



LATVIJAS LAUKSAIMNIECĪBAS UNIVERSITĀTE
LATVIA UNIVERSITY OF AGRICULTURE

PĀRTIKAS TEHNOLOĢIJAS FAKULTĀTE
FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY

Mg.sc.ing. Zanda Krūma

**PANĀTRU DZIMTAS GARŠAUGI RAPŠU EĻĻAS
AROMATIZĒŠANAI**

**PLANT FAMILY LAMIACEAE HERBS FOR
RAPESEED OIL AROMATISATION**

Promocijas darba kopsavilkums
inženierzinātņu doktora zinātniskā grāda iegūšanai
Pārtikas zinātnē, Pārtikas procesu apakšnozarē

Summary of promotion work for acquiring
the Doctor's degree of Engineering Sciences in sector of Food Sciences, in
sub-sector Food processes

Jelgava
2008

Promocijas darba vadītājs: profesors, Dr. chem.
Scientific supervisor: **Viesturs Kreicbergs**

Oficiālie recenzenti / Official reviewers:

Dr.habil.sc.ing., profesors **Imants Atis Skrupskis** – Latvijas Lauksaimniecības universitāte / Latvia University of Agriculture

Dr.chem., asociētais profesors **Pēteris Mekšs** – Latvijas Universitāte / Latvia University

Dr.biol., profesors **Raivo Vokk** – Tallinas Tehnoloģijas universitāte / Tallinn University of Technology

Darba izstrāde un noformēšana veikta ar ESF granta atbalstu.
Doctoral thesis has been worked out by financial support of ESF.



Promocijas darba aizstāvēšana notiks LLU Pārtikas zinātnes promocijas padomes atklātajā sēdē 2008. gada _____ plkst. _____ Jelgavā, Lielajā ielā 2, Pārtikas tehnoloģijas fakultātē, 145. auditorijā.

The defence of the thesis in open session of the Promotion Board of Food Science will be held on, 2008, at _____ in auditorium No. 145, LLU, Liela iela 2, Jelgava.

Ar promocijas darbu un kopsavilkumu var iepazīties LLU Fundamentālajā bibliotēkā, Lielā ielā 2, Jelgavā, LV 3001 un <http://llufb.llu.lv/llu-theses.htm>.
Atsauksmes sūtīt Promocijas padomes sekretārei LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes docentei *Dr. phys. L. Markevičai* Lielā iela 2, Jelgava, LV 3001 vai lilija.markevica@llu.lv

The thesis is available at the Fundamental Library of the Latvia University of Agriculture, Liela iela 2, Jelgava and <http://llufb.llu.lv/llu-theses.htm>.
References are welcome to send to *Dr. phys. L. Markevica*, the Secretary of the Promotion Board of LUA, Faculty of Food Technology, Lielā iela 2, Jelgava, LV-3001, Latvia or lilija.markevica@llu.lv.

SATURS

Pētījuma aktualitāte	4
Zinātniskā darba aprobācija	5
Materiāli un metodes	7
Pētījumu rezultāti un diskusija	12
1. Optimālo cietās fāzes mikroekstrakcijas parametru izvēle	12
2. Garšaugu un eļļas izvēle aromatizēšanai	13
3. Gaistošie savienojumi aromatizētās eļļās	16
4. Fenolu savienojumi garšaugos un aromatizētās eļļās	22
5. Augu eļļu kvalitātes rādītāju izmaiņas aromatizētās eļļās	25
6. Aromatizēšanas apstākļu ietekme uz aromatizētu eļļu kvalitātes rādītājiem	26
Secinājumi	32
Ieteikumi ražotājiem	33

CONTENT

Topicality of the research	34
Approbation of the scientific work	35
Materials and methods	36
Research results and discussion	38
1. Selection of optimal solid phase microextraction parameters	38
2. Selection of herbs and oil for aromatisation	39
3. Volatile compounds in aromatised oils	41
4. Phenolic compounds in herbs and aromatised oils	44
5. Changes in quality indicators of aromatised oils	46
6. The effect of aromatisation conditions on the quality of aromatised oil	47
Conclusions	50
Recommendations for manufacturers	51

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Garšaugus pārtikas produktu garšas uzlabošanai lieto visā pasaulē. Eiropā dažādu produktu gatavošanai tos īpaši daudz izmanto Vidusjūras valstīs, patērējot gan svaigā, gan kaltētā, gan saldētā veidā. Latvijā garšaugu izmantošana kļuvusi populāra pēdējos gados, līdz ar to novērota tendence komerciālā nolūkā audzēt baziliku, timiānu, oregano, kalnumētru un citus garšaugus.

Garšaugiem ir liela nozīme uzturā, un tos lieto, lai uzlabotu pārtikas produktu aromātu un garšu, ko nodrošina garšaugu sastāvā esošās ēteriskās eļļas. Bez aromāta uzlabošanas garšaugiem piemīt arī antioksidatīvas (Yanishlieva *et al.*, 2006; Tomaino, 2005; Lee, 2005), antimikrobiālas (Souza, 2007; Baydar *et al.*, 2004) īpašības, kā arī tie pozitīvi ietekmē cilvēka veselību (Sahin, 2004), rosina apetīti, veicina gremošanas sulu izdalīšanos.

Nozīmīgākie savienojumi, kuri nodrošina šīs īpašības ir fenolu savienojumi, terpenoīdi, taukskābju un aminoskābju atvasinājumi. Daļa garšaugos esošo bioloģiski aktīvo savienojumu ir eļļā šķīstoši, tādēļ viens no garšaugu izmantošanas veidiem ir pārtikas eļļu aromatizēšanai. Savukārt attīstītās valstīs ir pieprasītas eļļas ar paaugstinātu uzturvērtību, kā, piemēram, eļļas ar zemu *trans* taukskābju, palielinātu omega-3 taukskābju saturu, kā arī paaugstinātu taukos šķīstošo vitamīnu saturu (Murphy, 2006).

Patērētāji vēlas iegādāties pārtikas produktus, kuri nesatur sintētiskas piedevas, tāpēc tiek meklētas iespējas izmantot augu antioksidatīvās īpašības. Pēdējos gados daudz pētītas dabisko garšaugu īpašības, izmantošanas iespējas, kā arī dažādu ekstraktu iegūšana no garšaugiem un to īpašības. Pētījumos pierādīts, ka dabiskiem garšaugiem piemīt augstāka antioksidatīvā aktivitāte, salīdzinot ar to ekstraktiem dažādos šķīdinātājos (Proestos, 2006). Literatūrā ir plaši aprakstīts garšaugu gaistošo, aromātu veidojošo un fenolu savienojumu sastāvs, taču praktiski nav datu par šo savienojumu ekstrakcijas likumsakarībām no garšaugiem uz eļļām. Eļļu izmanto arī antioksidatīvo savienojumu ekstrahēšanai no garšaugiem (Pokorny *et al.*, 2001).

Eiropā pieaug eļļas ražotāju skaits, kuri ražo dabīgu auksti spiestu pārtikā izmantojamu rapšu eļļu. Rafinēto pārtikas eļļu tirgus ir stabils – ar nelielu pieaugumu, savukārt, auksti spiestas rapšu eļļas pieprasījums strauji pieaug, it sevišķi Vācijā (Matthaus *et al.*, 2006). Aromatizējot eļļu ar garšaugiem, to sastāvā esošie aromātu veidojošie un bioloģiski aktīvie savienojumi ekstrahējas eļļā, tā paaugstinot tās uzturvērtību.

Promocijas **darba mērķis** – pētīt Latvijā audzētu garšaugu bazilika, oregano un timiāna piemērotību aromatizētas rapšu eļļu ieguvei.

Darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

- 1) noteikt optimālos cietās fāzes mikroekstrakcijas metodes parametrus gaistošo savienojumu noteikšanai garšaugos un aromatizētā eļļā,
- 2) salīdzināt gaistošo savienojumu sastāvu un saturu Latvijā audzētos un komerciāli pieejamos garšaugos, izvērtēt to piemērotību eļļu aromatizēšanai,
- 3) salīdzināt gaistošo savienojumu sastāvu garšaugos un aromatizētās eļļās,
- 4) noteikt fenolu savienojumus garšaugos un to ekstrakcijas pakāpi aromatizētās eļļās,
- 5) analizēt aromatizēšanas apstākļu ietekmi uz rapšu eļļas kvalitātes rādītājiem – peroksīdskaitli, skābes skaitli, taukskābju sastāvu,
- 6) izpētīt aromatizēšanas parametru ietekmi uz gaistošo savienojumu sastāvu un saturu eļļā.

Darba **novitāte un zinātniskais nozīmīgums**.

Pirmo reizi Latvijā pētīts:

- 1) Latvijā audzētu garšaugu bazilika, oregano un timiāna gaistošo un fenolu savienojumu sastāvs,
- 2) gaistošo aromātu veidojošo savienojumu ekstrakcija no garšaugiem eļļā, atkarībā no aromatizēšanas apstākļiem,
- 3) fenolu savienojumu sastāvs ar Latvijā audzētiem un komerciālā sistēmā piedāvātiem garšaugiem aromatizētās eļļās.

Zinātniskā darba tēma un tās izstrāde saistīta ar Valsts pētījumu programmu agrobiotehnoloģijā „Inovatīvas tehnoloģijas augstvērtīgu, drošu un veselīgu pārtikas produktu ieguvei no ģenētiski, fizioloģiski un bioķīmiski daudzveidīga augu un dzīvnieku izejmateriāla” projektu „Jaunu, funkcionālām sastāvdaļām bagātu pārtikas produktu ražošanas tehnoloģijas”.

Darba **tautsaimnieciskā nozīmība** – izpētīts ar dažādiem garšaugiem aromatizētu eļļu sastāvs, kā arī aromatizēšanas apstākļu ietekme uz aromātvielu sastāvu. Eļļu aromatizēšanas metode ar kaltētiem garšaugiem paaugstinātā temperatūrā tiek eksperimentāli pārbaudīta SIA „Jecavnieks”.

ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

Par darba gaitu un rezultātiem sniegti vienpadsmit ziņojumi starptautiskajās zinātniskajās konferencēs Latvijā, Lietuvā, Grieķijā, Francijā, Turcijā, Čehijā un Spānijā.

1. **Kruma Z.** (2008) Plant family *Lamiaceae* herbs for oil aromatization. 2nd Workshop of EFCE and EFFoST. Francija, Parīze, 26.–27. maijs (referāts / oral presentation).
2. **Kruma Z.,** Andjelkovic M., Verhe R., Kreicbergs V. (2008) Phenolic compounds in basil, oregano and thyme. 3rd Baltic

- Conference on Food Science and Technology FoodBalt 2008. Latvija, Jelgavā, 17.–18. aprīlis (referāts / oral presentation).
3. **Kruma Z.**, Adams A., Kreicbergs V., Verhe R., Kimpe N. (2007) Volatile aroma compounds in rapeseed oil aromatized with basil. 5th International Congress of Food Technology. Grieķija, Saloniki, 9.–11. marts (stenda referāts / poster presentation).
 4. **Kruma Z.**, Andjelkovic M., Verhe R., Kreicbergs V. (2006) Phenolic compounds in spices and in aromatized oils. 4th EuroFedLipid Congress Oils, Fats and Lipids for a Healthier Future. Spānijā, Madride, 1.–4. oktobris (stenda referāts / poster presentation).
 5. **Kruma Z.**, Kreicbergs V., Adams A. (2006) Volatile compounds in aromtised oils with basil, oregano and thyme. Doktorantu konference Research for Rural Dvelopment 2006. Latvija, Jelgava, 17.–19. maijs (referāts / oral presentation).
 6. **Kruma Z.**, Kreicbergs V. (2006) Latvijā audzētu garšaugu ķīmiskais sastāvs. Pārtikas tehnoloģijas fakultātes konference. Latvija, Jelgava, 10. maijs (referāts / oral presentation).
 7. **Kruma Z.**, Kreicbergs V., Adams A. (2006) Volatile compounds in oils aromatised with spices grown in Latvia. 1st Conference FoodBalt 2006. Lietuva, Kauņa, 25.–26. aprīlis (referāts / oral presentation).
 8. **Kruma Z.**, Kreicbergs V. (2005) Dynamics of aromatised oil oxidation. 26th World Congress and Exhibition of the ISF Modern Aspects of Fats and Oils. Čehija, Prāga, 25.–28. septembris, (stenda referāts / poster presentation).
 9. **Kruma Z.**, Kreicbergs V. (2005) Dynamics of flavoured oil oxidation ability. 1st International Food and Nutrition Congress – Food Safety and Quality Throught The Food Chain. Turcija, Stambula, 15.–18. jūnijs (stenda referāts / poster presentation).
 10. **Kruma Z.**, Kreicbergs V. (2005) Dynamics of Peroxide Value in Flavoured Rapeseed oil. Doktorantu konference Research for rural development 2005. Latvija, Jelgava, 18.–20. maijs (referāts / oral presentation).
 11. **Kruma Z.**, Strautniece E., Kreicbergs V. (2005) Aromatizētu eļļu un majonēžu sensorais novērtējums. PTF zinātniskā konference Jaunākās tehnoloģijas tradicionālā pārtikā. Latvija, Jelgava, 11. maijs (referāts / oral presentation).

Darba rezultāti atspoguļoti 7 zinātniskajās publikācijās angļu valodā, no kurām – 7 LZP atzītos izdevumos.

1. **Kruma Z.**, Andjelkovic M., Verhe R., Kreicbergs V. (2008) Phenolic compounds in oils aromatised with basil, oregano and

thyme. *CIGR International Conference of Agricultural Engineering 2008 Proceedings*, CD format.

