: nasycené MK 11 g, mononennasycené MK 28g, polynenasycené MK 52 g, cholesterol 0g; minimální trvanlivost do 3.2.2019, výrobce: Topvet, množství 250 ml

Olej sójový BIO – jednodruhový rostlinný olej, baleno v ochranné atmosféře, tuky 100g z toho: nasycené MK 14g, sacharidy 0g, minimální trvanlivost července 2017, výrobce: Country Life s.r.o., množství 500ml.

Použité chemikálie

Heptan, 99 %, spectrophotometric grade, Sigma Aldrich (St. Louis, USA).

Cyklohexan p.a., 99,99 %, dodavatel: IPL – Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod.

7.1 Screening jedlých olejů fluorescenční spektroskopií

Pracovní postup

Kyveta byla naplněna roztokem a byla měřena excitace v oblasti vlnových délek 220 až 400 nm a emise 300 - 800 nm, jako referenční roztok sloužilo použité rozpouštědlo. Při měření je nutné mít otevřenou clonu (shutter). Výsledkem je fluorescenční profil – excitačně-emisní spektrum vzorku v měřené oblasti.

7.1.1 Detekce směsi rostlinných olejů fluorescenční spektroskopií

Pracovní postup

Vzorky byly připraveny smícháním 0,1 ml sójového oleje a 1 ml slunečnicového, řepkového, olivového, arašídového oleje. Fluorescenční spektra byly naměřeny kyvetách na přístroji Spektrofluorometr Shimadzu RF-1501 s xenonovou lampou v oblasti vlnových délek excitace 220 – 400 nm a v rozsahu vlnových délek 300 – 800 nm pro emisi absorpčního spektra.

7.1.2 Tepelné stárnutí panenského olivového oleje

Pracovní postup

Tepelné stárnutí olejů bylo simulováno zahříváním olivového oleje při 110 °C v různých časových intervalech 0 hod., 5 hod., 10 hod., 15 hod., 20 hod. a 25 hod. K vlastnímu měření na spektrofluorometru byly vzorky připraveny do 25 ml odměrných baněk smícháním 0,25 ml přefiltrovaného oleje a n – heptanem doplněny po rysku. Každý vzorek byl 3x proměřen a z výsledků byla vypočítána průměrná hodnota.

Fluorescenční spektra byly měřeny v režimu excitace v rozsahu vlnových délek 220 – 400 nm a rozsah vlnových délek 300 – 800 nm pro emisi absorpčního spektra. Z měření byl získán fluorescenční profil – excitačně – emisní spektrum vzorku ve zvolené oblasti vlnových délek.

7.2 Hodnocení kvality olejů UV-VIS spektroskopií

Pracovní postup

Vzorky byly proměřeny v plastových kyvetách na přístroji UV-VIS spektrofotometr CECIL 1021 v rozsahu vlnových délek 300 – 800 nm. V rozsahu vlnových délek 300 – 350 nm byly použity kyvety křemenné.

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Hodnocení kvality olejů fluorescenčním spektrometrem

Pomocí kvalitativní analýzy můžeme stanovit, co za látku je ve vzorku obsažena. Podmínkou je přítomnost flouroforů, absorbujících skupin. Protože každá látka má své charakteristické emisní spektrum, lze takto látky od sebe rozeznávat. Bylo analyzováno 5 vzorků olejů ve třech koncentračních režimech, a to 1:50, 1:100 a 1:500, které byly rozpuštěny v heptanu. Měření bylo provedeno v rozsahu vlnových délek 220 – 400 nm pro excitaci a 300 – 800 nm pro emisi. Poměrně intenzivní buzení bylo zaznamenáno v oblasti emise 300 – 350 nm připisované tokoferolům a tokotrienolům. Pro olivový olej je velmi výrazné buzení v oblasti 660 – 700 nm při emisi, které je připisované chlorofylu. Pigmenty chlorofylu se vyskytují hlavně v surových olejích získaných přímo extrakcí olejnatých semen a dále jsou odstraněny v průběhu zpracování. Jelikož je olivový olej nejméně technologicky upravován, je obsah chlorofylu jednoznačný. Vlnová délka emise 440 – 455 nm odpovídá obsahu mononenasycených MK.

Mezi důležité faktory, které ovlivňují intenzitu fluorescence, patří koncentrace látky, vlnová délka excitace, pH, teplota a přítomnost rušivých iontů a jiných fluoreskujících materiálů a také na konkrétní fluoreskující látka [53].

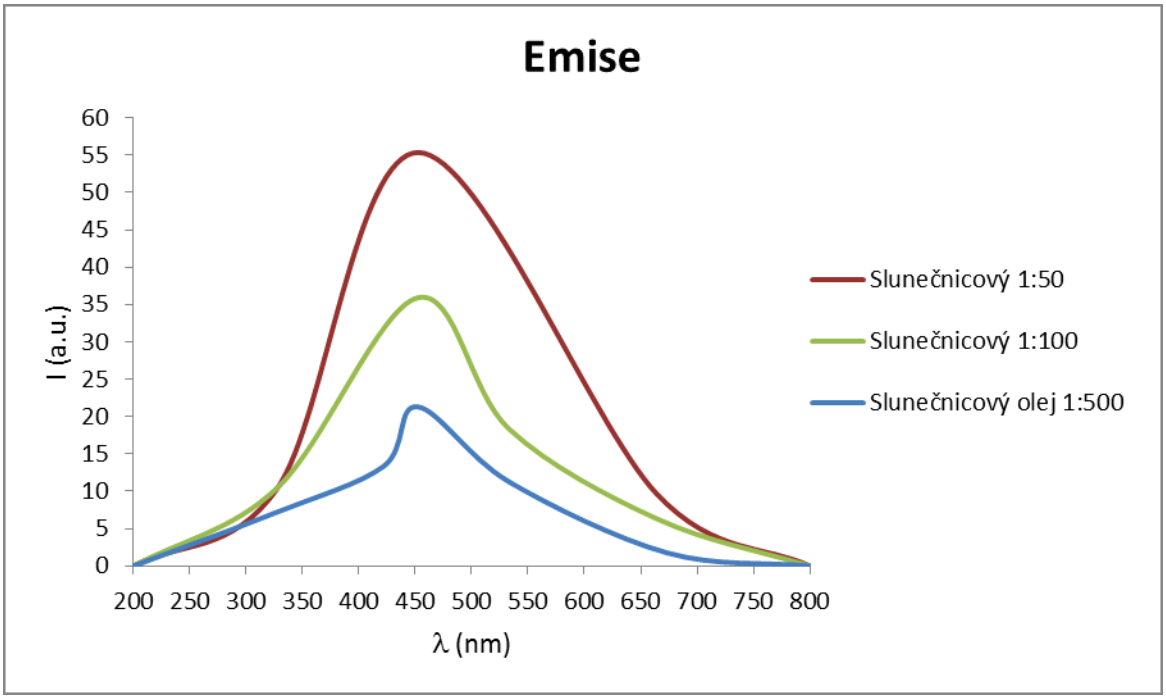
Flurorescenční analýza je rychlá, přesná a vysoce selektivní metoda používaná k určení směsí rostlinných olejů. Jedlé oleje obsahují různé fluorofory v oblasti vlnových délek excitace 320 až 400 nm a emise 360-700 nm [54].

Fluorescenční emisní spektra olivových olejů jsou spojeny s jeho složením a stabilitou. Panenské olivové oleje jsou poměrně stabilní vůči oxidaci, díky antioxidačnímu účinku fenolických sloučenin a vitaminu E. Pro zachování obsahu chlorofylu je nutné olivový olej uchovávat v tmavých lahvích. Rafinace snižuje obsah vitaminu E a chlorofylu, rafinované oleje jsou tak více náchylné k oxidačním procesům. Tyto změny se odrážejí v jejich fluorescenčním emisním spektru, ve kterém tyto produkty oxidace získají široký pík mezi 400 nm a 500 nm. Množství chlorofylu v olivovém oleji je mnohem intenzivnější než množství u ostatních druhů olejů viz. Obr. 10.