2. **Kruma Z.**, Andjelkovic M., Verhe R., Kreicbergs V. (2008) Phenolic compounds in basil, oregano and thyme. *3rd Baltic Conference on Food Science and Technology Proceedings*, Jelgava, p. 99–103.
3. **Kruma Z.**, Adams A., Kreicbergs V., Verhe R., Kimpe N. (2007) Volatile aroma compounds in rapeseed oil aromatized with basil. *5th International Congress of Food Technology Proceedings*, p. 488–494.
4. **Kruma Z.**, Kreicbergs V., Adams A. (2006) Volatile compounds in aromatized oils with basil, oregano and thyme. *Research for Rural Development 2006 Proceedings*, Jelgava, p. 218–223.
5. **Kruma Z.**, Kreicbergs V., Adams A. (2006) Volatile compounds in oils aromatized with spices grown in Latvia. *Chemina Technologia*, 4 (42), p.74–79.
6. **Kruma Z.**, Strautniece E. (2005) Sensory Evaluation of Aromatised oils and mayonnaises. *Conference New Technologies in Traditional Food Proceedings*, Jelgava, p. 216–221.
7. **Kruma Z.**, Kreicbergs V., Karklina D. Dynamics of Peroxide Value in Flavoured Rapeseed oil. *Research for Rural Development 2005*, Jelgava, p. 213–221.

MATERIĀLI UN METODEDES

Pētījumu laiks un vieta

Pētījumi veikti laikā no 2004. septembra līdz 2007. gada augustam:

- Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātē (skābes skaitļa, peroksīdu skaitļa un viskozitātes noteikšana);
- Gentes universitātē Beļģijā (gaistošo un fenolu savienojumu noteikšana garšaugos un eļļā);
- PVD Nacionālajā diagnostikas centrā – (eļļas taukskābju sastāva noteikšana);
- Izstāde Rīga Food 2003 un Rīga Food 2004 (sensorās analīzes).

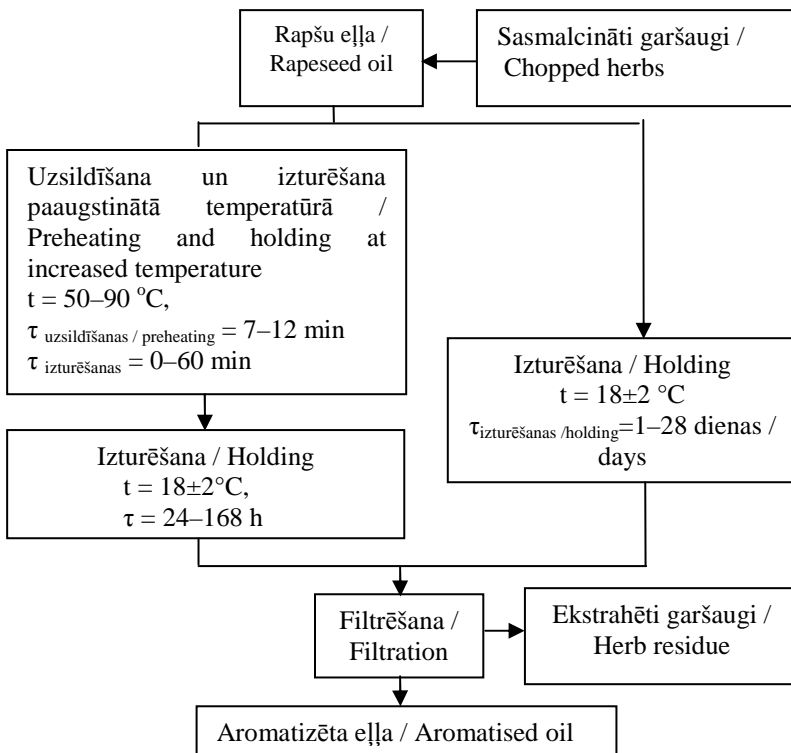
Pētījumā izmantotie materiāli

Pētījumos izmantoti septiņi Latvijas Lauksaimniecības universitātes Lauksaimniecības fakultātes izmēģinājumu laukos audzēti, kā arī trīs komerciālā sistēmā iegādāti garšaugi. Garšaugus pirms izmantošanas eļļu aromatizēšanai sasmalcina (daļiņu lielums 0,5–2 mm). Aromatizēšanai izmantota gan rafinēta, gan nerafinēta rapšu eļļa.

Aromatizētu eļļu un majonēžu gatavošanas tehnoloģija

Aromatizētas eļļas gatavoja pēc 2 metodēm (1. att.):

- 1) izturot eļļu ar garšaugiem 18 ± 2 °C temperatūrā. Pudeli ar eļļu un garšaugiem noslēdz ar plastmasas vāku un elastīgo lentu (Parafilm). Paraugu iztur 18 ± 2 °C temperatūrā 1–28 dienas. Pēc izturēšanas eļļas paraugus filtrē caur filtru ar acu lielumu 0,3 mm un analizē.
- 2) izturot eļļu ar garšaugiem paaugstinātā temperatūrā. Pudeli ar eļļu un garšaugiem uzliek vāku, bet hermētiski noslēdz un ievieto ūdens vannā, kurā uztur temperatūru: 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C un 90 °C un silda, līdz eļļa sasniedz izvēlēto temperatūru.



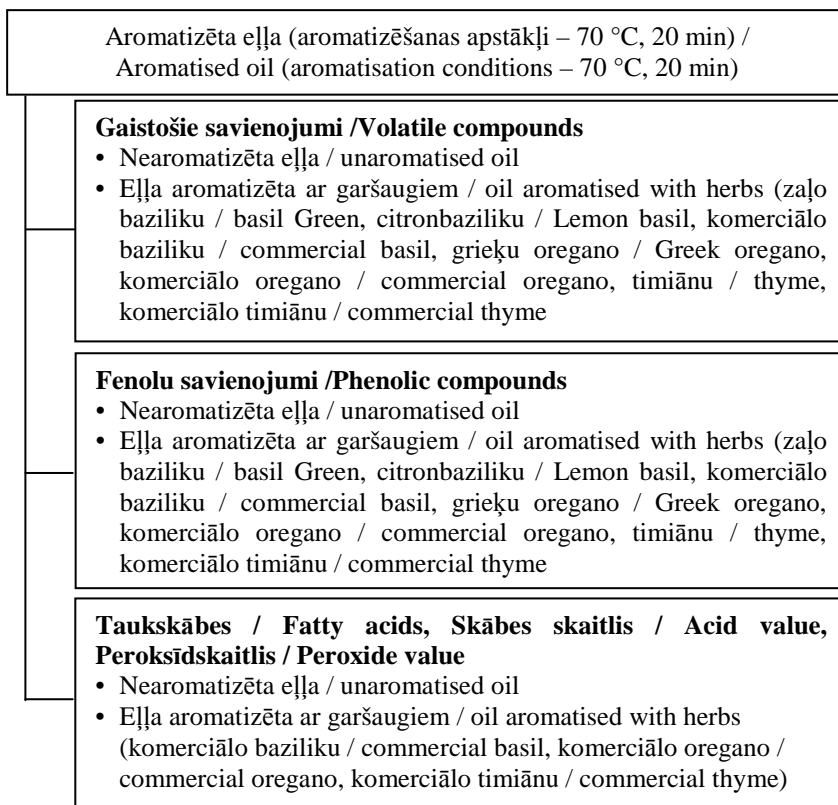
1. att. Eļļu aromatizēšanas metodes
Fig. 1. Methods of oil aromatisation

Majonēžu gatavošana ir viens no iespējamajiem aromatizētu eļļu izmantošanas veidiem. Pamatojoties uz jau izstrādātu majonēžu gatavošanas tehnoloģiju (SIA „Balttur-R”) tika gatavoti 2 majonēžu veidi: majonēze ar aromatizētu eļļu un majonēze ar izekstrahētiem garšaugiem.

Pētījumu struktūra

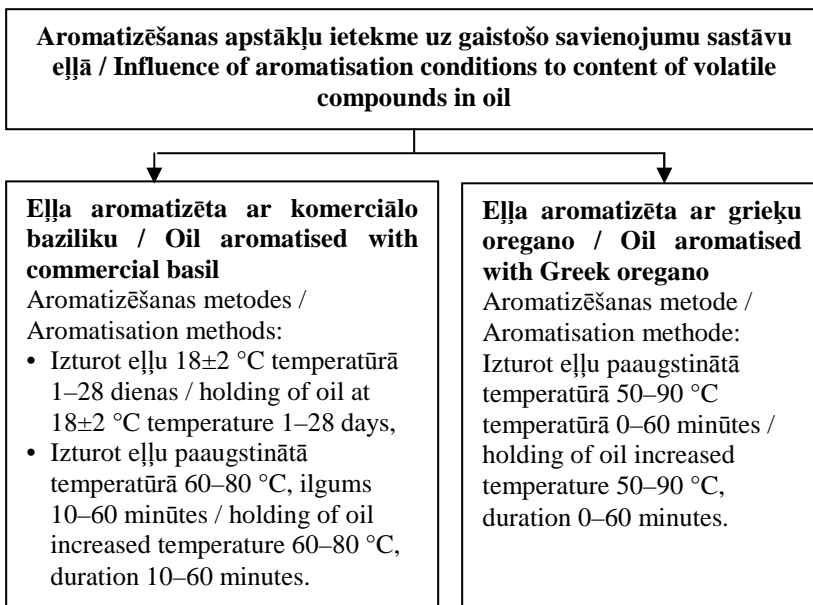
Pētījumā analizēja garšaugus, rapšu eļļu, ar garšaugiem aromatizētu rapšu eļļu, majonēzi. Darbu var iedalīt piecās sadaļās.

1. Gaistošo savienojumu ekstrakcijas metodes (cietās fāzes mikroekstrakcija) optimālo parametru noteikšana. Optimālo rādītāju noteikšanai pārbaudīja mikroekstrakcijas šķiedras ar trīs dažādiem pārklājumiem, ekstrakcijas ilgumu no 10 līdz 120 minūtēm, ekstrakcijas temperatūru no 20–60 °C.
2. Garšaugu atlase eļļu aromatizēšanai, pamatojoties uz gaistošo savienojumu un sensorām analīzēm.
3. Eļļas izvēle, pamatojoties uz peroksīdskaitļa un sensorām analīzēm.
4. Aromatizētu eļļu kvalitātes pētījumi (2. att.)



2. att. Aromatizētu eļļu kvalitātes pētījumu shēma
Fig. 2. Investigations scheme of aromatised oil quality

5. Aromatizēšanas apstākļu ietekme uz gaistošo savienojumu sastāvu eļļā, tās oksidēšanos un viskozitāti (3. att.).



3. att. Aromatizēšanas metodes ietekme uz gaistošo savienojumu daudzumu un sastāvu eļļā

Fig. 3. Influence of aromatisation method to content and amount of volatiles in aromatised oil

Aromatizēšanas apstākļu ietekme uz eļļas oksidēšanos pētīta ar oregano aromatizētos eļļas paraugos. Viskozitāte noteikta nearomatizētai eļļai, atkarībā no temperatūras.

Pētījumā noteiktie rādītāji un izmantotās metodes

Garšaugiem, eļļām un majonēzei noteiktie rādītāji parādīti 1. tabulā.

Gaistošo savienojumu noteikšana. Izdalīšanai izmantota cietās fāzes mikroekstrakcija, gaistošo savienojumu noteikšanai – gāzu hromatogrāfs kopā ar masspektometru.

Fenolu savienojumu noteikšana. Fenolu savienojumi no garšaugiem ekstrahēti, izmantojot divus šķīdinātājus: metanolu un dietilēteri, no eļļām tie ekstrahēti izmantojot cietās fāzes ekstrakciju. Fenolu savienojumu noteikšanai izmantoja reversās fāzes šķīduma hromatogrāfa *Agilent 1100 LC-MSD* sistēmu.

Viskozitātes noteikšana. Rafinētas eļļas viskozitāte noteikta ar programmējamo reometru DV-III *Ultra Rheometer BROOKFIELD*. Pētījumā

iegūtie dati ir viskozitāte (mPa s) atbilstošā temperatūrā (°C). Parauga sākotnējā temperatūra 18±0,5 °C. Eļļas parauga viskozitāte noteikta 18, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 un 90 °C temperatūrā. Dati apstrādāti ar datorprogrammu *Rheocalc*.

1. tabula / Table 1

**Garšaugu, nearomatizētas un aromatizētas eļļas, majonēzes pētījumi /
Investigations of herbs, unaromatised and aromatised oils, mayonnaises**

Analizētie rādītāji / Analysed parameters	Garšaugi / Herbs	Nearomatizēta eļļa / Unaromatised oil	Aromatizēta eļļa / Aromatised oil	Majonēze / Mayonnaise
Gaistošie savienojumi / Volatile compounds	+	+	+	-
Fenolu savienojumi / Phenolic compounds	+	+	+	-
Taukskābju sastāvs / Fatty acid composition	-	+	+	-
Skābes skaitlis / Acid value	-	+	+	-
Peroksīdskaitlis / Peroxide value	-	+	+	-
Sensorā vērtēšana / Sensory evaluation	-	-	+	+
Viskozitāte / Viscosity	-	+	-	-

Sensorās vērtēšanas metodes. Starptautiskajā pārtikas izstādē „Riga Food 2003” un „Riga Food 2004” tika veikta aromatizētu eļļu un majonēžu sensorā vērtēšana, lai noskaidrotu patērētāju viedokli par piedāvātajiem produktiem (hēdoniskā skala).

Peroksīdskaitlis noteikts ar standartmetodi LVS EN ISO 3960:2005.

Oksidējamību raksturo eļļas peroksīdskaitlis, kas noteikts pēc paraugu izturēšanas 48 stundas 60 °C temperatūrā (Matiseks, 1998).

Skābes skaitlis noteikts ar standartmetodi LVS EN ISO 660:2001.

Taukskābju sastāvs noteikts ar standartmetodi LVS EN ISO 5590:2001.

Datu matemātiskā apstrāde veikta ar matemātiskās statistikas metodēm. Iegūtajiem rezultātiem aprēķināti šādi rādītāji: vidējais aritmētiskais, standartnovirze. Datu interpretācijai izmantota vienfaktora un divfaktoru

dispersijas analīze, korelācija, lietojot *Microsoft Excel for Windows 7.0* un *SPSS 11.0* programmas paketi (Arhipova, 2003).

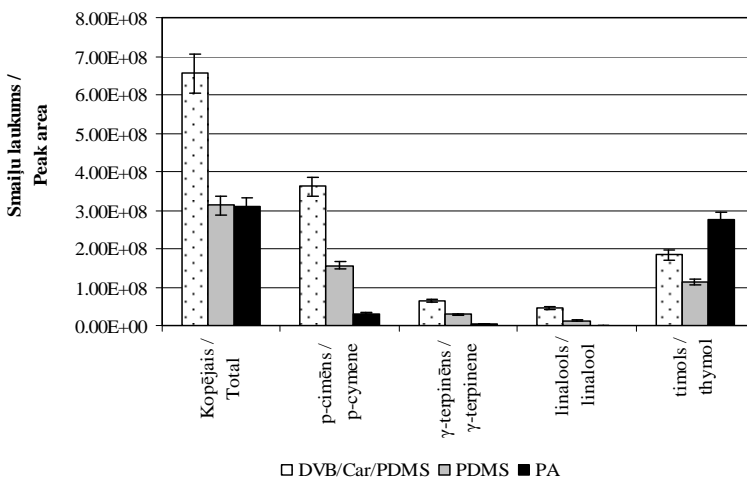
PĒTĪJUMU REZULTĀTI UN DISKUSIJA

1. Optimālo cietās fāzes mikroekstrakcijas parametru izvēle

Cietās fāzes mikroekstrakcijas nozīmīgākie parametri ir mikroekstrakcijas šķiedras pārklājums, ekstrakcijas ilgums un temperatūra. Optimālo parametru izvēlei tiek pārbaudīta timiāna gaistošo aromātu veidojošo savienojumu ekstrakcija. Mikroekstrakcijas šķiedru piemērotību pētījumam ietekmē absorbējošā pārklājuma materiāla īpašības. Pētījumā pārbaudītas trīs mikroekstrakcijas šķiedras ar atšķirīgiem pārklājumiem (polidimetilsiloksānu (PDMS) – nepolārs, poliakrilātu (PA) – polārs, kombinētu šķiedras pārklājumu, kurš sastāv no trīs materiāliem: divinilbenzēna (DVB) – nepolārs, polidimetilsiloksāna (PDMS) – nepolārs, karboksēna (Car) – polārs). Identificēto gaistošo savienojumu skaitu un to smaiļu laukumu būtiski ($p < 0,05$) ietekmēja izmantotās cietās fāzes mikroekstrakcijas šķiedras pārklājuma materiāls (4.att.). Vislielākais kopējo identificēto savienojumu smaiļu laukums konstatēts, izmantojot DVB/CAR/PDMS šķiedru. Ar PA un PDMS šķiedrām iegūto gaistošo savienojumu smaiļu laukumi būtiski ($p < 0,05$) neatšķiras. Rezultātu pamatošanai aprēķināja ekstrakcijas efektivitāti N_x , kuru izmanto metožu optimizācijai (Sanche-Silva *et al.*, 2005). Ekstrakcijas efektivitāte PA un PDMS šķiedrām, salīdzinot ar DVB/CAR/PDMS, ir attiecīgi 47% un 47,7%. Terpēniem p -cimēnam, linaloolam un γ -terpinēnam lielākais smailes laukums iegūts, izmantojot DVB/CAR/PDMS šķiedru, savukārt, aromātiskam savienojumam timolam lielākais smailes laukums bija, izmantojot PA šķiedru. Arī literatūrā dati parāda, ka PA šķiedra ir piemērota aromātisko savienojumu noteikšanai (Czerwinski *et al.*, 1996). Pamatojoties uz šiem rezultātiem kā piemērotākā turpmākiem pētījumiem izvēlēta DVB/CAR/PDMS šķiedra.

Cietās fāzes mikroekstrakcija ir līdzsvara tehnoloģija, tātad savienojumi netiek pilnībā izdalīti no parauga, bet mērķis ir panākt aromātu veidojošo savienojumu līdzsvaru starp trīs fāzēm: paraugu, tvaika fāzi virs parauga un šķiedras pārklājumu. Līdzsvara iestāšanos ietekmē ekstrakcijas temperatūra un ilgums.

Ekstrakcijas ilguma optimizēšanai garšaugu paraugus ekstrahē 10, 20, 30, 45, 60, 120 minūtes. Kā optimālais ekstrakcijas ilgums izvēlēts 60 minūtes, jo būtiski ($p < 0,05$) nesamazinās viegli gaistošo savienojumu saturs, bet iespējams iegūt lielāku grūtāk gaistošu savienojumu saturu, līdz ar to iegūtie rezultāti labāk raksturo paraugu sastāvu.



4. att. Cietās fāzes mikroekstrakcijas šķiedras ietekme uz ekstrahēto gaistošo savienojumu smaīļu laukumu timiāna paraugā (ekstrakcijas temperatūra 30 °C, ilgums 20 minūtes)

Fig. 4. The influence of solid phase microextraction fiber to peak area of extracted volatile aroma compounds of thyme (extraction temperature 30 °C, duration 20 minutes)

Trešais faktors, kas ietekmē gaistošo savienojumu ekstrakciju ir temperatūra. Timiāna gaistošo savienojumu sastāvu un daudzumu tvaika fāzē būtiski ietekmē ekstrakcijas temperatūra. Tikai viena savienojuma (timola) smaīles laukums palielinās, ja temperatūra tiek paaugstināta virs 30 °C, bet pārējiem savienojumiem šajā temperatūrā tiek sasniegts maksimālais smaīles laukums (vai arī tas būtiski neatšķiras no maksimālā), tad kā optimālā ekstrakcijas temperatūra turpmākiem pētījumiem izvēlēta 30 °C.

2. Garšaugu un eļļas izvēle aromatizēšanai

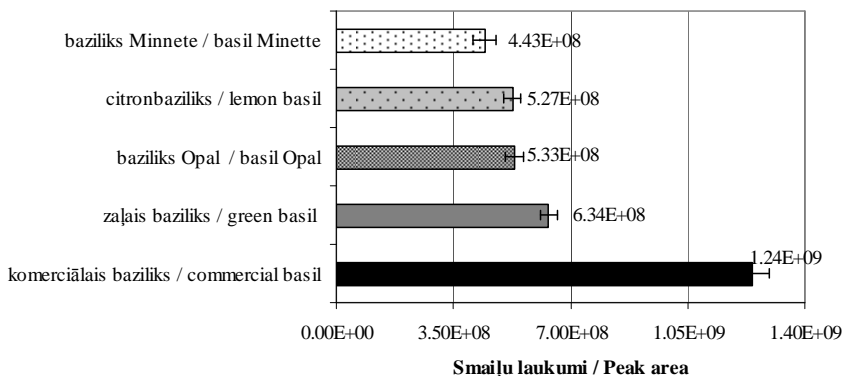
Eļļas aromatizēšanai ir nozīmīga gan garšaugu, gan eļļas kvalitāte.

Garšaugu izvēle aromatizēšanai

Gaistošie savienojumi veido produktu garšu un aromātu, tādēļ eļļu aromatizēšanai ieteicams izmantot garšaugus, kuros ir vairāk aromātu veidojošo savienojumu.

Baziliks. Pētījumiem tika izvēlēti četru šķirņu bazilika paraugi, kuri audzēti LLU Lauksaimniecības fakultātes izmēģinājumu laukos (zaļais baziliks, Opal baziliks, citronbaziliks, baziliks Minette) un viens komerciālā sistēmā piedāvātais baziliks. Kopējais identificēto gaistošo savienojumu smaīļu

laukums bazilika paraugiem būtiski atšķiras, faktiskā testa vērtība $F_{\text{fakt.}}=277 > F_{\text{crit.}}=3,48$. Vislielākais tvaika fāzē identificēto gaistošo savienojumu smaiļu laukums ir komerciālā bazilika tvaika fāzē (5. att.).



5. att. Pētītajos bazilika paraugos identificēto gaistošo savienojumu kopējie smaiļu laukumi

Fig. 5. Total peak areas of identified compounds in analysed basil samples

Latvijā audzēto bazilika šķirņu tvaika fāzē identificēto gaistošo savienojumu smaiļu laukumi ir divas līdz trīs reizes mazāki nekā komerciālajam bazilikam. Atšķirības varētu skaidrot ar dažādiem audzēšanas apstākļiem, jo komerciālo baziliku audzē citos klimatiskos apstākļos (*Santa Maria* garšaugi tiek importēti no Āzijas, Eiropas dienvidiem u.c. vietām). Būtiska ietekme uz aromātu veidojošo savienojumu saturu ir arī kaltēšanas apstākļiem. Latvijā audzētos garšaugus kaltē gaisa vidē, kas veicina aromātu veidojošo vielu zudumus, bet, komerciālā bazilika kaltēšanai, iespējams, izmantotas modernākas tehnoloģijas, tā saglabājot aromātu veidojošos savienojumus. Turpmākiem pētījumiem eļļu aromatizēšanai izvēlēti trīs veidu bazilīki – komerciālais, zaļais bazilīks un citronbazilīks. Komerciālais un zaļais bazilīks izvēlēts tādēļ, ka tajos ir visvairāk gaistošo aromātu veidojošo savienojumu. Citronbazilika izvēli noteica patērētāju sensorās vērtēšanas rezultāti.

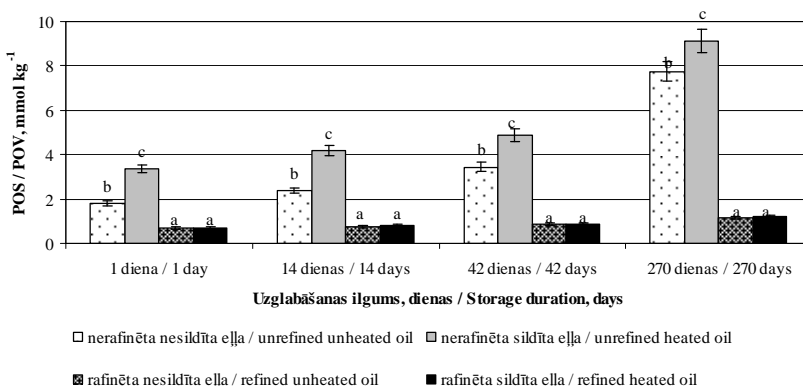
Oregano. Pētījumos izmantoti trīs oregano – Latvijā audzēta raudene un grieķu oregano, kā arī komerciālais oregano. Kopējais identificēto gaistošo savienojumu smaiļu laukums dažādiem oregano ģintij piederošiem garšaugiem būtiski atšķiras ($p < 0,05$). Turpmākiem pētījumiem eļļu aromatizēšanai izvēlēti divi oregano – komerciālais un grieķu oregano, jo tajos ir vairāk aromātu veidojošo vielu.

Timiāns. Pētījumā tika analizēti divi timiāna paraugi – Latvijā audzētais un komerciālais timiāns. Kopējais identificēto gaistošo savienojumu smaiļu laukums komerciālajam timiānam un Latvijā audzētajam timiānam būtiski neatšķīrās ($p>0,05$). Turpmākiem pētījumiem eļļu aromatizēšanai izmantoti abi timiāna paraugi.

Eļļas izvēle aromatizēšanai

Pētījumā eļļu aromatizēšanai izvēlēta rapšu eļļa, jo rapsis ir nozīmīgākais eļļas augs, kurš tiek audzēts un pārstrādāts Latvijā, un eļļai ir arī augsta uzturvērtība. Pārtikā izmanto gan nerafinētu, gan rafinētu rapšu eļļu, un, lai izvēlētos pētījumam atbilstošāko, veica aromatizētu eļļu sensoro novērtēšanu, kā arī analizēja peroksīdskaitļa izmaiņas uzglabāšanas laikā.

Peroksīdskaitļa izmaiņas rafinētā un nerafinētā eļļā. Nerafinētai un rafinētai eļļai peroksīdskaitli noteikts, uzsākot pētījumu un uzglabāšanas laikā pēc 2 un 6 nedēļām, 9 mēnešiem. Turpmākos pētījumos aromatizētu eļļu iegūšanai nepieciešams rapšu eļļu sildīt, tāpēc salīdzinātas peroksīdskaitļa izmaiņas nesildītā un sildītā (20 minūtes 80 °C) eļļā. Gan rafinētai, gan nerafinētai eļļai uzglabāšanas laikā peroksīdskaitlis pieaug un korelācijas koeficients ir attiecīgi 0,98 un 0,99 (6. att.).



* - vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu nav būtiski atšķirīgas savā starpā pie $p>0,05$. Atšķirību būtiskums vērtēts katram uzglabāšanas periodam atsevišķi / values, marked with the same letter did not differ significantly $p>0,05$. Significance of differences is estimated for each storage duration separately

6. att. Peroksīdskaitļa izmaiņas rafinētā un nerafinētā eļļā uzglabāšanas laikā

Fig. 6. Changes of peroxide value in refined and unrefined rapeseed oil

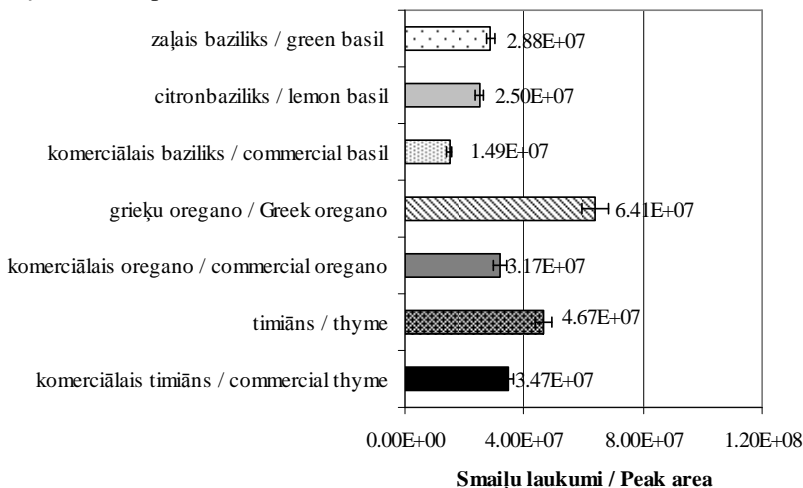
Nerafinētā eļļā ir straujš peroksīdskaitļa pieaugums, un pēc 9 mēnešiem tas ir palielinājies 4 reizes, bet rafinētai eļļai peroksīdskaitlis pieaudzis tikai

1,7 reizes. Rafinētā rapšu eļļā oksidācijas procesi pētījumu periodā noris lēni, un peroksīdskaitļa izmaiņas ir ļoti mazas, ko var izskaidrot ar antioksidantu iespējamo klātbūtni eļļā, kā arī rafinēšanas procesa ietekmi, kura laikā tiek atdalīti oksidēšanos veicinošie savienojumi. Eļļas sildīšana 80 °C temperatūrā 20 minūtes būtiski ($p < 0,05$) ietekmēja nerafinētas eļļas oksidēšanos, un sildītā eļļā peroksīdu veidošanās ir straujāka, savukārt būtiski neatšķiras sildītas un nesildītas rafinētas eļļas peroksīdskaitlis. Tā kā gan nesildītā, gan sildītā rafinētā eļļā peroksīdu veidošanās bija lēnāka kā nerafinētā eļļā, aromatizēšanai piemērotāka ir rafinēta eļļa.