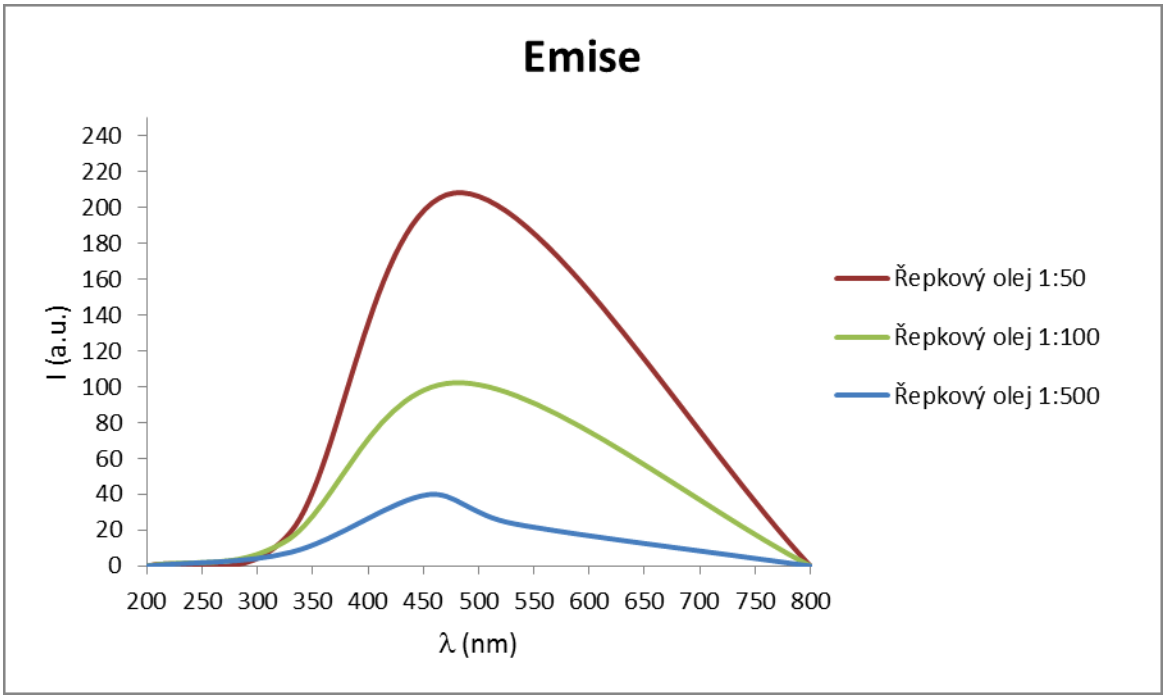
Na Obr. 8 je fluorescenční spektrum závislosti koncentrace slunečnicového oleje na emisní vlnové délce. Pík v oblasti 450 nm představuje obsah nenasycených mastných kyselin. Intenzita fluorescenčního záření narůstá se vzrůstající koncentrací oleje v daném roz-

pouštědle a je pro jednotlivé oleje různá. Poloha píku je pro různé oleje jiná, např.: řepkový olej 455 nm, olivový 452 nm, arašídový 454 nm, sojový 453 nm.

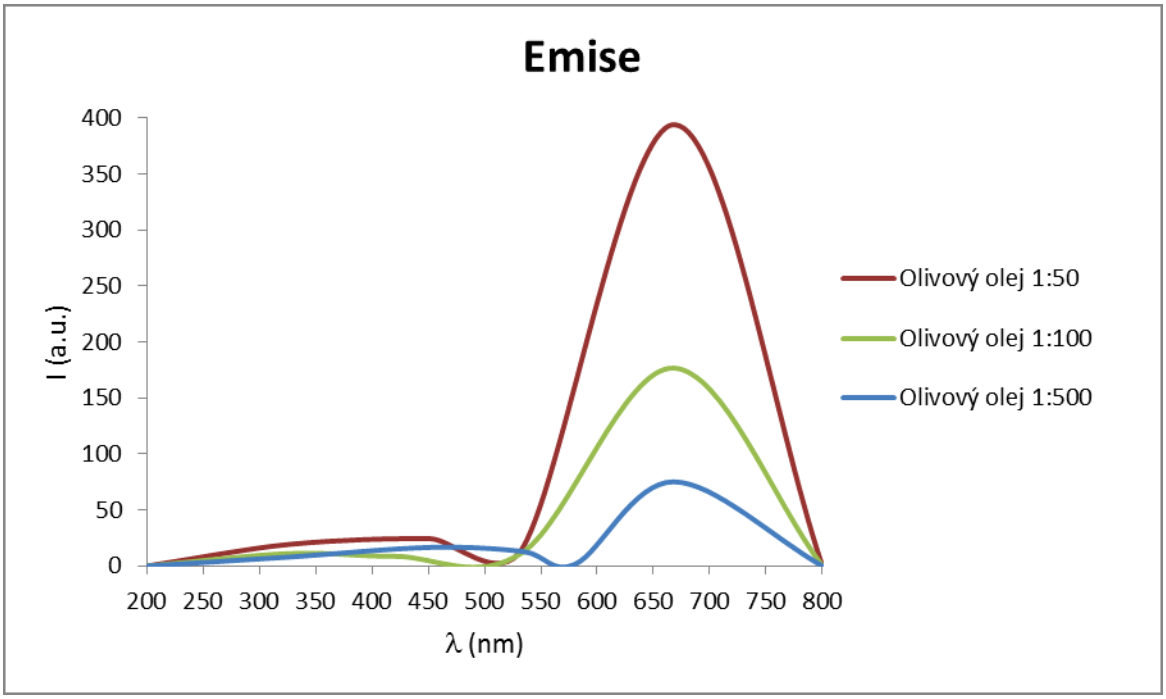
Studii, kterou provedela Sikorska Ewa na jedlých olejích fluorescenční spektroskopií, byla získána trojrozměrná spektra, čtyři spektra pro každý vzorek. Několik zřetelných spektrálních rozsahů, jako jsou ty, které odpovídají tokoferolům a chlorofylu, mohou být použity jako markery pro diferenciaci olejů s vysokým stupněm přesnosti. Jako testované oleje byly použity olej sójový, slunečnicový, arašídový, olivový, kukuřičný, lněný, olej z hroznových semen a olej z brukve. Poměrně intenzivní pás pro každý studovaný olej, s buzením mezi 270 – 310 nm a emisí v rozsahu 300 – 350 nm, byl připsán emisím tokoferolů a tokotrienolů. Dlouhé pásmo při excitaci 350 – 420 nm a emisi 660 – 700 nm u olivového oleje charakterizuje obsah pigmentu chlorofylu. Spektra měřených olejů odhalila přítomnost oxidačních meziproduktů v rozsahu 400 – 450 nm emise. Tvar a intenzita těchto meziproduktů se od sebe liší od jednoho oleje k druhému. Testem byla zjištěna nízká intenzita emise tokoferolu u kukuřice, sóji, slunečnice a lněného oleje, středně intenzivní se projevila emise u řepkového oleje a velmi slabá emise u olivového oleje, oleje z hroznových semen a arašídového oleje [53].



Obr. 8: Emisní spektrum slunečnicového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500

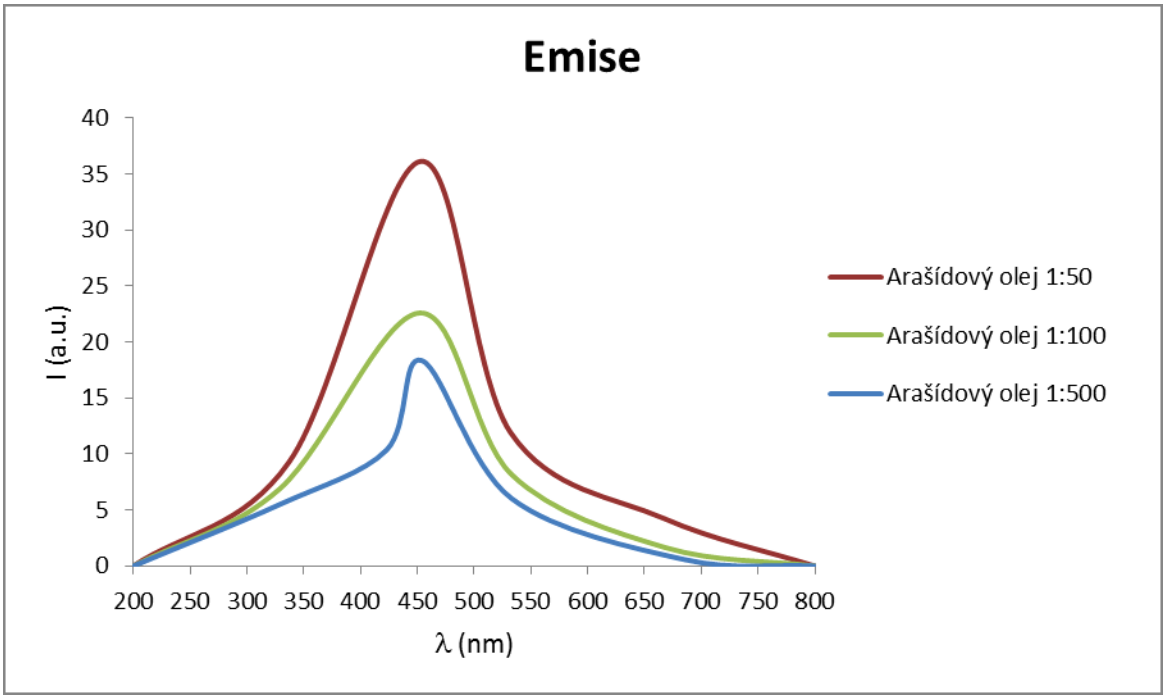


Obr. 9: Emisní spektrum řepkového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500