Sensorā vērtēšana. Pārtikas izstādē „Riga Food 2004” patērētāju vērtējumam piedāvāti divi ar zaļo baziliku aromatizēti eļļas paraugi, kuru gatavošanai izmantota nerafinēta rapšu eļļa un rafinēta rapšu eļļa. Rezultāti parādīja, ka patikšanas ziņā nav būtiskas atšķirības starp abiem šiem paraugiem. Viens no aromatizētu eļļu izmantošanas veidiem varētu būt majonēzes gatavošana. Izstādes „Riga Food 2004” apmeklētājiem piedāvāja novērtēt arī majonēzes paraugus, kuru gatavošanā izmantota aromatizēta eļļa un rezultāti parādīja, ka augstāks novērtējums bija majonēzei, kuras gatavošanā izmantota rafinēta eļļa. Pamatojoties uz šiem rezultātiem, aromatizēšanai izvēlēta rafinēta rapšu eļļa.

3. Gaistošie savienojumi aromatizētās eļļās

Visu analizēto eļļu tvaika fāzē identificēto gaistošo savienojumu kopējais smaīļu laukums parādīts 7. attēlā.



7. att. Kopējie gaistošie savienojumi aromatizētu eļļu tvaika fāzē

Fig. 7. Total volatile aroma compounds in aromatised oils

Visvairāk gaistošo aromātu veidojošo savienojumu ir eļļās ar grieķu oregano tvaika fāzē. Līdzīgi arī tvaika fāzē virs grieķu oregano ir visvairāk kopējo gaistošo savienojumu, salīdzinot ar citiem pētītajiem garšaugiem. Vismazāk gaistošo savienojumu ir ar komerciālo baziliku aromatizētas eļļas tvaika fāzē, bet salīdzinot visu pētīto baziliku tvaika fāzē identificēto savienojumu daudzumu, komerciālā bazilika tvaika fāzē bija visvairāk gaistošo savienojumu. Lai varētu salīdzināt gaistošo savienojumu daudzuma atšķirības garšauga un eļļas tvaika fāzē, aprēķināta smailes laukumu attiecība E_x , starp savienojumu smaiļu laukumu garšauga tvaika fāzē un savienojuma smailes laukumu ar šo garšaugu aromatizētā eļļā. Ja smaiļu laukumu attiecība E_x ir 100%, tad aromatizētas eļļas un garšauga tvaika fāzē ir vienāds gaistošo savienojumu saturs. Vismazāk no garšauga tvaika fāzē esošiem aromātu veidojošiem savienojumiem identificēti eļļās ar komerciālo baziliku tvaika fāzē (9,6%), savukārt, visaugstākie rādītāji ir Latvijā audzētam timiānam, citronbazilikam, un zaļajam bazilikam, attiecīgi 40,1; 38,0 un 36,3 %. Smaiļu laukumu attiecības atšķirības garšaugiem ietekmē vairāki faktori: gan augu fizioloģija, t.i., ēterisko eļļu izvietojums auga struktūrā, gan garšaugu sastāvā esošo savienojumu īpašības

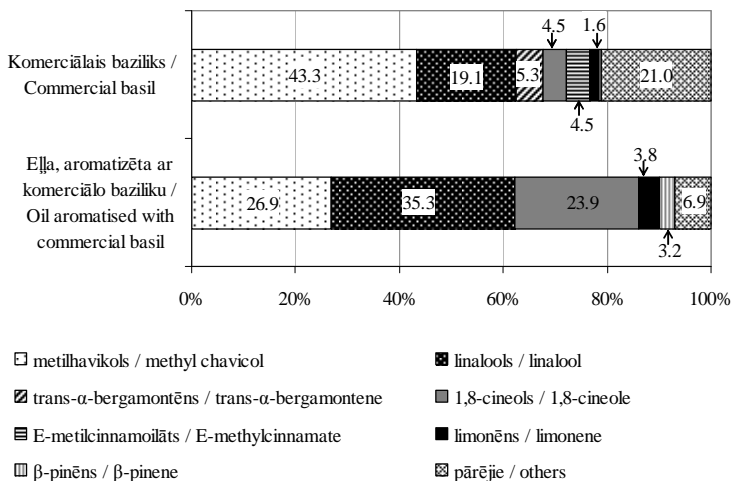
Baziliks

Pētījumā analizētajos bazilika paraugos kopumā tika identificēti 54 dažādi savienojumi, no tiem 10 ir atrodami visos trīs pētītajos bazilika paraugos. No tiem var izdalīt trīs nozīmīgākos pētītos bazilika paraugus raksturojošos savienojumus – oksidētos monoterpēnus: linaloolu un 1,8-cineolu, kā arī seskviterpēnu *trans*- α -bergamontēnu. Linalools un 1,8-cineols kā galvenie savienojumi bazilika sastāvā minēti vairāku autoru pētījumos (Lee *et al.*, 2005; Barbieri *et al.*, 2004; Marotti *et al.*, 1996).

Komerציālā bazilika tvaika fāzē tika identificēti 42 gaistošie savienojumi, no tiem nozīmīgākie savienojumi ir metilhavikols, linalools, *trans*- α -bergamontēns, 1,8-cineols, *E*-metilcinnamoilāts, tātad komerciālā bazilika tvaika fāzē nozīmīgākie ir aromātiskie savienojumi un oksidētie monoterpēni. Komerציālā bazilika un ar šo garšaugu aromatizētas eļļas tvaika fāzes sastāvs ir atšķirīgs, un līdz ar to ir svarīgi salīdzināt tvaiku fāzes gaistošo savienojumu procentuālo sastāvu virs garšauga un aromatizētas eļļas (8. att.).

Komerציālā bazilika nozīmīgākā gaistošā savienojuma metilhavikola (43%) procentuālais saturs eļļā ir būtiski mazāks (26,9%). Metilhavikols ir aromātiskais savienojums, kura gaistamība ir mazāka, ko parāda arī tā aiztures laiks 16,9 minūtes, bet oksidētā monoterpēna 1,8-cineola procentuālais saturs palielinās no 4,5% garšaugā līdz 33% aromatizētajā eļļā.

No komerciālā bazilika tvaika fāzē identificētiem savienojumiem, kuri tā sastāvā bija vairāk par 3%, eļļās tvaika fāzē netika identificēti seskviterpēns *trans*- α -bergamontēns un aromātiskais savienojums *E*-metilcinnamoilāts.



8. att. Komerčiālā bazilika un ar komerciālo baziliku aromatizētas eļļas gaistošo savienojumu procentuālais sastāvs
Fig. 8. Volatile compounds in commercial basil and oil aromatised with commercial basil

Zaļā bazilika tvaika fāzē tika identificēti 26 gaistošie savienojumi, no tiem nozīmīgākie ir linalools, 1,8-cineols, trans- α -bergamontēns, mircēns, mentons, pārējie 21 savienojumi tvaika fāzē ir mazāk par 2%. Linalools ir galvenais gaistošais savienojums zaļā bazilika tvaika fāzē. Tvaika fāzē virs eļļas ar zaļo baziliku tika identificēti 12 savienojumi, no tiem nozīmīgākie – linalools, 1,8-cineols, mircēns, mentons. Salīdzinot ar garšauga sastāvu, eļļas tvaika fāzē nebija iespējams identificēt nevienu aromātisko savienojumu un sekviterpēnu, izņemot β -bisabolēnu. Tvaika fāzē virs eļļas ar zaļo baziliku, tāpat kā virs garšauga, nozīmīgākais savienojums ir oksidētais monoterpēns linalools, attiecīgi 53,4% un 63,7%, taču eļļā samazinās tā procentuālais saturs. Otrs nozīmīgākais savienojums eļļā ir 1,8-cineols (21,9 %), kura procentuālais saturs būtiski pieaug, jo garšaugā tas bija tikai 9%. Arī mircēna procentuālais saturs eļļā ir lielāks kā garšaugā, attiecīgi, 7% un 3%.

Citronbazilika tvaika fāzē tika identificēti 21 gaistošie savienojumi, un galvenie gaistošie savienojumi ir linalools, nerols un geraniāls. Visi trīs savienojumi pieder oksidētiem monoterpēniem, un citronbazilika tvaika fāzē identificētos oksidētos monoterpēnus geraniolu un nerolu, kas ir 36,8% no kopējiem identificētiem savienojumiem, nebija iespējams identificēt citu baziliku sastāvā. Tvaika fāzē virs eļļas ar citronbaziliku tika identificēti 17 savienojumi, no tiem vairāk par 2% (no kopējā identificēto gaistošo savienojumu daudzuma) bija seši savienojumi. Citronbazilika un ar

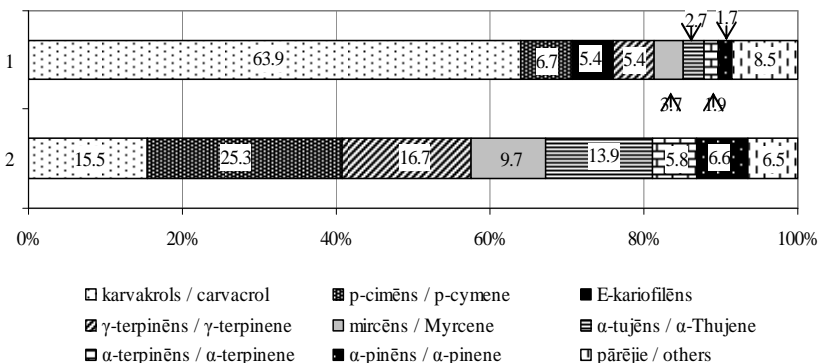
citronbaziliku aromatizētas eļļas tvaika fāzē trīs nozīmīgākie savienojumi ir vienādi, bet eļļas tvaiku fāzē to procentuālais saturs palielinās par 1,5–4%. Ar citronbaziliku aromatizētā eļļā būtiski samazinās citronbazilika ceturtā nozīmīgākā savienojuma – *E*-kariofillēna saturs, attiecīgi 10% un 1,7%, līdzīgu tendenci parāda arī *trans*- α -bergamontēns, un tā saturs tvaika fāzē virs garšauga un aromatizētās eļļas ir attiecīgi 4% un 0,8%.

Oregano

Pētījumā analizētajos oregano kopumā tika identificēti 42 dažādi savienojumi, no tiem 11 ir atrodami visos pētītajos paraugos. Šo savienojumu procentuālais sastāvs garšaugos būtiski atšķiras, piemēram, karvakrols ir nozīmīgākais savienojums grieķu oregano sastāvā (63%), savukārt raudenes un komerciālā oregano sastāvā attiecīgi tikai 1,7% un 0,4%. Līdzīgi arī *cis*-sabinēna hidrāts nozīmīgā daudzumā atrodams tikai raudenes sastāvā.

Komerציālā oregano sastāvā tika identificēti 39 gaistošie savienojumi, nozīmīgākie no tiem *p*-cimēns un *trans*-sabinēna hidrāts, kam seko linaloola acetāts, karvakrola metilēteris, terpin-4-ols. Eļļā ar komerciālo oregano nozīmīgākais savienojums ir *p*-cimēns, un tā procentuālais sastāvs eļļā ir par 14% augstāks kā garšauga tvaika fāzē. Par 7–9% samazinājies divu oregano sastāvā esošo savienojumu – oksidētā monoterpēna linaloola acetāta un aromātiskā savienojuma karvakrola metilētera saturs, kā arī eļļā nebija iespējams identificēt aromātisko savienojumu tīmolu.

Grieķu oregano tvaika fāzē tika identificēti 14 gaistošie savienojumi, nozīmīgākais no tiem karvakrols, un kā nākamos nozīmīgākos savienojumus var minēt *p*-cimēnu, *E*-kariofillēnu un γ -terpinēnu (9. att.).



1 - Grieķu oregano / Greek oregano, 2 - Eļļa aromatizēta ar grieķu oregano / oil aromatised with Greek oregano

9. att. Grieķu oregano un ar grieķu oregano aromatizētas eļļas gaistošo savienojumu procentuālais sastāvs

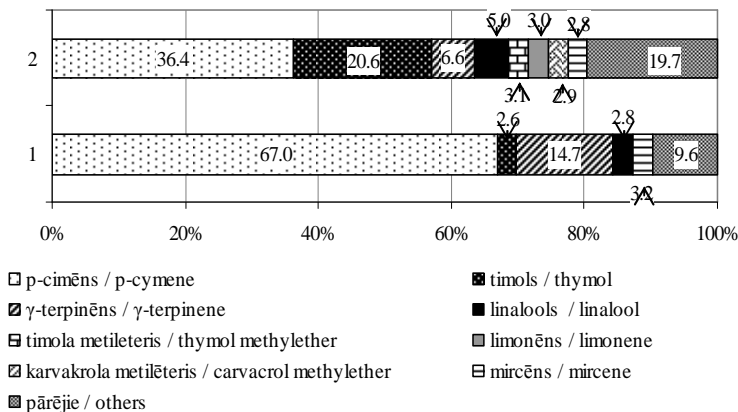
Fig. 9. Volatile compounds in Greek oregano and oil aromatised with Greek oregano

Augsts karvakrola un *p*-cimēna saturs ir atspoguļots pētījumos par oregano, kuri audzēti Grieķijas dienvidos (Kokkini *et al.*, 1997), Itālijā (Russo, 1998). Juliani (2002) pētījumos minēts oregano, kura sastāvā galvenie savienojumi ir karvakrols un γ -terpinēns. Trīs nozīmīgākie savienojumi gan grieķu oregano, gan aromatizētās eļļas tvaika fāzē bija karvakrols, *p*-cimēns un γ -terpinēns, taču būtiski ($p < 0,05$) atšķiras to procentuālais saturs. Aromātiskā savienojuma karvakrola saturs samazinājās no 58,7% garšaugā līdz 18,5% eļļā, turpretī monoterpēnu γ -terpinēna un *p*-cimēna sastāvs palielinājās divas reizes.

Timiāns

Pētījumā analizēto timiānu sastāvā kopumā tika identificēti 28 dažādi savienojumi, no tiem 16 ir atrodami abos pētītajos garšaugos. *p*-cimēns ir nozīmīgākais savienojums komerciālā timiāna tvaika fāzē, kā arī Latvijā audzēta timiāna sastāvā tas veido 7,2% no gaistošiem savienojumiem.

Komerciālā timiāna sastāvā identificēti 37 gaistošie savienojumi, no tiem divi galvenie ir *p*-cimēns un timols (10. att.). Iegūtie dati ir līdzīgi citu autoru iegūtiem rezultātiem, un analizētais timiāns pieder pie *p*-cimēna ķīmiskā tipa, kura sastāvā ir 32% *p*-cimēns, 21% timols, 9,5% γ -terpinēns, 2,8% linalools (Kaloustian, 2005).



1 – komerciālais timiāns

2 – ar komerciālo timiānu aromatizēta eļļa

10. att. Komerciālā timiāna un ar komerciālo timiānu aromatizētas eļļas gaistošo savienojumu procentuālais sastāvs

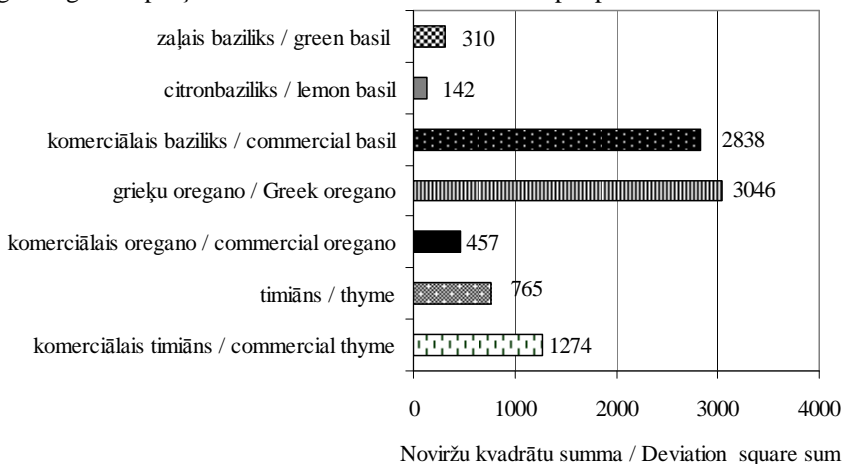
Fig. 10. Volatile compounds in commercial thyme and oil aromatised with commercial thyme

Eļļā ar komerciālo timiānu tika identificēti 11 no komerciālā timiāna sastāvā esošiem 35 savienojumiem. No savienojumiem, kuri garšaugā bija vairāk kā 2%, eļļā netika identificēti aromātiskie savienojumi timola un karvakrola metilēteris, kā arī seskviterpēns *E*-kariofillēns.

Latvijā audzēta timiāna tvaika fāzē tika identificēti 19 gaistošie savienojumi, no tiem nozīmīgākie ir skābekli saturošais monoterpēns linaloola acetāts, *cis*-sabinēna hidrāts un monoterpēns *p*-cimēns. Timiāna tvaika fāzes sastāvs būtiski atšķirās no eļļas tvaika fāzes, linaloola acetāta sastāvs bija par 21% mazāks, savukārt, par 10–13% lielāks ir monoterpēna mircēna un oksidētā monoterpēna *cis*-sabinēna hidrāta saturs.

Garšauga un aromatizētas eļļas tvaika fāzes salīdzinājums, izmantojot noviržu kvadrātu summu

Aromatizētas eļļas tvaika fāzē ir procentuāli augstāks monoterpēnu un oksidēto monoterpēnu saturs, savukārt, seskviterpēnu un aromātisko savienojumu ir maz, vai nav iespējams tos identificēt. Tam izskaidrojums varētu būt savienojumu īpašības, tā gaistamība, kā tas ekstrahējas eļļā, kā arī tvaika fāzes īpašības virs produktiem, t.i., kā savienojums izdalās no substrāta. Ja garšauga un ar garšaugu aromatizētas eļļas gaistošo savienojumu procentuālais sastāvs ir vienāds, tad noviržu kvadrātu summa ir 0, tātad jo mazāka noviržu kvadrātu summa, jo eļļas tvaika fāzes sastāvs līdzīgāks garšaugam. Aprēķinātās noviržu kvadrātu summas apkopotas 11. attēlā.



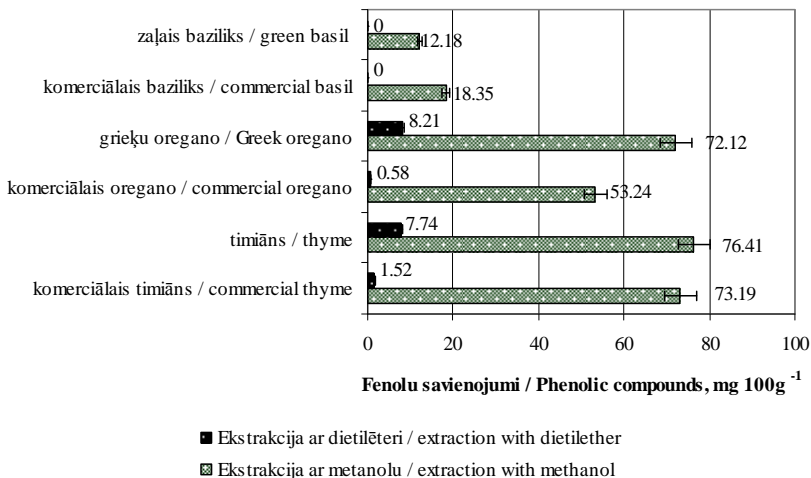
11. att. Garšaugu un aromatizētas eļļas gaistošo savienojumu salīdzinājums, izmantojot noviržu kvadrātu summu

Fig. 11. Comparison of volatile compounds of herbs and aromatised oils, using deviation square sum

Mazākā noviržu kvadrātu summa ir citronbazilikam, jo nozīmīgākie garšauga sastāvā esošie savienojumi oksidētie monoterpēni linalools, nerols un geraniols līdzīgās proporcijās ekstrahējas eļļā. Lielākās noviržu kvadrātu summas ir grieķu oregano un komerciālam bazilikam, jo nozīmīgākie savienojumi karvakrols un metilhavikols ir mazāk gaistoši, un to procentuālais saturs aromatizētās eļļās ir attiecīgi 63% un 41%. Rezultāti parāda, ka gatavojot eļļu no garšaugiem, kuros nozīmīgākie ir vieglāk gaistošie savienojumi, kā oksidētie monoterpēni, aromatizētu eļļu sastāvs ir tuvāks garšauga sastāvam.

4. Fenolu savienojumi garšaugos un aromatizētās eļļās

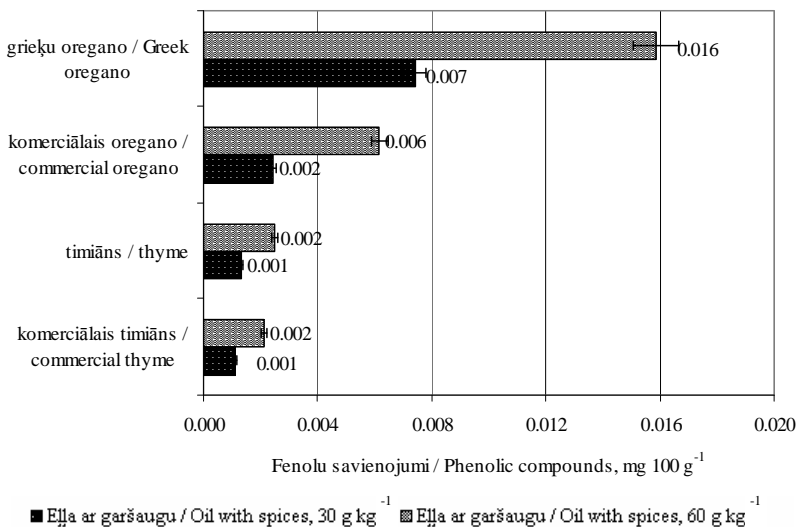
Tā kā augu fenolu savienojumi ir vieni no nozīmīgākajiem primāriem antioksidantiem, būtiski ir noteikt to daudzumu garšaugos un aromatizētajās eļļās. Kopējais fenolu savienojumu saturs garšaugos būtiski atšķirās ($p < 0,05$) (12. att.). Augstākais kopējo fenolu saturs bija komerciālā timiāna, Latvijā audzētā timiāna, kā arī grieķu oregano sastāvā. Vismazāk fenolu savienojumu bija abu pēfīto baziliku sastāvā. Garšaugu sastāvā esošie fenolu savienojumi pieder dažādām klasēm: fenolskābes un to atvasinājumi, flavonoīdi. Katrai klasei ir savas uzbūves īpatnības, un līdz ar to arī savienojumu ekstrakcijai izmanto atšķirīgas metodes un šķīdinātājus. Pētījumam izvēlētas divas ekstrakcijas metodes: 1) ekstrakcija ar metanolu, kura piemērota fenolu skābju ekstrakcijai, 2) ekstrakcija ar dietilēteri, kura piemērota flavonoīdu ekstrakcijai no garšaugiem. Būtiski atšķiras fenolu savienojumu saturs, ko iespējams identificēt garšaugos, izmantojot atšķirīgas ekstrakcijas metodes (12. att.).



12. att. Fenolu savienojumi garšaugu sastāvā
 Fig. 12. Phenolic compounds in herbs

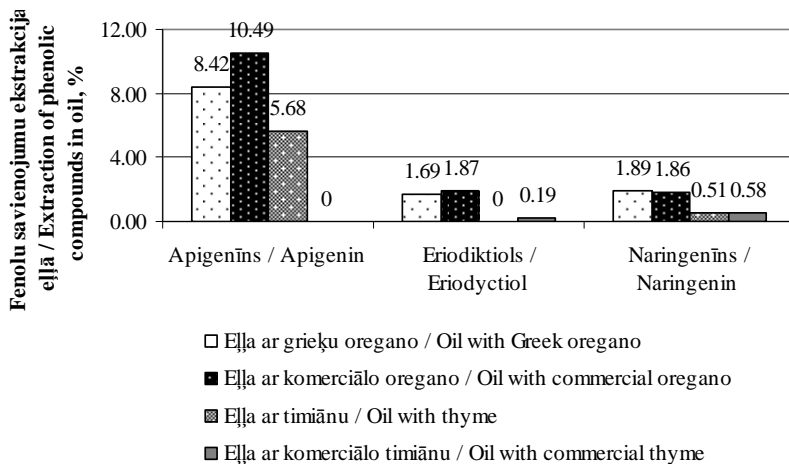
Vairāk fenolu savienojumu no garšaugiem ekstrahēti, izmantojot metanolu. Analizētajos garšaugos kopumā identificēti seši fenolu savienojumi, kuri pieder dažādām klasēm: fenolskābe (kafijskābe), fenolskābju atvasinājumi (kafijskābes dimērs – rozmarīnskābe), flavoni (apigenīns, luteolīns) un flavononi (eriodiktiols, naringenīns). Rozmarīnskābe ir nozīmīgākais fenolu savienojums visos pētītajos garšaugos, un tās saturs nosaka kopējo fenolu saturu garšaugos, jo pārējo savienojumu saturs proporcionāli ir ļoti mazs (līdz 4%). Rozmarīnskābe visvairāk ir timiāna, komerciālā timiāna un grieķu oregano sastāvā. No fenolskābēm pētīto garšaugu sastāvā ir kafijskābe, un tā identificēta tikai abos pētītos timiāna paraugos: Latvijā audzēta timiāna sastāvā 0,26 mg 100 g⁻¹, un komerciālā timiāna sastāvā 0,38 mg 100g⁻¹. Apigenīns tika identificēts oregano un timiāna sastāvā, un augstāks apigenīna saturs ir Latvijā audzēta timiāna un grieķu oregano sastāvā. Otrs flavons – luteolīns pētītajos garšaugos bija mazākos daudzumos, salīdzinot ar apigenīnu, un visvairāk luteolīna ir komerciālā timiāna sastāvā. Arī vairāk kā 40 analizētos Maķedonijā audzētos timiāna paraugos apigenīns un luteolīns bija gandrīz visos (Marin *et al.*, 2003). Augstākais eriodiktiola saturs konstatēts grieķu oregano sastāvā. Naringenīns tika identificēts oregano un timiāna sastāvā, un augstākais tā saturs ir grieķu oregano un komerciālā timiāna sastāvā.

Aromatizētas eļļas sastāvā bija iespējams identificēt piecus fenolu savienojumus, un visaugstākais fenolu savienojumu saturs ir eļļā ar grieķu oregano (13. att.).