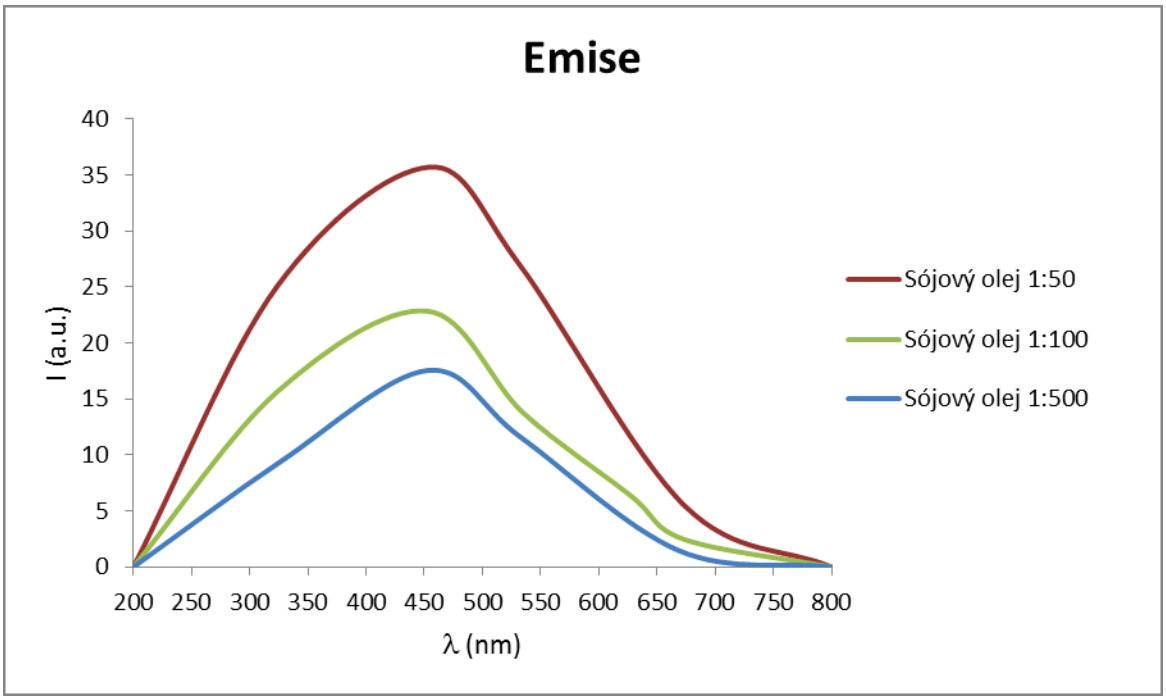


Obr. 10: Emisní spektrum extra panenského olivového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500

U olivového oleje můžeme sledovat koncentrační závislost v oblasti vlnových délek 670 nm, kde intenzita tohoto píku je mnohonásobně větší než intenzita při 450 nm odpovídající obsahu nenasycených mastných kyselin, viz Obr. 10.



Obr. 11: Emisní spektrum arašídového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500



Obr. 12: Emisní spektrum sójového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500

8.2 Detekce směsí rostlinných olejů fluorescenční spektroskopií

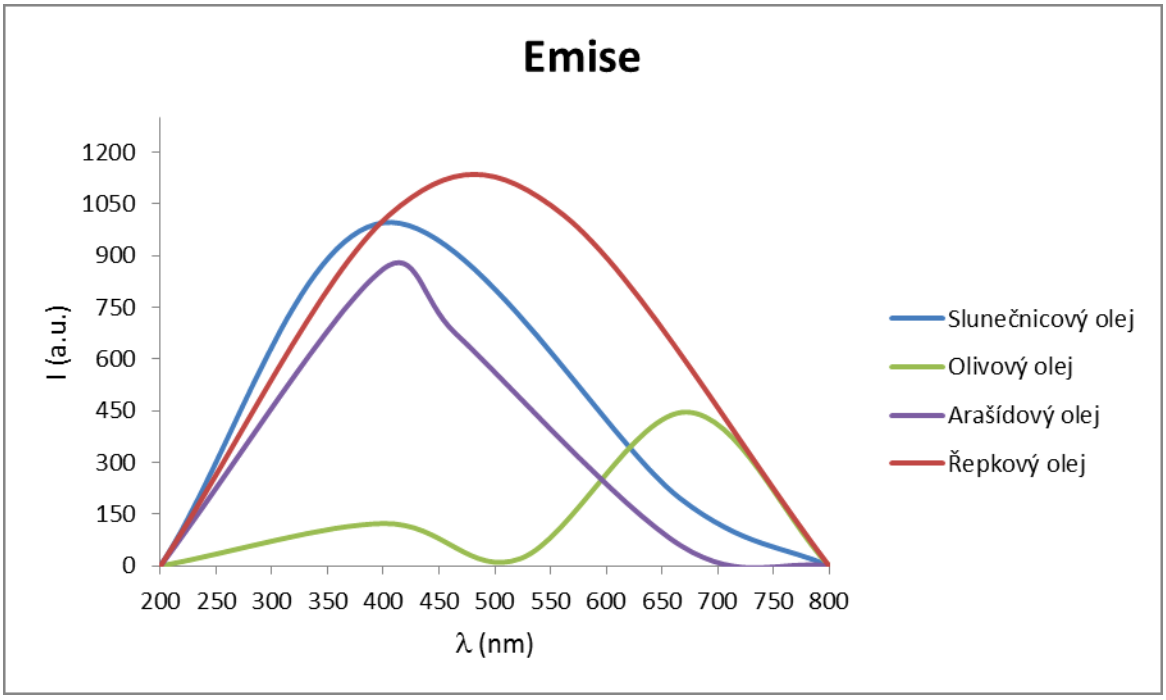
V našem testu byly vytvořeny vzorky o složení vždy 0,1 ml sójového oleje a 1 ml oleje slunečnicového, řepkového, olivového a arašídového.

V současné době je velmi často řešeno téma falšování potravin a ani rostlinné oleje se tomu nevyhnuly. Hlavním důvodem je ekonomika. Falšováním se obchodníci snaží alespoň částečně nahradit vysoce kvalitní oleje méně drahými a méně kvalitními oleji. Správné množství rostlinných olejů ve stravě může poskytnout odpovídající výživu, a proto je důležité měřit obsah jednotlivých olejů [54].

Jednotlivé rostlinné oleje obsahují různé fluorofory a fluorescenční spektra. Každý fluorofor má své charakteristické excitační a emisní spektrum. Dané spektrum lze zanést do grafu, kde budou charakteristické fluorofory vystupovat jako jednotlivé píky.

Díky předchozímu testu byly zjištěny píky konkrétních olejů a bylo tedy možné jejich rozlišení ve směsi se sójovým olejem. U směsi s olivovým olejem a řepkovým olejem je jasně znatelné, že jsou píky těchto olejů intenzivnější v kombinaci se sójovým olejem, bylo tak zaznamenáno pančování. U směsi se slunečnicovým a arašídovým olejem se ukázala opět vyšší intenzita píků oproti píkům čistých olejů, viz Obr. 13.

Bylo by tedy nutné provést další testování na rozlišení přesné koncentrace mastných kyselin k identifikaci jednotlivých olejů. Námi provedená studie odhalila pančování sójovým olejem již při 9 % přídavku oleje. Dle provedené zahraniční studie je mez detekce pro rozlišení přídavku sójového oleje k jiným druhům olejů minimálně 10 % [57].



Obr. 13: Emisní spektrum směsí olejů se sojovým olejem.

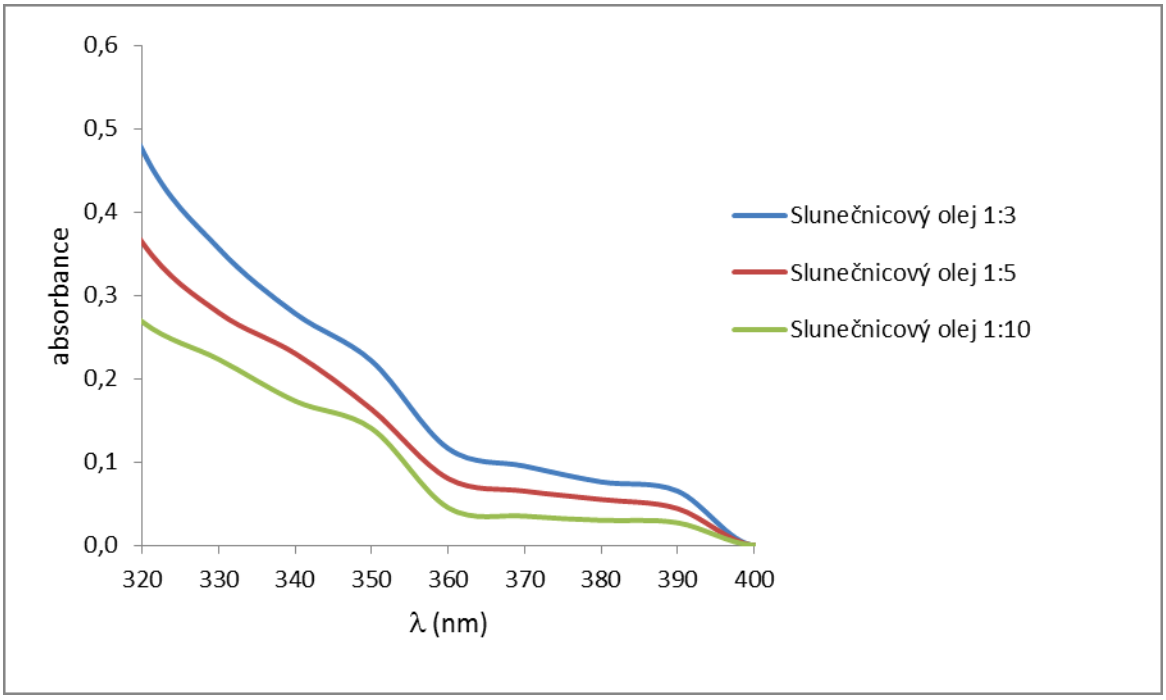
V literatuře se též zabývají falšováním ořechového oleje sójovým pomocí FTIR a fluorometrie. Sójový olej je běžně používán pro falšování ořechového oleje z důvodu jeho nízké ceny a vysokému obsahu kyseliny linolové, která je obsažena v oleji z vlašských ořechů. Jedlé vzorky oleje včetně sedmi ořechových olejů, pěti sójových olejů, pěti arašídových olejů, řepkového a slunečnicového oleje byly zakoupeny v supermarketu a smíchány v různém poměru. Tyto vzorky byly uchovávány ve tmě při teplotě místnosti, až do dne analýzy. Olej z vlašských ořechů byl pančován sójovým olejem (tři typy) v různých koncentracích. Každý vzorek byl analyzován třikrát a výsledky byly uváděny jako střední hodnoty. Pro kalibraci modelu byla získána absorbance sójového oleje v koncentraci v rozmezí od 0 % do 50 % v ořechovém oleji. Padělání ořechového oleje do 5 % nemohlo být zjištěno danou metodou kvůli podobnosti v chemickém složení. Zdá se, že detekční limit ve výši 10 % je dostatečný pro ořechové oleje, protože přídavek může učinit jen malý obchodní zisk z poměru falšování pod 10%. Některé rozdíly v pozici píku a intenzity píku, a to zejména v oblasti emisních vlnových délek 400-500 nm. Maximum emise ořechového oleje byla u 473 nm, vzhledem k tomu, že arašídový olej, sojový olej a palmového oleje byly v 428, 439 a 434 nm, resp. intenzita fluorescence ořechového oleje byla nejnižší. Silné píky mezi 400 a 500 nm emise byly přiděleny k řadě mastných kyselin a tokoferolů a pásy nízké intenzitě emise mezi 600 a 700 nm byly spojeny s pigmenty. Tyto rozdíly doka-

zují, že olej z vlašských ořechů je rozdílný od jiných olejů v obsahu a složení fluorescenčního materiálu. Z tohoto důvodu můžeme fluorescenční spektroskopií identifikovat ořechový olej od ostatních olejů [57].

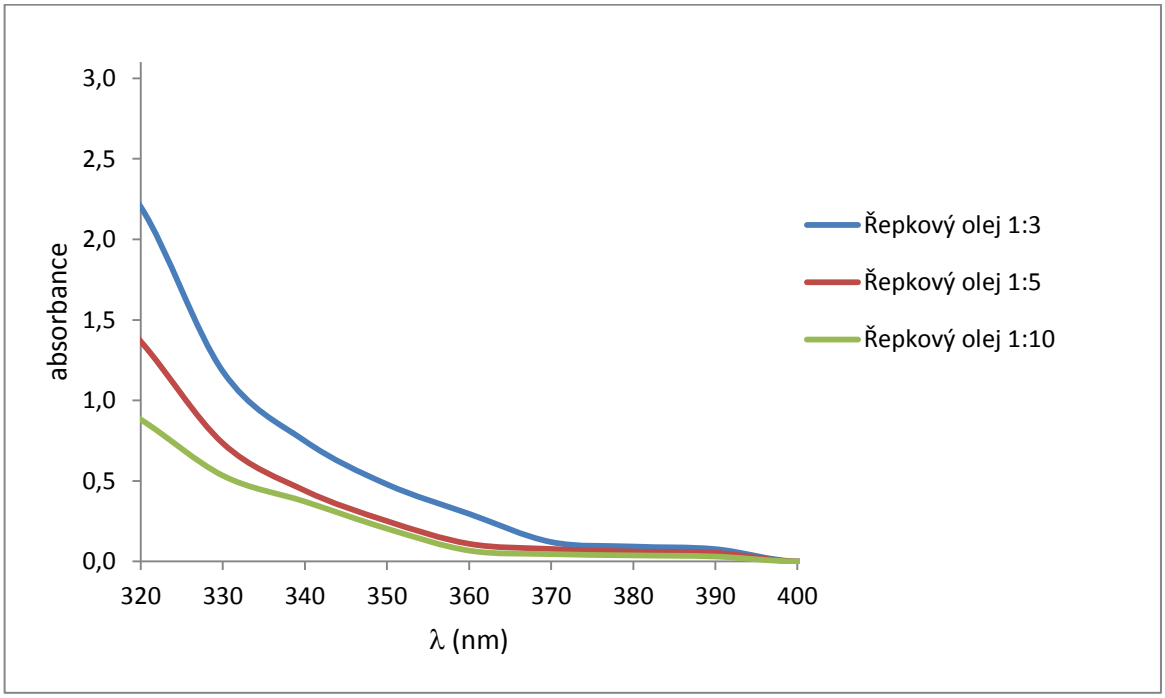
8.3 Hodnocení kvality olejů UV/VIS spektroskopií

UV-Vis spektroskopií byla naměřena spektra rostlinných olejů v rozmezí vlnových délek 200-800 nm. Jednotlivé zaznamenané spektra můžeme vidět na obrázcích 14. – 18. U vzorků slunečnicového, arašídového a řepkového oleje nebylo v měřeném rozsahu vlnových délek absorpční maximum, a proto jsou spektra uvedena v rozmezí 320-400nm. Vyhodnocení vzorku sójového oleje o koncentracích 1:3, 1:5, 1:10 bylo zaměřeno na vlnovou délku od 300 po 550 nm, kde byly maximální hodnoty absorbance. Měření byla prováděna při laboratorní teplotě. Graficky je znázorněna koncentrační závislost absorbance na vlnové délce. Jednotlivé píky znázorňují obsah látek v oleji. Pomocí píků je možné rozlišit jednotlivé oleje a sledovat jejich kvalitu.

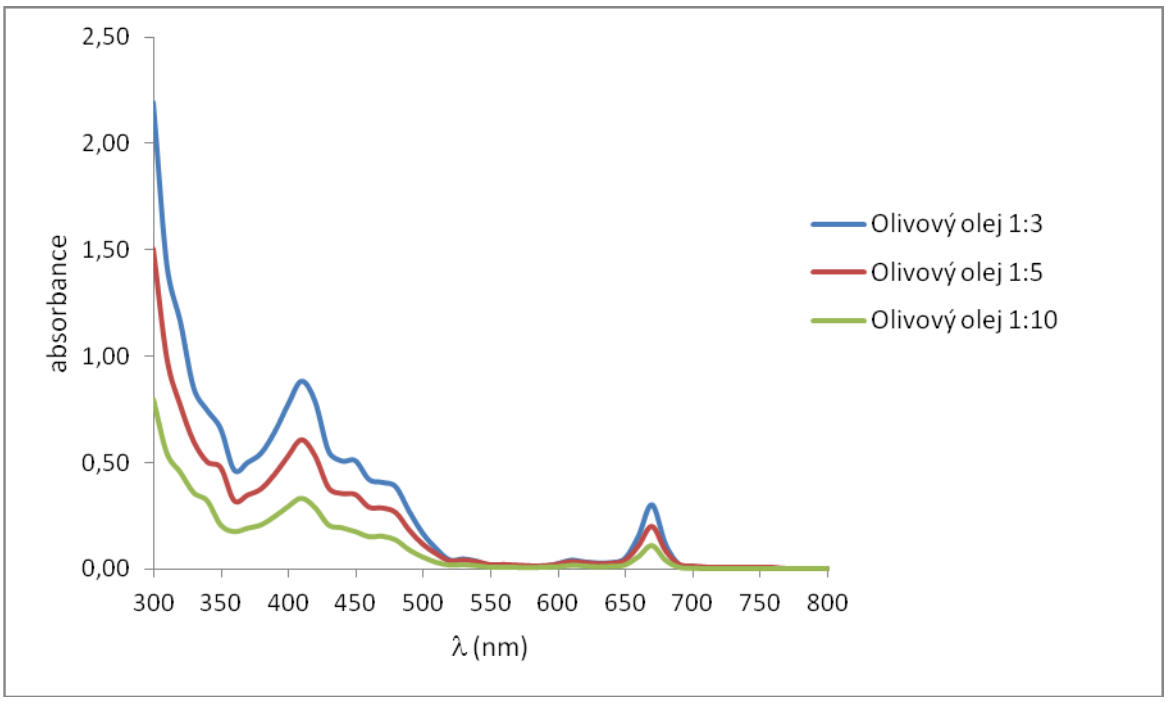
U námi studovaných olejů byly jednoznačně zaznamenány píky značící přítomnost tokoferolů v oblasti vlnových délek 320 nm u jednotlivých olejů, viz Obr. 14 - 18, a u olivového oleje byla potvrzena přítomnost chlorofylu v oblasti 660 – 700 nm, viz Obr. 16. U sójového oleje je intenzivní pík v oblasti vlnových délek 450 nm, viz Obr. 18.