13. att. Kopējie identificētie fenolu savienojumi aromatizētajās eļļās
Fig. 13. Total phenolic compounds in aromatised oils

Eļļās ar zaļo un komerciālo baziliku nebija iespējams identificēt fenolu savienojumus. Aromatizētas eļļas gatavošanā izmantots atšķirīgs garšaugu saturs – 30 g kg⁻¹ un 60 g kg⁻¹. Eļļā, kuras gatavošanā izmantotais garšaugu saturs ir 60 g kg⁻¹, fenolu savienojumu saturs ir 1,9–2,1 reizes lielāks kā eļļā ar 30 g kg⁻¹ garšauga, tātad pētītajā apgabalā fenolu savienojumu saturs eļļā pieaug proporcionāli eļļai pievienotā garšauga daudzumam. Garšaugu sastāvā nozīmīgāko fenolu savienojumu – rozmarīnskābi bija iespējams identificēt eļļās, kuras aromatizētas ar oregano un Latvijā audzētu timiānu. Savienojumu bija iespējams identificēt tikai eļļas paraugos, kuru gatavošanā izmantots 60 g kg⁻¹ grieķu oregano un timiāna. Kafijskābe identificēta tikai eļļā ar Latvijā audzētu timiānu un tās saturs ir 0.0004 mg 100 g⁻¹ un 0.0006 mg 100 g⁻¹, attiecīgi eļļā ar 30 g kg⁻¹ un 60 g kg⁻¹ timiāna. No pētīto garšaugu sastāvā esošiem flavoniem eļļā netika identificēts luteolīns. Otrs flavons apigenīns tika identificēts ar grieķu oregano, komerciālo oregano un Latvijā audzētu timiānu aromatizētas eļļas sastāvā. Lai varētu salīdzināt fenolu savienojumu daudzumu garšaugos un eļļās, rēķināja katra savienojuma ekstrakciju eļļā E. Fenolu savienojumu ekstrakcija eļļā atšķiras gan starp identificētajiem savienojumiem, gan pētītajiem garšaugiem. Garšaugu sastāvā esošā nozīmīgākā fenolu savienojumu rozmarīnskābes ekstrakcija eļļā ir zema – 1,4%. Arī kafijskābes ekstrakcija eļļā ir tikai 0,8%. No flavonoīdiem, eļļā vislabāk ekstrahējās apigenīns (līdz 10,49%) (14. att.), naringenīna un eriodiktiola ekstrakcija bija būtiski mazāka (0,19–1,89%).



14. att. Fenolu savienojumu ekstrakcija eļļā
Fig. 14. Extraction of phenolic compounds in aromatised oil

To varētu izskaidrot ar atsevišķu fenolu savienojumu, tai skaitā apigenīna, atrašanos augu lapu ārējos slāņos (virsmas flavonoīdi), un līdz ar to tie vieglāk arī ekstrahējas eļļā. Lielākā daļa flavonoīdu darbojas kā antioksidanti, bet literatūras dati parāda, ka narinegīns var darboties arī kā prooksidants (Miranda, 2000). Tā kā narinegīna ekstrakcija eļļā ir zema, tas pozitīvi ietekmē eļļas kvalitāti un netiek veicināta tās bojāšanās.

5. Augu eļļu kvalitātes rādītāju izmaiņas aromatizētās eļļās

Aromatizētas eļļas tika gatavotas, sildot eļļu 70 °C temperatūrā 20 minūtes. Aromatizēšanai izmantoti trīs garšaugi – komerciālais baziliks, komerciālais oregano, komerciālais timiāns. Kvalitātes rādītāji noteikti eļļām, kuru aromatizēšanai izmantots atšķirīgs garšaugu daudzums – 30 g kg⁻¹ un 60 g kg⁻¹. Uzsākot pētījumu, kvalitātes rādītājus noteica nesildītai un sildītai rapšu eļļai. Aromatizētas eļļas tika analizētas pēc mēnesi ilgas uzglabāšanas.

Taukskābju sastāvs. Augu eļļu īpašības būtiski ietekmē taukskābju sastāvs, tādēļ pētīts to sastāvs rapšu eļļā, kā arī aromatizētajās eļļās. Pētījumiem izmantotā rafinētā rapšu eļļa satur 12 dažādas taukskābes, nozīmīgākās no tām ir oleīnskābe, linolskābe un linolēnskābe. Aromatizētu eļļu taukskābju saturs pēc mēnesi ilgas uzglabāšanas būtiski neatšķīrās no kontroles un mēnesi uzglabātas sildītas un nesildītas eļļas, tādēļ tālākos pētījumos taukskābes nav analizētas.

Skābes skaitlis. Gan nesildītā, gan sildītā eļļā, kura uzglabāta mēnesi, salīdzinot ar kontroli, skābes skaitlis ir būtiski ($p < 0,05$) palielinājies. Savukārt, sildītā un nesildītā eļļas paraugā tas būtiski neatšķiras. Būtiski skābes skaitli ietekmēja eļļu aromatizēšanā izmantotais garšaugš un tā daudzums eļļā. Eļļās, kuras aromatizētas ar baziliku un oregano, skābes skaitlis būtiski neatšķiras no sildītas un nesildītas nearomatizētas eļļas, savukārt, ar timiānu aromatizētā eļļā skābes skaitlis ir augstāks kā nearomatizētos eļļas paraugos.

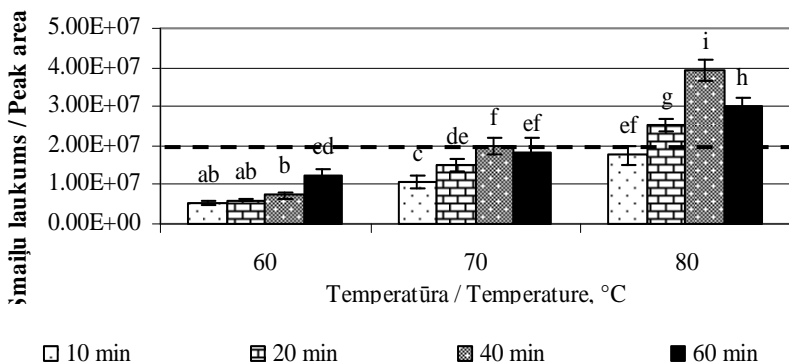
Peroksīdskaitlis. Peroksīdskaitlis pieauga uzglabāšanas laikā, taču sildīšana tā izmaiņas neietekmēja. Baziliks veicina peroksīdu veidošanos, taču garšauga daudzums eļļā būtiski neietekmēja peroksīdskaitli. Arī iepriekšējie pētījumi parādīja, ka baziliki darbojas kā prooksidanti. Iegūtie rezultāti neatbilst literatūrā dotiem datiem, jo pētījumi liecina, ka tā sastāvā esošie savienojumi ir spēcīgi antioksidanti. Šo pretrunu varētu izskaidrot citu autoru pētījumi, ka pastāv spēcīgs sinerģisms un antigonisms starp savienojumiem, kas ietekmē antioksidanta īpašības. Peroksīdskaitlis būtiski neatšķiras ar oregano aromatizētai eļļai un nearomatizētas eļļas paraugiem. Timiāns ietekmē eļļas oksidēšanos, un tas atkarīgs no pievienotā garšauga daudzuma. Ja timiāna daudzums eļļā ir 30 g kg⁻¹, peroksīdskaitlis ir mazāks kā nearomatizētas eļļas paraugiem, savukārt, ja timiāna daudzums eļļā ir 60 g kg⁻¹, peroksīdskaitlis tajā ir augstāks kā nearomatizētā eļļā.

6. Aromatizēšanas apstākļu ietekme uz aromatizētu eļļu kvalitātes rādītājiem

Aromatizēšanas apstākļu ietekme uz aromatizētas eļļas sastāvu pētīta, izmantojot divus garšaugus – komerciālo baziliku un grieķu oregano. Abu garšaugu gaistošo savienojumu sastāvs atšķiras, un tajos nozīmīgos daudzumos ir savienojumi no dažādām klasēm – terpēni, aromātiskie savienojumi.

Eļļas ar komerciālo baziliku aromatizēšanas apstākļu analīze

Pētījumā analizēti aromatizētas eļļas paraugi, kuri gatavoti gan izmantojot sildīšanu, gan izturot eļļu ar garšaugiem istabas temperatūrā. Nesildītos eļļas paraugos gaistošo savienojumu ekstrakcija eļļā notiek lēni. Pastāv būtiska lineāra pozitīva korelācija ($r=0,97$) starp eļļas izturēšanas laiku un smaiļu laukumiem. Pētītajā laika periodā līdz 28 dienām nav sasniegts gaistošo savienojumu līdzsvars eļļā, jo gaistošo savienojumu saturs, palielinot izturēšanas laiku, pieaug. Sildīšanas temperatūra un ilgums būtiski ($p<0,05$) ietekmē aromatizētu eļļu gaistošo savienojumu daudzumu (15. att.). Salīdzinot smaiļu laukumus dažādās temperatūras aromatizētos eļļas paraugos, redzams, ka būtiski neatšķiras 60 °C temperatūrā 60 minūtes un 70 °C 10 minūtes sildītu eļļu gaistošo savienojumu smaiļu laukums.



— — raksturo gaistošo savienojumu smaiļu laukumu nesildītā eļļā pēc 28 dienām / characterize volatile compounds in unheated oil after 28 day

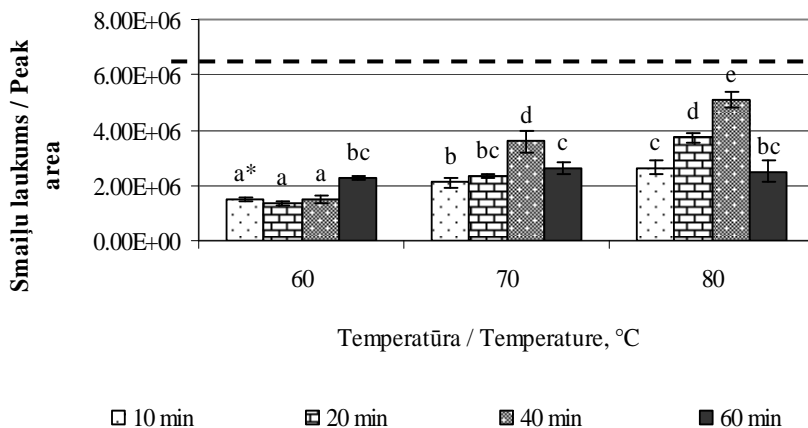
* - vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja $p>0,05$ / values, marked with the same letter do not differ significantly $p>0,05$.

15. att. Kopējie gaistošo savienojumu smaiļu laukumi sildītā eļļā ar baziliku

Fig. 15. Total peak areas of volatile compounds in heated oil with basil

Līdzīgu tendenci var novērot, salīdzinot 70 °C temperatūrā 60 minūtes un 80 °C 10 minūtes sildītu eļļu. Tātad vienādu gaistošo savienojumu daudzumu iespējams iegūt, aromatizējot zemākā temperatūrā ilgāku laiku vai augstākā temperatūrā īsāku laiku. Nesildītos eļļas paraugos gaistošo savienojumu smaīļu laukums pieauga lēni, un visos sildītos aromatizētu eļļu paraugos gaistošo savienojumu smaīļu laukumi bija lielāki kā pēc 24 stundām analizētā nesildītā aromatizētas eļļas paraugā. Tātad sildīšana veicina gaistošo savienojumu daudzumu eļļas tvaika fāzē, un aromatizētas eļļas iespējas iegūt īsākā laika periodā. Būtiski neatšķirās ($p < 0,05$) nesildītas aromatizētas eļļas gaistošo savienojumu saturs pēc septiņu dienu izturēšanas un 60 °C temperatūrā 10 un 20 minūtes sildītu eļļu gaistošo savienojumu smaīļu laukumi. Kopējais identificēto gaistošo savienojumu smaīļu laukums eļļā, kura sildīta 40 minūtes 80 °C bija divas reizes lielāks kā nesildītā eļļas paraugā pēc 28 dienām. Rezultāti parāda, kā mainot aromatizēšanas apstākļus var samazināt eļļas aromatizēšanas ilgumu, un pēc 48 stundām var panākt tādu pašu aromātvielu daudzumu, kā izturot istabas temperatūrā četras nedēļas. Gaistošo savienojumu ekstrakciju eļļā var arī veicināt eļļas viskozitātes samazināšanās sildīšanas procesā. Rezultāti parāda, ka rafinētai eļļai 18 °C temperatūrā viskozitāte ir 72 mPa s, bet eļļā, kura uzsildīta līdz 90 °C tā ir 9,6 mPa s, tātad tā samazinās vairāk kā septiņas reizes. Aromatizēšanas apstākļi būtiski ($p < 0,05$) ietekmē arī atsevišķu savienojumu ekstrakciju eļļā. Sildītas un nesildītas aromatizētas eļļas sastāvs būtiski atšķiras. Visos sildītas un nesildītas eļļas paraugos bija iespējams identificēt trīs nozīmīgākos savienojumus – linaloolu, 1,8-cineolu, metilhavikolu, tādēļ arī šie savienojumi analizēti sīkāk. Garšauga sastāvā šie trīs savienojumi sastāda vairāk kā 65% no visiem gaistošiem savienojumiem. Istabas temperatūrā linaloola un metilhavikola ekstrakcija eļļā notiek pakāpeniski, un pastāv pozitīva lineāra korelācija starp smailes laukuma pieaugumu un izturēšanas ilgumu (abiem savienojumiem $R=0,96$). Savukārt, 1,8-cineols sasniedz maksimālo smailes laukumu jau pēc 14 dienām, un pēc tam būtiski nemainās ($p < 0,05$). Tātad ilgāk izturētā nesildītā aromatizētā eļļā ir augstāks linaloola un metilhavikola procentuālais sastāvs, bet samazinās 1,8-cineola saturs. Linalola smaīļu laukumu izmaiņu tendences atkarībā no aromatizēšanas apstākļiem ir līdzīgas, kā novērots kopējiem smaīļu laukumiem. 1,8-cineola smaīļu laukums nesildītā eļļā pēc 28 dienām bija tikai 27% no 80 °C 40 minūtes aromatizētas eļļas 1,8-cineola smaīļu laukuma. Būtiski neatšķiras 1,8-cineola smaīļu laukumi eļļā, kura 60 °C temperatūrā 60 minūtes un 28 dienas izturētā nesildītā eļļā. 60 °C temperatūrā būtisks metilhavikola satura pieaugums tvaika fāzē bija tikai eļļā, kura sildīta 60 minūtes. 70 un 80 °C temperatūrā metilhavikola smaīļu laukuma pieaugums ir vērojams sildot eļļu līdz 40 minūtēm, un pēc tam tas sāk samazināties. Turpretī, linaloola un 1,8-cineola smaīļu laukums pēc sildīšanas 70 °C temperatūrā līdz 60 minūtēm nesamazinājās.