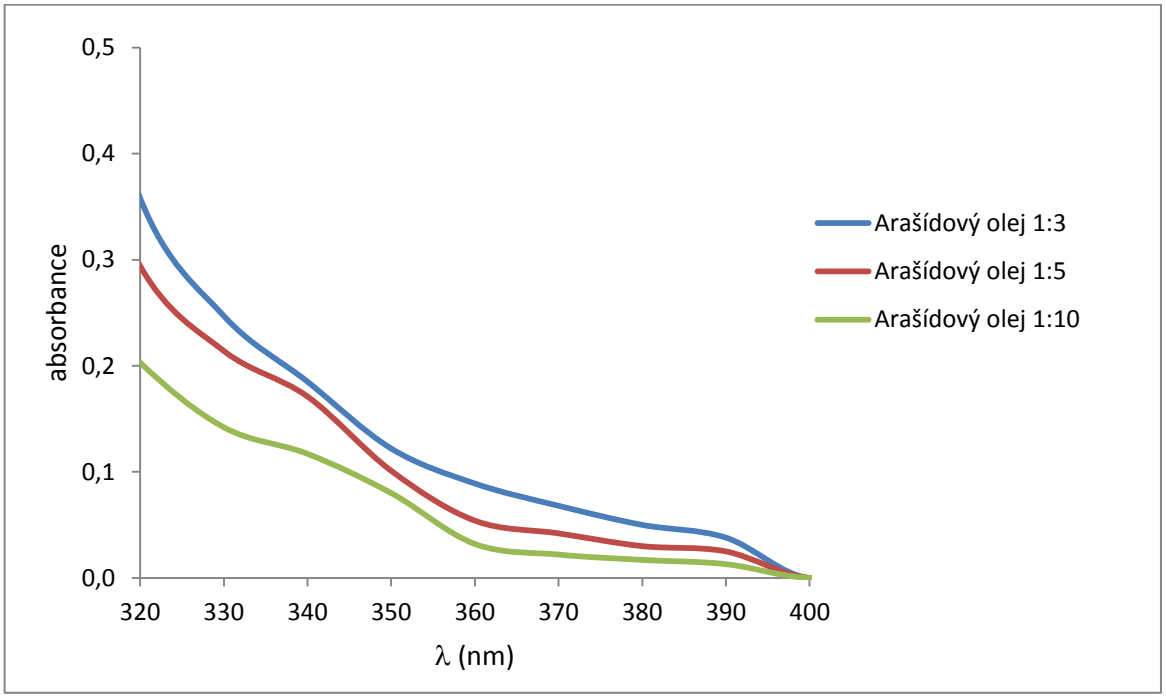
Obr. 14: UV/VIS měření ředěného slunečnicového oleje 1:3, 1:5, 1:10



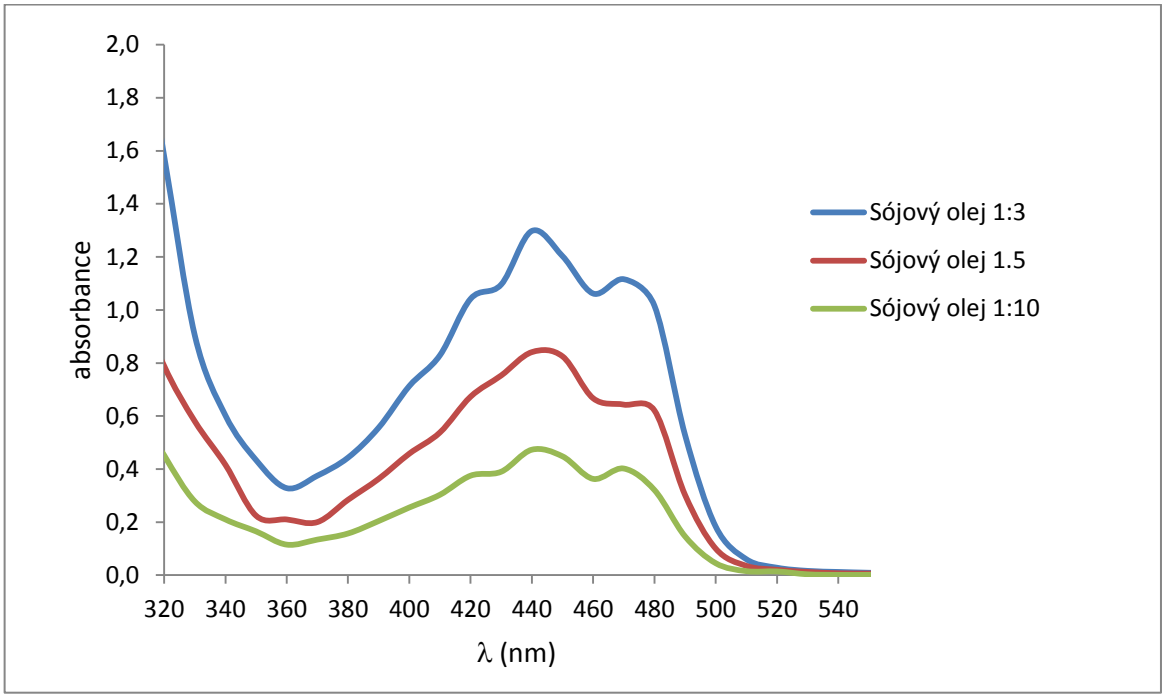
Obr. 15: UV/VIS měření ředěného řepkového oleje 1:3, 1:5, 1:10



Obr. 16: UV/VIS měření ředěného extra panenského olivového oleje 1:3, 1:5, 1:10



Obr. 17: UV/VIS měření ředěného arašídového oleje 1:3, 1:5, 1:10



Obr. 18: UV/VIS měření ředěného sójového oleje 1:3, 1:5, 1:10

8.4 Hodnocení kvality extra panenského olivového oleje

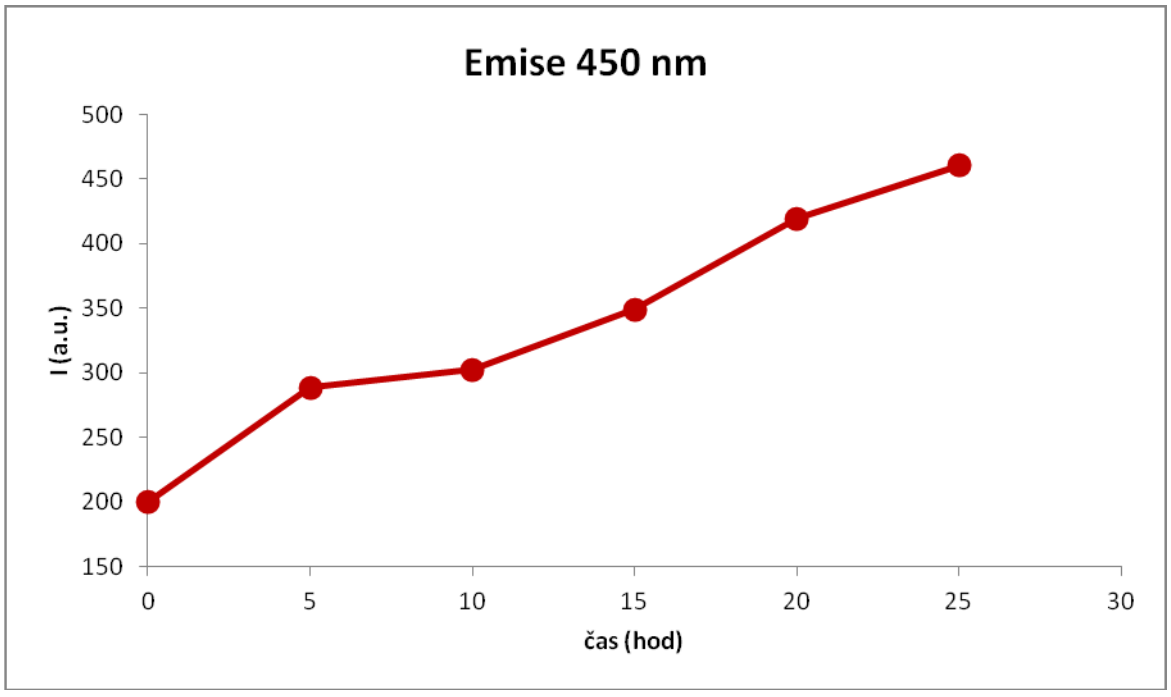
Olivový olej je spojen se zdravými potravinami díky vysokému obsahu vitaminu E, antioxidantů a mononenasycených MK. Olivové oleje jsou k dispozici v různých kvalitách, jako je extra panenský, panenský, olivový olej a další. Je známo, že olivový olej má vysokou odolnost vůči oxidaci, jakož i vhodné vlastnosti pro smažení ve srovnání s jinými rostlinnými oleji, a to díky svému složení mastných kyselin, přítomnosti vysoce antioxidačních fenolických sloučenin, které inhibují tvorbu hydroperoxidů. Oxidační procesy jsou vyvolány působením kyslíku a vyššími teplotami [55].

Vitamin E jako skupina sloučenin je spojena s prevencí neurodegenerativních onemocnění, aterosklerózy, záněty, rakoviny a chronickému předčasnému stárnutí. V jedlých olejích je vysoká koncentrace tokoferolů a tokotrienolů, což představuje jeden z největších zdrojů pro lidský organismus. Obsah tokoferolů je přímo ovlivněn způsobem zpracování olejů. Rafinované oleje mají až o 80 % snížen obsah těchto látek, dále má vliv obalový materiál, podmínky skladování, vystavení záření, kyslíku, vysokým teplotám a dalším faktorům [56].

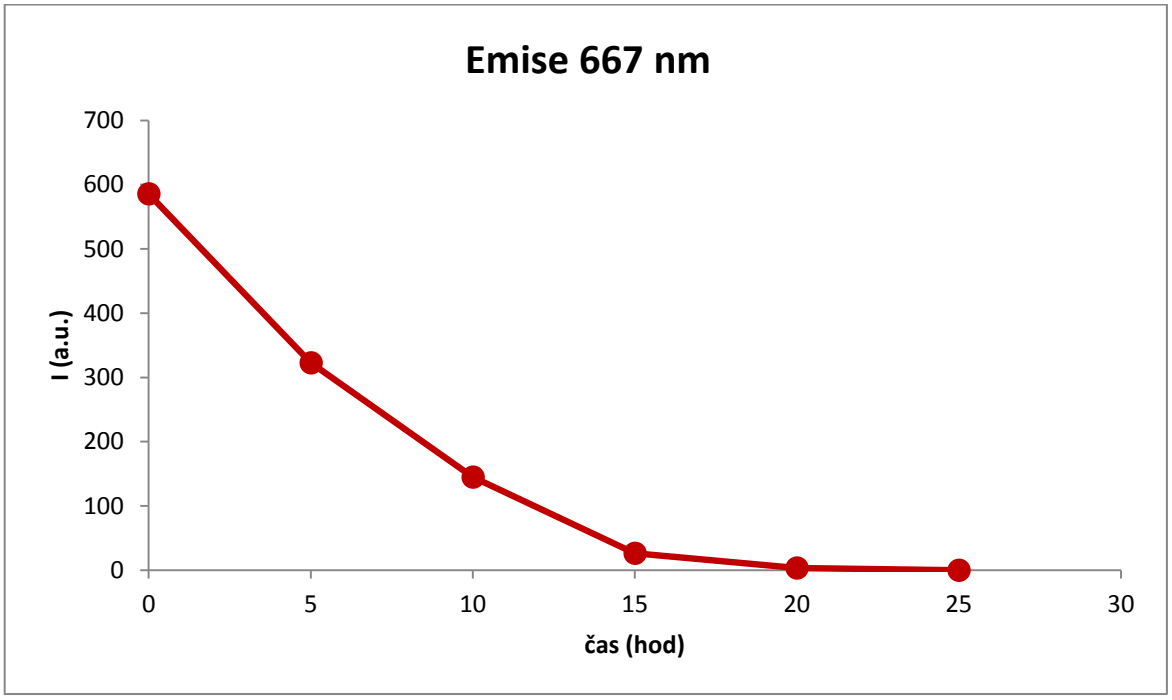
Během testování tepelného stárnutí byl vzorek olivového oleje zahříván na teplotu 110 °C po dobu 0 hod, 5 hod, 10 hod, 15 hod, 20 hod a 25 hod. Každý vzorek byl 3x proměřen a z výsledků byla vypočítána průměrná hodnota.

Byla hodnocena časová závislost tvorby oxidačních produktů a koncentrace chlorofylu při tepelné zátěži. Ve všech případech došlo ke snížení koncentrace chlorofylu při vlnové délce 667 nm a oproti tomu došlo k nárůstu oxidačních produktů při vlnové délce 450 nm. Čím déle byl vzorek zahříván, tím byl tento rozdíl znatelnější.

Oxidační meziprodukty byly cíleně zkoumány u extra panenského olivového oleje při emisi vlnových délek 450 nm, kde byla potvrzena jejich přítomnost s vlivem tepelné zátěže. Jednotlivé rozdíly mohou korelovat s jednotlivými výrobky, jelikož se jedná o složitý systém, je třeba dalšího zkoumání.



Obr. 19: Grafické znázornění nárůstu oxidačních meziproduktů při tepelné zátěži.



Obr. 20: Grafické znázornění poklesu chlorofylu při tepelné zátěži.

Ve studii provedené Goncalves, Rhayanna P., Paulo H. Marco a Patrícia Valderrama zkoumali vliv tepelné zátěže na komerčně dostupných olejích – sójový, kukuřičný, slunečnicový, řepkový a olivový olej. Vzorky byly analyzovány ve třech vyhotoveních a zahřívány od 30°C do 170°C postupným zvyšováním o 10 °C. UV/VIS spektrum bylo proměřeno v rozsahu 300 – 540 nm v křemenných kyvetách a výsledná data analyzována pomocí MATLAB sytému. Cílem této studie bylo zhodnotit koncentraci tokoferolu a oxidačních meziproduktů v jedlých olejích. Ve všech případech došlo ke snížení koncentrace tokoferolu, zatímco koncentrace oxidačních meziproduktů rostla úměrně se zvyšovanou teplotou. U slunečnicového a řepkového oleje změny začaly při 110°C a 85°C v daném pořadí. U sójového a kukuřičného oleje byly tyto změny pozorovány již při teplotě 50°C. Olivový olej vykazoval změny nárůstu oxidačních meziproduktů při 70°C. Všechny oleje obsahovaly oxidační produkty již při pokojové teplotě, což mohlo souviset s aspekty prodeje v průhledném obalu, skladování na světle [55].

8.5 Zkouška kvality olivového oleje dle kritérií „International Olive Council“

Olivové oleje, které nemají přesné prohlášení o jakosti jsou obvykle směsi rafinovaného olivového oleje a extra panenského nebo panenského olivového oleje. Olivové oleje nižší kvality obsahují konjugované dieny a trieny. Tyto a další sloučeniny se tvoří v důsledku oxidačních degradačních procesů v oleji. Konjugované dvojné vazby uhlík-uhlík dienů a trienů absorbují UV světlo v rozsahu vlnových délek 200 až 300 nm. Naproti tomu látky s nekonjugovanými dvojnými vazbami, které jsou také přítomny v extra panenském oleji (např. nenasycené mastné kyseliny), neabsorbují světlo v tomto spektrálním rozmezí.

To poskytuje základ pro jednoduchou metodu kontroly kvality olivového oleje. Nízká absorpce v spektrálním rozmezí 200 až 300 nm poukazuje na vysoce kvalitní extra panenský olej a vysokou absorpci na olivový olej nižší kvality.

„International Olive Council“ (EEC 702/2007), jenž definuje fyzikálně-chemické a organoleptické vlastnosti olivových olejů, vymezila tři kritéria, která musí být splněna pro hodnocení olivového oleje jako extra panenský olivový olej [50].

Kritéria vycházejí z extinkčního koeficientu K_λ při čtyřech různých vlnových délkách, λ (232 nm, 266 nm, 270 nm a 274 nm). Konkrétně extra panenský olivový olej musí splňovat kritéria uvedená v tabulce.

Tab. 7: Spektroskopické kritéria definující extra panenský olivový olej [50].

Kritérium	Podmínky pro kvalitní extra panenský olivový olej	Kritéria extra panenského olivového oleje, výrobce Kreolis
K_{232}	$\leq 2{,}7$	2,05
K_{270}	$\leq 0{,}4$	0,21
ΔK	$\leq 0{,}01$	0

$$K_\lambda = A_\lambda/(c*L) \quad (3)$$

$$\Delta K = K_{270} - ((K_{266} + K_{274})/2) \quad (4)$$

kde A_λ je absorbance při vlnové délce λ, c je koncentrace vzorku v rozpouštědle a L je délka dráhy kyvety.

Podle standardu musí být olivový olej zředěn na 1% roztok v cyklohexanu (c = 0,01).

Tab. 8: Výsledné hodnoty testovaného extra panenského olivového oleje

λ (nm)	absorbance A (-)
232	2,050
266	0,222
270	0,213
274	0,204

Olivové oleje bez jasného prohlášení o kvalitě jsou obvykle směsi rafinovaného oleje a extra panenského nebo panenského olivového oleje. Rafinované olivové oleje se při výrobě silně zahřívají. To z velké části ničí antioxidanty v olivách. Takzvaná oxidační indukční doba je odpovídajícím způsobem kratší v olivových olejích nižší kvality.

Námi vybraný extra panenský olivový olej splňuje všechna kritéria a můžeme o něm prohlásit, že se jedná o olivový olej nejvyšší kvality [50].