Līdzīgi kā 1,8-cineols, arī metilhavikola saturs pēc sildīšanas 80 °C temperatūrā 60 minūtes samazinājās divas reizes, salīdzinot ar 40 minūtes sildītu paraugu (16. att.). Nesildītā eļļā pēc 28 dienām metilhavikola smaiļu laukums bija 1,2 reizes lielāks kā 80 °C 40 minūtes sildītā eļļā. Metilhavikols ir grūtāk gaistošs savienojums, jo pieder aromātiskajiem savienojumiem, un tā ekstrakcijai nepieciešams ilgāks laiks, kā arī tas ir jutīgāks pret augstāku temperatūru un labāk ekstrahējas istabas temperatūrā.



— — — raksturo gaistošo savienojumu smaiļu laukumu nesildītā eļļā pēc 28 dienām / characterizes volatile compounds in unheated oil after 28 days

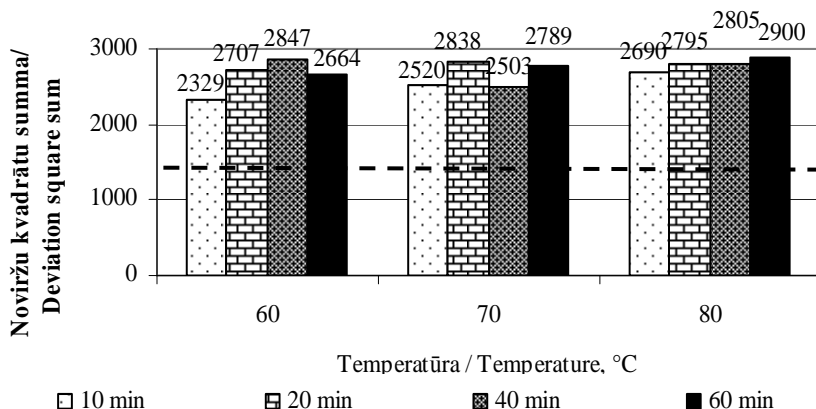
* – vērtības, kas atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, nav būtiski atšķirīgas savā starpā, ja $p > 0,05$ / values, marked with the same letter did not differ significantly $p > 0,05$.

16. att. Metilhavikola smaiļu laukumi sildītā eļļā ar baziliku
Fig. 16. Peak areas of methylchavicol in heated oil with basil

Gan kopējais gaistošo savienojumu smaiļu laukums, gan visu trīs nozīmīgāko savienojumu – linaloola, 1,8-cineola, metilhavikola smaiļu laukumi sasniedz maksimumu, ja eļļa tiek aromatizēta 80 °C temperatūrā 40 minūtes. Tātad šos aromatizēšanas apstākļus var uzskatīt par optimāliem eļļām ar zaļo baziliku, jo mērķis ir iegūt maksimāli daudz gaistošo savienojumu.

Metilhavikols ir nozīmīgākais savienojums komerciālā bazilika tvaika fāzē (43%), bet aromatizētās eļļās tā saturs ir būtiski mazāks. Nesildītā eļļā tā saturs ir 31%, turpretī 80 °C 40 minūtes sildītā eļļā tikai 13%. Nozīmīgākais procentuālais pieaugums bija 1,8-cineolam, kura saturs garšauga tvaika fāzē bija tikai 4,5%, savukārt, nesildītā eļļā tā saturs pēc 28 dienām un 80 °C 40 minūtes sildītā eļļā bija attiecīgi 19% un 34%. 1,8-cineola procentuālais pieaugums eļļā bija vairāk kā 7 reizes, salīdzinot ar garšauga tvaika fāzi.

Aromatizēšanas apstākļi ietekmē aromatizētas eļļas sastāvu, un tādēļ ir svarīgi noteikt, ar kuru metodi iegūta eļļa procentuālā sastāva ziņā ir līdzīgāka bazilika sastāvam. Bazilika un ar baziliku aromatizētas eļļas procentuālā sastāva salīdzināšanai rēķināja noviržu kvadrātu summu (17. att.). Aromatizēšanas laikā pieaug gaistošo savienojumu saturs un mainās arī to procentuālais saturs.



nesildīto noviržu kvadrātu summu nesildītai eļļai pēc 28 dienām / characterize deviation square sum in unheated oil after 28 day

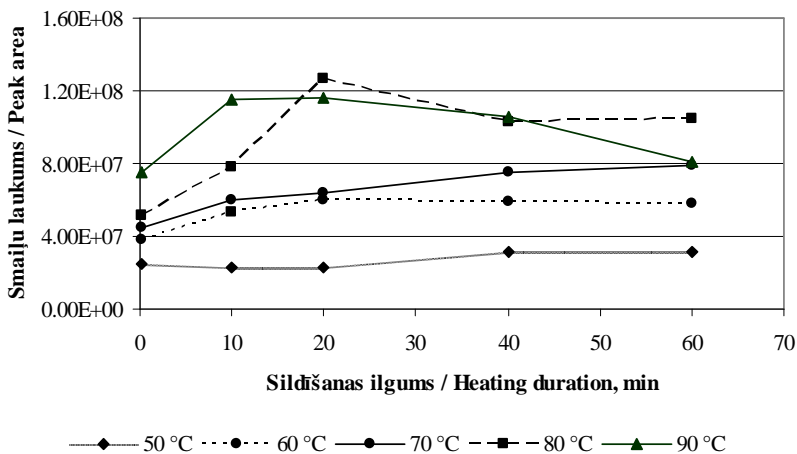
17. att. Noviržu kvadrātu summas sildītā eļļā ar baziliku
Fig. 17. Deviation square sum in heated oil with basil

Nesildīti aromatizētas eļļas paraugu gaistošo savienojumu sastāvs ir līdzīgāks garšauga gaistošo savienojumu sastāvam, kā paaugstinātā temperatūrā aromatizētas eļļas paraugi.

Eļļas ar grieķu oregano aromatizēšanas apstākļu analīze

Pētījumā analizēti ar oregano aromatizēti eļļu paraugi, kuri aromatizēti dažādos apstākļos. Aromatizēšanas apstākļu pētījumu rezultāti analizēti pēc kvantitatīvā un kvalitatīvā sastāva, t.i., smaiļu laukuma jeb koncentrācijas tvaika fāzē, un aromatizēto eļļu tvaika fāzes procentuālā sastāvā. Kopējā gaistošo savienojumu koncentrācija aromatizētas eļļas tvaiku fāzē mainās atkarībā no aromatizēšanas apstākļiem. Eļļu paraugos, kuri sildīti 50, 60 un 70 °C temperatūrā gaistošo savienojumu koncentrācija tvaika fāzē pieaug palielinot sildīšanas ilgumu. Savukārt, aromatizējot 80 un 90 °C temperatūrā pētītajā laika intervālā tiek sasniegts maksimums un sākas koncentrācijas samazināšanās. Paraugiem, kuri sildīti 80 °C temperatūrā maksimums tiek sasniegts pēc 20 minūšu sildīšanas, bet 90 °C temperatūrā aromatizētiem paraugiem jau pēc 10 minūtēm, bet būtiski ($p > 0,05$) nesamazinās arī pēc 20 minūšu sildīšanas. Salīdzinot visus paraugus, nevar izdalīt vienus optimālus apstākļus, lai iegūtu maksimālo gaistošo savienojumu koncentrāciju, jo būtiski

neatšķiras ($p > 0,05$) kopējais gaistošo savienojumu smaiļu laukumstrīs paraugos, kuri sildīti šādos apstākļos: 80 °C 20 minūtes, 90 °C 10 minūtes, 90 °C 20 minūtes (18. att.).



18. att. Kopējie gaistošo savienojumu smaiļu laukumi sildītā eļļā ar oregano

Fig. 18. Total volatile compounds in heated oil with oregano

Turpmākos pētījumos lielāka uzmanība pievērsta oregano sastāvā esošo nozīmīgāko savienojumu p -cimēna, α -tujēna, karvakrola un γ -terpinēna ekstrakcijai eļļā un tie sakārtoti secībā pēc to aiztures laikiem.

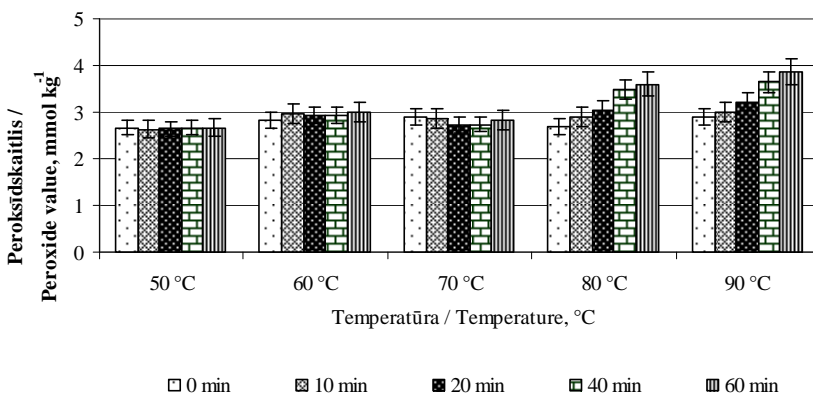
p -cimēna koncentrācija eļļu tvaika fāzē 50, 60 un 70 °C temperatūrā pieaug lēni un maksimums netiek sasniegts. 70 °C temperatūrā vērojams straujš p -cimēna koncentrācijas pieaugums, ja eļļa sildīta ilgāk par 40 minūtēm. 80 °C temperatūrā sildītai eļļai maksimālais p -cimēna smaiļu laukums tiek sasniegts sildot eļļu 20 minūtes, kam seko koncentrācijas samazināšanās. 90 °C temperatūrā sildītiem paraugiem maksimālā p -cimēna koncentrācija tiek sasniegta jau pēc 10 minūtēm, taču arī koncentrācijas samazināšanās notiek strauji. Eļļu paraugi, kuri sildīti 60 minūtes 90 °C un 70 °C temperatūrā, būtiski ($p > 0,05$) neatšķiras.

Monoterpēna γ -terpinēna maksimālais smaiļu laukums tiek sasniegts paraugu sildot 90 °C temperatūrā 10 minūtes, bet, ja paraugs tiek sildīts ilgāk, smaiļu laukums samazinās, un 60 minūtes sildītā paraugā γ -terpinēna smaiļu laukums ir 2 reizes mazāks.

Atšķirībā no α -tujēna un p -cimēna 80 °C temperatūrā sildītā eļļā γ -terpinēna maksimālā koncentrācija tiek sasniegta pēc 40 minūtēm.

Nozīmīgākais savienojums oregano sastāvā ir aromātiskais savienojums karvakrols, un tā ekstrakcija eļļā ietekmē kopējo gaistošo savienojumu koncentrāciju eļļas tvaiku fāzē. Eļļu sildot 50, 60 un 70 °C temperatūrā karvakrola koncentrācija tvaika fāzē, palielinot sildīšanas ilgumu, pieaug lēni. Savukārt, 80 un 90 °C temperatūrā karvakrola koncentrācija strauji pieaug, un maksimums abās temperatūrās tiek sasniegts, ja paraugs tiek sildīts 20 minūtes. Eļļas paraugu sildot 90 °C temperatūrā vērojams straujāks karvakrola koncentrācijas pieaugums, kā 80 °C temperatūrā sildītos paraugos, taču pēc maksimuma sasniegšanas 90 °C temperatūrā vērojams arī straujāks karvakrola koncentrācijas samazinājums.

Optimālo eļļas aromatizēšanas parametru noteikšanai papildus pētīta eļļu oksidējamība (19. att.).



19.att. Eļļu ar grieķu oregano oksidējamība
Fig. 19. Oxidation ability of oil with Greek oregano

Perokīdskaitli būtiski ietekmēja eļļas sildīšanas temperatūra. 50, 60, un 70 °C temperatūrā sildītos eļļas paraugos perokīdskaitlis būtiski neatšķīrās, pieaugums bija vērojams tikai eļļas paraugos, kuri sildīti 80 un 90 °C temperatūrā ilgāk par 20 minūtēm. Tā kā perokīdskaitlis būtiski neatšķiras 80 °C 20 minūtes, 90 °C 10 minūtes, un 90 °C 20 minūtes sildītos paraugos, tad eļļu aromatizēšanai var izvēlēties jebkuru no šiem apstākļiem.

SECINĀJUMI

1. Gaistošo savienojumu cietās fāzes mikroekstrācijai no garšaugiem un aromatizētām eļļām optimāla ir DVB/Car/PDMS šķiedra, mikroekstrācijas ilgums 60 minūtes, temperatūra – 30 °C.
2. Vislielākais gaistošo savienojumu saturs konstatēts komerciālā un grieķu oregano, kā arī komerciālā bazilika sastāvā. Pētīto garšaugu tvaika fāzē identificēti 76 savienojumi, kas pieder terpēniem, aromātiskiem savienojumiem, ketoniem un spirtiem. Pētīto garšaugu gaistošo savienojumu sastāvs ir atšķirīgs, tomēr var izdalīt katru garšaugu raksturojošos savienojumus:
 - bazilikā – linalools, 1,8-cineols, metilhavikols,
 - oregano – *p*-cimēns, karvakrols vai *cis* sabinēna hidrāts,
 - timiānā – *p*-cimēns, timols vai linaloola acetāts.
3. Gaistošo savienojumu sastāvs garšaugā un aromatizētā eļļā būtiski atšķiras. Aromatizētajās eļļās salīdzinot ar garšaugu ir procentuāli lielāks vieglāk gaistošo savienojumu (monoterpēni), bet mazāks seskviterpēnu un aromātisko savienojumu saturs. Ar garšaugiem aromatizētu eļļu sastāvā nozīmīgākie savienojumi ir:
 - eļļā ar baziliku – linalools, 1,8-cineols,
 - eļļā ar oregano – *p*-cimēns,
 - eļļā ar timiānu – *p*-cimēns.
4. Pētītajos garšaugos identificēti 6 fenolu savienojumi, no tiem nozīmīgākais savienojums ir rozmarīnskābe. Kopējais identificēto fenolu savienojumu saturs:
 - bazilikā – 12–18 mg 100 g⁻¹,
 - oregano – 53–72 mg 100 g⁻¹,
 - timiānā – 73–76 mg 100 g⁻¹.
5. Fenolu savienojumu ekstrācija eļļā bija zema, tikai 0,1–10% no garšaugos esošiem fenolu savienojumiem ekstrahējās eļļā, un tā katram savienojumam atšķiras:
 - visvairāk ekstrahējas apigenīns – līdz 10%,
 - viszemākā ekstrācija bija rozmarīnskābei – līdz 0,5%.
6. Taukskābju sastāvs aromatizētās eļļās būtiski neizmainās, bet eļļu aromatizēšana ietekmē eļļas kvalitātes rādītājus skābes skaitli un peroksīdskaitli:
 - augstāks skābes skaitlis, kā nearomatizētā eļļā, ir ar komerciālo timiānu aromatizētā eļļā,
 - peroksīdu veidošanos kavē timiāns, ja tā saturs eļļā ir 30 g kg⁻¹, bet veicina komerciālais baziliks.