Byl studován rozdíl mezi panenským olivovým olejem a olivovým olejem. Rozlišování mezi těmito dvěma typy olejů je lepší, když nejsou chlorofylové píky zahrnuty v modelech. V tomto případě, oxidační produkty jsou druhy, které mají rozhodující vliv na oddělení mezi těmito dvěma skupinami. Extra panenský olivový olej je nejkvalitnější a nejdražší druh olivového oleje. Proto je někdy padělán s olivovým olej z pokrutin. Falšování způsobuje především nárůst fluorescence u emisí pod 500 nm. Panenský olivový olej se třídí dle ceny a kyselosti. Panenský olivový olej, který má kyselost nižší než 3,3 stupňů (% w/w) bez obsahu mastných kyselin, (počítáno jako kyselina olejová), je vhodný pro konzumaci bez jakéhokoliv omezení. Olivové oleje vyšších kyselin se musejí rafinovat, aby se staly jedlé. Srovnání SFS spekter s celkovými luminiscenčními spektry, shromážděné z obou jedlých a lampantového olivového oleje vykazovaly sníženou spektrální složitost a přibližně 7-násobné zesílení fluorescenčních pásů. Maximální rozlišení olejů, bylo nalezeno v spektrálním rozsahu 429-545 nm, odpovídající kyselině olejové [52].

ZÁVĚR

Práce se v teoretické části zaměřuje na rozbor vybraných olejů, technologii výroby a popis principů fluorescenční spektroskopie a UV/VIS spektroskopie. Jsou zde charakterizovány jednotlivé spektrální metody z hlediska strukturní analýzy, resp. fyzikálních dějů, ke kterým při analýze dochází. Emisní fluorescenční spektroskopie a UV/VIS spektroskopie byly úspěšně využity k charakterizaci námi vybraných vzorků olejů.

Studie byla provedena na 5-ti komerčně zakoupených olejích, sójovém, arašídovém, extra panenském olivovém, slunečnicovém a řepkovém oleji. Pomocí kvalitativní analýzy můžeme rozlišit jednotlivé druhy olejů, stanovit množství olejů ve směsi, přímo určit druh oleje a studovat stárnutí olejů. Fluorescenční spektroskopií byl zaznamenán obsah mononenasycených mastných kyselin, poměrně intenzivní buzení bylo zaznamenáno v oblasti emise 400 –500 nm připisované nenasyceným mastným kyselinám. Pro olivový olej je velmi výrazné buzení v oblasti 660 – 700 nm při emisi, které je připisované obsahu chlorofylu.

Při měření UV/VIS všechny zkoumané vzorky vykazují intenzivní pík, který se objevuje při vlnové délce 290 nm, přičítané tokoferolům. UV-Vis spektroskopií byla naměřena spektra rostlinných olejů v rozmezí vlnových délek 200-800 nm se zaměřením na vlnovou délku od 300 po 550 nm, kde byly nejvyšší hodnoty absorbance. Olivový olej vykazuje druhý vrchol, objevující se při emisi 670 nm, patřící k pigmentům chlorofylové skupiny. Předložené výsledky demonstrují schopnost spektrofotometrických technik charakterizovat a diferencovat produkty rostlinných olejů. Dále byla provedena studie vlivu tepelné zátěže na extra panenském olivovém oleji. Došlo ke snížení koncentrace chlorofylu při vlnové délce 667 nm a oproti tomu došlo k nárůstu oxidačních produktů při vlnové délce 450 nm. Čím déle byl vzorek zahříván, tím byl tento rozdíl výraznější. Navíc byla provedena studie možnosti pančování kvalitních olejů olejem sójovým. Naší studií byla prokázána dostatečná citlivost metody k rozlišení jednotlivých olejů a již při necelém 10 % přídavku bylo odhaleno pančování.

Oleje jsou jedním z hlavní potravinářských výrobků, jelikož obsahují mnoho živin, díky kterým lze určit kvalitu daného oleje. Například tokoferoly, chlorofyl a karotenoidy ovlivňují oxidační stabilitu olejů a spektrometrickou analýzou lze získat konkrétní informace o kvalitativním složení olejů. Získaný fluorescenční signál byl přidělen konkrétním fluoroforům, pomocí kterých lze od sebe jednotlivé oleje odlišit, případně přímo zjistit jejich falšování nebo monitorování probíhajících oxidačních změn.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] ZAJÍC, Jiří., BAREŠ Milan. Chemie a technologie tuků. Vyd. 1. Praha: MON, 1988, 244 s.

[2] KARLBERGER, Jan. *Technologie tuků a kosmetiky III pro OU a UŠ*, Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1980, 172 s.

[3] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin 2*, Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2008, 236 s. ISBN: 80-7080-510-2.

[4] DAVÍDEK, Jiří. *Chemie potravin*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1986. 629 s.

[5] VELÍŠEK, Jan., HAJŠLOVÁ Jana. Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 978-80-86659-17-6.

[6] KLOUDA, Pavel. Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

[7] *Principy fluorescenční spektroskopie*. Univerzita Karlova [on-line] [cit. 19.2.2017] Dostupné z: http://psych.lf1.cuni.cz/fluorescence/soubory/principy.pdf

[8] KOOLMAN, Jan., RÖHM Klaus-Heinrich. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012. ISBN 9788024729770.

[9] HAMERSKÁ Jarmila. *Rostlinné oleje – spotřebitelská sonda*. [online]. [Cit. 20. 4. 2017]. Dostupný z: https://is.muni.cz/th/323462/lf_b/finalni_pdf.pdf

[10] ČEPIČKA, Jaroslav. *Obecná potravinářská technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 8070802391.

[11] KADLEC, Pavel. *Procesy potravinářských a biochemických výrob,* Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003, 308 s. ISBN: 80-7080-527-7.

[12] HOZA, Ignác, Daniela SUMCZYNSKI a Pavel BUDINSKÝ. *Potravinářská biochemie I.: pro studenty kombinované formy studia*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. ISBN 8073184958.

[13] BLATNÁ, Jarmila. *Výživa na začátku 21. století, aneb, O výživě aktuálně a se zárukou*. Praha: Společnost pro výživu, 2005. ISBN 8023962027.

[14] HRABĚ, Jan, František BUŇKA a Ignác HOZA. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: pro kombinované studium*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007. ISBN 9788073185206.

[15] HOZA, Ignác. *Potravinářská biochemie I.* Vyd. 2. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2011. ISBN 9788073189365.

[16] KARLBERGER, Jan. *Technologie tuků a kosmetiky I.* vyd. 1. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1979. 210 s. ISBN 04-813-79.

[17] GUNSTONE, F. D., c2011. *Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses*. 2nd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell. ISBN 9781444332681.

[18] KARLBERGER, Jan. *Technologie tuků a kosmetiky pro OU a UŠ: učební text pro 2. a 3. ročník učebního oboru provozní chemik s odborným zaměřením pro tukový průmysl a kosmetiku*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1980. Řada potravinářské literatury.

[19] KRAJČOVÁ, Jitka. *Zbožíznalství*. Vyd. 4., přeprac. Praha: Vysoká škola hotelová v Praze 8, 2007. ISBN 9788086578682.

[20] ŠÍCHO, Vladislav, Zdeněk VODRÁŽKA a Blanka KRÁLOVÁ. *Potravinářská biochemie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1981, s. 52 – 60.

[21] WOLF, Augustin. *Hygiena výživy.* 1. vydání. Praha: Avicenum, 1985, s. 32, s. 184.

[22] MORELLO, J-R, MOTILVA, M-J. TOVAR, M-J. ROMERO, M-P. *Changes in CommercialVirginOliveOil (CvArbequina) DuringStorage, withSpecialEmphasis on thePhenolicFraction*. Food Chemistry. 2004, vol. 85, no. 3 s. 357-364. ISSN:0308-8146.

[23] GUTIÉRREZ, F; FERNÁNDEZ, J L. *Determinant Parameters and Components in theStorage of VirginOliveOil. Prediction of StorageTimeBeyondWhichtheOilis No Longer of "Extra" Quality*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, Vol. 50(3), Pp. 571-7. 2002, vol. 50, no. 3 s. 571-577. ISSN:0021-8561

[24] THANH, T., VERGNES, M-F. KALOUSTIAN, J.; EL-MOSELHY, T. F; AL, et. *Effect of Storage and Heating on Phytosterol Concentrations in Vegetable Oils Determined by GC/MS.* Journal of the Science of Food and Agriculture. 2006, vol. 86, no. 2 s. 220-225. ISSN:0022-5142.

[25] STRUNECKÁ, Anna., PATOČKA Jiří. *Doba jedová*. Praha: Triton, 2011. ISBN 9788073876029.

[26] OŠŤÁDALOVÁ, Martina., POKORNÁ Jana. Hygiena a technologie brambor, škrobu, luštěnin, olejnatých semen a tuků, 2014, Brno, Veterinární a Farmaceutická univerzita Brno, ISBN 978-80-7305-710-7.

[27] *Slunečnicové oleje* [online]. [cit. 10. 3. 2013]. Dostupné z: http://www.agronavigator.cz/.

[28] GOFFMAN, F. D., MOLLERS, C. *Changes In Tocopherol and Plastochromanol-8 Contents in Seeds and Oil of Oil seed Rape (BrassicaNapus L.) During Storage As Influence By Temperature And Air Oxygen.* 2000, vol. 48, no. 5 s. 1605-1609

[29] PELIKÁN Miloš., SÁKOVÁ Lenka. *Jakost a zpracování rostlinných produktů*, 1. Vydání. České Budějovice, 2001, 223 s. ISBN 80-7040-502-3.

[30] DOSTÁLOVÁ, Jana. *Co se děje s potravinami při přípravě pokrmů*, Praha: Forsapi, 2008. ISBN 978-80-903820-8-4

[31] *Nebezpečné hranolky* [online]. [cit. 25. 3. 2017].

Dostupné z: http://www.tyden.cz/rubriky/apetit/nebezpecne-hranolky_76267.html

[32] BLAHOVÁ, Kateřina. *Olivový olej a další oleje,* Praha: Sun, 2011, 87 s. ISBN: 978-80-7371-351-5.

[33] POKORNÝ, Jan., PARKÁNYIOVÁ Lucie. *Food frying from the View of a Chemist*. Chemické listy, 95, 2001, p. 616 - 620.

[34] *Principy fluorescenční spektroskopie* [online]. [cit. 26. 3. 2017]. Dostupné z:http://psych.lf1.cuni.cz/fluorescence/soubory/principy.htm

Dostupné z: http://psych.lf1.cuni.cz/fluorescence/soubory/principy.htm

[35] PARK, Jung-Min a Jin-Man KIM, 2016. Monitoring of Used Frying Oils and Frying Times for Frying Chicken Nuggets Using Peroxide Value and Acid Value. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* [online]. **36**(5), 612-616 [cit. 2017-04-21]. DOI: 10.5851/kosfa.2016.36.5.612. ISSN 12258563. Dostupné z: http://koreascience.or.kr/journal/view.jsp?kj=CSSPBQ&py=2016&vnc=v36n5&sp=612

[36] GERTZ, Christian, S. KLOSTERMANN a S. PARKASH KOCHHAR, 2003. Deep frying: the role of water from food being fried and acrylamide formation. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* [online]. **10**(4), 297-303 [cit. 2017-04-25]. DOI: 10.1051/ocl.2003.0297. ISSN 12588210. Dostupné z: http://www.ocl-journal.org/10.1051/ocl.2003.0297

[37] NĚMCOVÁ, Irena, Petr RYCHLOVSKÝ a Ludmila ČERMÁKOVÁ. *Spektrometrické analytické metody*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 802460776X..

[38] MILATA, Viktor., SEGĽA Peter. *Spektrálne metódy v chémii*. Bratislava: Vydavateľstvo STU, 2004. Edícia vysokoškolských učebníc. ISBN 8022720496.

[39] DEPUY, Charles H. a Orville L. CHAPMAN. *Molekulové reakce a fotochemie*. Přeložil Miloš NEPRAŠ. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1978.

[40] ZÝKA J. a kolektiv. *Analytická příručka Díl II*., třetí přepracované a rozšířené vydání, Praha 1980, SNTL – nakladatelství technické literatury

[41] PRAUS, Petr., VONTOROVÁ Jiřina. Analytická chemie II. *Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství.* [Online] [Citace: 26. 3. 2017]

Dostupné z: http://katedry.fmmi.vsb.cz/617/Analyticka_chemie_II.pdf. ISBN 978-80-248-3734-5.

[42] WORKMAN, Jerry and Art SPRINGSTEEN. *Applied spectroscopy.* San Diego: Academic Press, 1998. ISBN 0127640703.

[43] *Infračervená spektroskopie*, [Online] [Citace: 1. 4. 2017]. Dostupné z: http://old.vscht.cz/lms/Zverze/Infrared.htm

[44] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 8086494020

[45] DAVÍDEK, Jiří. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 1. vydání. Praha: SNTL, 1977. s. 264-303.

[46] FOSTER, R., WILLIAMSON, C. S., LUNN, J. *Culinary oils and their Health effects*. Nutrition Bulletin, 2009, vol. 34, no. 1, p.4–47.

[47] POKORNÁ, Iveta., FILIP, Vladimír. *Olivový olej. Výživa a potraviny*, 2007, roč. 62, č. 6, s. 142–144.

[48] *Fluorimetrie* [online]. [Cit. 1. 4. 2017]. Dostupný z:

http://www.vscht.cz/anl/lach2/FLUORO.pdf.

[49] ŠIMEK, Jaroslav. *Kvalifikační příručka chemického laboranta.* Praha: Práce - vydavatelství a nakladatelství ROH. 1977. 412 s.

[50] COSIMO A. De Caro, Markus SCHUBNELL. *Quality control of olive oil by UV/VIS spectroscopy and DSC*. [online]. [Cit. 20. 4. 2017]. Dostupný z: http://www.mt.com/ch/fr/home/supportive_content/matchar_apps/MatChar_UC422.html

[51] O'BRIEN, Richard D. Fats and oils: formulating and processing for applications. 2nd ed. BocaRaton, Fla.: CRC Press, c2004, 592 s. ISBN 0849315999.

[52] TÓTHOVÁ, Jana, SÁDECKÁ Jana, 2007. Fluorescence spectroscopy and chemometrics in the food classification. *Czech J. Food Sci*. **4**(25), 159–173.

[53] SIKORSKA, Ewa et al., 2005. Classification of edible oils using synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry* [online]. **89**(2), 217-225 [cit. 2017-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.02.028. ISSN 03088146. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814604001931

[54] XU, Jing, Xiao-Fei LIU a Yu-Tian WANG, 2016. A detection method of vegetable oils in edible blended oil based on three-dimensional fluorescence spectroscopy technique. *Food Chemistry* [online]. **212**, 72-77 [cit. 2017-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.05.158. ISSN 03088146.
Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616308470.

[55] GONÇALVES, Rhayanna P., Paulo H. MARÇO a Patrícia VALDERRAMA, 2014. Thermal edible oil evaluation by UV–Vis spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry* [online]. **163**, 83-86 [cit. 2017-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.04.109. ISSN 03088146. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614006827

[56] GUZMÁN, Elena et al., 2015. Evaluation of the overall quality of olive oil using fluorescence spectroscopy. *Food Chemistry* [online]. **173**, 927-934 [cit. 2017-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.10.041. ISSN 03088146.
Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614016033

[57] LI, Bingning et al., 2015. Rapid detection of authenticity and adulteration of walnut oil by FTIR and fluorescence spectroscopy: A comparative study. *Food Chemistry* [online]. **181**, 25-30 [cit. 2017-04-24]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.02.079. ISSN 03088146. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814615002691

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	absorbance
c	molární koncentrace roztoku
CCD	charge-coupled device detektor
d	délka světelné dráhy v kyvetě
ε	molární absorpční koeficient
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy
I	intenzita prošlého záření
I_0	intenzita dopadajícího záření
MK	mastná kyselina
MUFA	mononenasycené mastné kyseliny
Např.	například
Obr.	obrázek
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
S1	singletový stav 1
S2	singletový stav 2
SAFA	nasycené mastné kyseliny
T	transmitace
T1	tripletový stav 1
Tab.	tabulka
Tj.	to je
Tzv.	tak zvaně
UV	ultrafialové záření
VIS	viditelné záření

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Graf spotřeby jedlých olejů, rostlinných tuků a ztužených pokrmových tuků v tržní síti v letech 1967 – 2009 (kg/os/rok) 15
Obr. 2: Celosvětový vývoj produkce olejů 18
Obr. 3: Schéma výroby rostlinných olejů 20
Obr. 4: Stokesův posuv. 46
Obr. 5: Schéma zářivých a nezářivých přechodů mezi elektronově vibračními stavy složité molekuly (forma Jabłonského diagramu). 47
Obr. 6: Spektrofluorofotometr Shimadzu RF-1501. 53
Obr. 7: UV-VIS spektrometr Cecil. 53
Obr. 8: Emisní spektrum slunečnicového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500 57
Obr. 9: Emisní spektrum řepkového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500 58
Obr. 10: Emisní spektrum extra panenského olivového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500 58
Obr. 11: Emisní spektrum arašídového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500 59
Obr. 12: Emisní spektrum sójového oleje v koncentracích 1:50, 1:100, 1:500 59
Obr. 13: Emisní spektrum směsi olejů 61
Obr. 14: UV/VIS měření ředěného slunečnicového oleje 1:3, 1:5, 1:10 63
Obr. 15: UV/VIS měření ředěného řepkového oleje 1:3, 1:5, 1:10 63
Obr. 16: UV/VIS měření ředěného extra panenského olivového oleje 1:3, 1:5, 1:10 64
Obr. 17: UV/VIS měření ředěného arašídového oleje 1:3, 1:5, 1:10 64
Obr. 18: UV/VIS měření ředěného sójového oleje 1:3, 1:5, 1:10 65
Obr. 19: Grafické znázornění nárůstu oxidačních meziproduktů při tepelné zátěži. 66
Obr. 20: Grafické znázornění poklesu chlorofylu při tepelné zátěži. 67

SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Přehled nejdůležitějších olejnatých semen, jejich složení a množství oleje v nich 17
Tab. 2: Druhy olivového oleje**.** 27
Tab. 3: Složení slunečnicového oleje 29
Tab. 4: Složení sójového oleje 30
Tab. 5: Srovnání bodu varu..... 35
Tab. 6: Reakce probíhající při smažení. 35
Tab. 7: Spektroskopické kritéria definující extra panenský olivový olej. 68
Tab. 8: Výsledné hodnoty testovaného extra panenského olivového oleje 69