7. Eļļu aromatizējot dažādos apstākļos, tās sastāvs būtiski atšķiras. Istabas temperatūrā aromatizētā eļļā gaistošo savienojumu sastāvs ir tuvāks garšauga sastāvam, taču paaugstinātā temperatūrā (50–90 °C) aromatizētās eļļās ir procentuāli augstāks monoterpēnu saturs.
8. Eļļas aromatizējot paaugstinātā temperatūrā, maksimālais gaistošo savienojumu saturs tiek sasniegts :
 - eļļā ar komerciālo baziliku – 80 °C temperatūrā 40 minūtes,
 - eļļā ar grieķu oregano – 80 °C temperatūrā 20 min un 90 °C temperatūrā 10–20 minūtes.Aromatizējot eļļu ar garšaugiem 18±2 °C temperatūrā maksimālais smaiļu laukums netiek sasniegts pēc 28 dienu aromatizēšanas.

IETEIKUMI RAŽOTĀJIEM

1. Aromatizēšanai labāk izvēlēties garšaugus, kuru aromātu veido vieglāk gaistošie savienojumi, jo tad var iegūt aromātiskāku eļļu.
2. Aromatizējot eļļu istabas temperatūrā iespējams iegūt eļļu, kuras aromāts ir līdzīgs izmantotā garšauga aromātam.
3. Ātrai eļļu aromatizēšanai var izmantot garšaugu izturēšanu eļļā paaugstinātā temperatūrā. Pēfītājiem garšaugiem optimālie aromatizēšanas apstākļi ir:
 - komerciālam bazilikam – 80 °C temperatūrā 40 minūtes,
 - grieķu oregano - 80 °C temperatūrā 20 minūtes vai 90 °C temperatūrā 10 minūtes.
4. Augstvērtīgāku eļļu var iegūt, aromatizējot to ar grieķu oregano, jo šāds produkts satur visvairāk flavonoīdu, kuri ir dabīgie antioksidanti.
5. Eļļu aromatizēšanai ieteicams izvēlēties rafinētu eļļu, jo tā lēnāk oksidējas un produkts ilgāk saglabā kvalitāti.
6. Ekstrahētie garšaugi, kuri veidojas kā blakusprodukti eļļu aromatizēšanā ir vērtīga izejviela aromatizētas majonēzes gatavošanā.

TOPICALITY OF THE RESEARCH

Herbs are used all over the world to improve the taste of food products. In Europe, this is particularly common in Mediterranean countries, where they may be utilised in the fresh, dried or frozen state. Use of herbs in Latvia has become popular recently and commercial production of basil, thyme, oregano, savory and other herbs is increasing.

Herbs are important in the diet and they are used to improve the taste and aroma of food products through the volatile oils they contain. In addition, they have antioxidant (Yanishlieva *et al.*, 2006; Tomaino, 2005; Lee, 2005) and antimicrobial (Souza, 2007; Baydar *et al.*, 2004) qualities, and they improve health (Sahin, 2004), arouse the appetite and promote the production of digestive juices. The most important compounds which insure these characteristics are the phenolic compounds, terpenoids and derivatives of fatty acids and amino acids. Some of the biologically active compounds in herbs are oil-soluble, therefore one of the uses of herbs is to aromatise edible oils. In developed countries, oils with a higher food value are being demanded, as, for example, oils with a lower trans fat content, higher omega-3 fatty acid content, and a higher content of oil-soluble vitamins (Murphy, 2006).

Consumers want food products which do not contain synthetic additives. For this reason, opportunities are being sought to utilise the antioxidative qualities of plants. In recent years, many studies have been done regarding the characteristics of natural herbs, possibilities for their use, extracts which can be obtained from them and the characteristics of those extracts. These studies show that natural herbs have higher levels of antioxidative activity compared with their extracts in different kinds of solvents (Proestos, 2006). The composition of herbs with their volatile, aroma producing and phenol-containing compounds is broadly described in the literature, but there is practically no data about the extraction of these compounds from the herb to oil. Oil is also used to extract antioxidative compounds from herbs (Pokorny *et al.*, 2001).

The number of oil manufacturers producing natural cold pressed rapeseed oil for consumption in food is increasing in Europe. The refined food oil market is stable with some growth, but the demand for cold pressed rapeseed oil is growing rapidly, especially in Germany (Matthaus *et al.*, 2006). Aromatising oil with herbs, the aroma producing and biologically active compounds are extracted into the oil, thus raising its food value.

The **goal** of this thesis is to research the suitability of Latvian-grown basil, oregano and thyme for the production of aromatised oil.

To reach the goal, the **tasks** which have been set forward are as follows:

1. optimization of the parameters of the solid phase microextraction method of determining the presence of volatile compounds in herbs and aromatised oil,
2. comparison of the composition and content of volatile compounds in commercially available herbs and herbs grown in Latvia, and evaluation of their suitability for oil aromatisation,
3. comparison of volatile compound content in herbs and aromatised oil,
4. determination of phenolic compound levels in herbs and their extraction level in aromatised oils,
5. analysis of the effect of aromatisation conditions on quality indicators of rapeseed oil – peroxide value, acid value, fatty acid composition,
6. study the effect of aromatisation parameters on the composition of volatile compounds and their content in oil.

The **novelty and scientific significance of the work**

For the first time in Latvia, the following has been investigated:

1. the volatile and phenolic compound composition of Latvian-grown basil, oregano and thyme,
2. the extraction of volatile aroma compounds from herbs into oil, and the conditions necessary for aromatisation,
3. the composition of phenolic compounds found in oils aromatised with Latvian-grown herbs and with herbs offered in the commercial system.

The theme of this scientific work and its development is connected to the national research program in agrobiotechnology, “Innovative technologies for the production of high quality, safe and healthy food products from genetically, physiologically and biochemically varied plant and animal raw materials” and one of its projects, “New manufacturing technologies for food products rich in functional ingredients.”

The **significance of the work to the national economy** – the content of oil aromatised with different herbs is studied, as well as the effect of the conditions of the aromatisation process on the composition of the aromatic substances. The aromatisation method of using increased temperatures is being experimentally tested at the company SIA “Iecavnieks”.

THE SCIENTIFIC WORK APPROBATION

The results have been reported in scientific and research conferences of LLU (Latvia University of Agriculture), in international conferences in Lithuania, the Czech Republic, Greece, France, Turkey, Spain. The work results have been reflected in 7 scientific publications in English, and 7 of

them - in issues approved by the Latvia Scientific Council (the list of publications and attended conferences see on pages 5-7).

MATERIALS AND METHODS

Time and place of research. The research was carried out from September 2004 to August 2007 at the following locations:

- Latvia University of Agriculture, Faculty of Food Technology (determination of acid and peroxide values, viscosity);
- Gent University, Belgium (determination of volatile and phenolic compounds in herbs and oil);
- PVD National Diagnostic Centre (determination of content of fatty acids in oil);
- exhibition „Riga Food 2003” and „Riga Food 2004” (sensory analysis).

Materials used in research

Seven herbs were obtained from the experimental fields of the Latvia University of Agriculture, Faculty of Agriculture, and three were obtained in the commercial system. Before using herbs for oil aromatisation, they were chopped (particle size 0.5–2 mm). Both refined and unrefined rapeseed oil was used for aromatisation.

Technology for preparation of aromatised oil and mayonnaise

Aromatised oil was prepared by two methods (Fig. 1):

1. Holding the herbs in oil at a temperature of 18 ± 2 °C. The bottle of oil was sealed with a plastic cap and elastic tape (Parafilm). The sample was held at 18 ± 2 °C 1–28 days. After the holding period, the oil samples were filtered through a 0.3 mm filter and analyzed.
2. Holding the herbs in oil at increased temperatures. The bottle of oil and herbs was capped and hermetically sealed and placed in a tank of water, which was held at a temperature of 50, 60, 70, 80 and 90 °C, heating it until the oil reached the desired temperature.

One possibility for using aromatised oil is in the preparation of mayonnaise. Two mayonnaise types were prepared based on technology already worked out (SIA “Balttur-R”): mayonnaise with aromatised oil, mayonnaise with herb residue.

Structure of research

Herbs, rapeseed oil, rapeseed oil aromatised with herbs and mayonnaise were analyzed in the research work, and it can be divided into 5 sections:

1. Extraction methods for volatile compounds (solid phase microextraction) and determination of optimal parameters. In the determination of optimal parameters, the following was tested:
 - fibres for microextraction with three different types of coating (PA, PDMS, DVB/CAR/PDMS),

- duration of extraction from 10 to 120 minutes,
 - extraction temperature from 20–60 °C.
2. Selection of herbs for aromatisation of oil, based on analysis of volatile compounds and sensory analysis.
 3. Selection of oil, based on peroxide level and sensory analysis.
 4. Investigation of quality of aromatised oil (Fig. 2).
 5. The effects of aromatisation conditions on the composition of volatile compounds in the oil, its oxidization and viscosity (Fig. 3).

The effects of aromatisation conditions on the oxidization of oil were investigated using oregano in the aromatised oil samples. Viscosity was determined for unaromatised oil, depending on temperature.

The indicators determined and methods used in the investigation

The indicators analysed for herbs, oils and mayonnaise are set forth in Table 1.

Determination of volatile compounds. Solid phase microextraction was used for isolation and gas chromatography with a mass spectrometer for determination of volatile compounds.

Determination of phenolic compounds. Phenolic compounds were extracted from herbs using two solvents: methanol and diethyl ether. From oils they were extracted using solid phase extraction methods. Phenolic compounds were determined using a reversed phase liquid chromatograph Agilent 100 LC-MSD system.

Determination of viscosity. The viscosity of refined oil was determined with a programmable DV-III Ultra Rheometer BROOKFIELD. The data obtained in the investigation represents viscosity (mPa s) depending on temperature (°C). The initial temperature is 18 ± 0.5 °C. The viscosity of the oil samples was determined at 18, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 and 90 °C temperatures. The data was processed using a Rheocalc software.

Sensory evaluation methods. The sensory evaluation of aromatised oils and mayonnaise was carried out at the international food exhibitions „Riga Food 2003” and „Riga Food 2004”, in order to determine the opinions of consumers regarding the products offered.

Peroxide values were determined by the standard method LVS EN ISO 3960:2005.

Oxidizability is characterized by the peroxide value, which was determined after holding the sample 48 hours at a temperature of 60 °C (Matiseks, 1998).

Acid value was determined by standard method LVS EN ISO 660:2001.

Fatty acid composition was determined by standard method LVS EN ISO 5590:2001.

Mathematical processing of data. The data was processed using mathematical statistics methods. The following indicators were calculated for the results obtained: average, standard deviation. One-factor and two-factor

dispersion analysis and correlation were used for data interpretation, using Microsoft Excel for Windows 7.0 and the SPSS 11.0 program package (Arhipova, 2003).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Selection of optimal solid phase microextraction parameters

The most significant parameters of solid phase microextraction are coating of the microextraction fibres, duration of the extraction and temperature. Choosing optimal parameters, the volatile, aroma producing compound extraction for thyme was tested. The suitability of microextraction fibres for the investigation is affected by the characteristics of the absorbent coating material. Three microextraction fibres with different coatings were tested (Polydimethyl Siloxane (PDMS) – non polar, polyacrilate (PA) – polar, combined fibre coating, composed of three materials: divinylbenzene (DVB) – non polar, polydimethyl siloxane (PDMS) – non polar, carboxine (CAR) – polar). The volatile compound value identified and its peak area were substantially ($p < 0.05$) affected by the coating material used on the fibres in the solid phase microextraction process (Fig. 4). The largest total peak area for the identified volatile compounds was established using DVB/CAR/PDMS fibre. The peak area of volatile compounds for PA and PDMS fibres are substantially ($p < 0.05$) the same. The results were based calculating extraction effectiveness, which is used for optimization of methods (Sanche-Silva *et al.*, 2005). The extraction effectiveness of PA and PDMS fibres, compared to DVB/CAR/PDMS, are, respectively, 47% and 47.7%. The largest peak areas for terpenes *p*-cymene, linalool, and γ -terpinene were obtained using DVB/CAR/PDMS fibres, but the largest peak area for the volatile compound thymol was obtained using PA fibre. There is literature substantiating the suitability of PA fibre for determining volatile compounds (Czerwinski *et al.*, 1996). Based on these results, DVB/CAR/PDMS fibre was selected for further research.

Solid phase microextraction is an equilibrium technology, therefore, the compounds are not completely separated from the sample, and the goal is to achieve equilibrium of the aroma producing compound among three phases: the sample, the headspace above the sample and the coating of the fibre. The temperature and duration of the extraction process affects the establishment of the state of equilibrium. To optimize the duration of extraction, the herb samples are extracted 10, 20, 30, 45, 60 and 120 minutes. The optimal duration of extraction was chosen at 60 minutes, because highly volatile compound content is not substantially reduced in that time, but it is possible to obtain higher content from volatile substances which are harder to vaporize, and therefore the results obtained better characterize the composition of the sample.

The third factor which affects extraction of volatile compounds is temperature. The content and amount of volatile compounds in thyme were

significantly affected by extraction temperature. The peak area of only one compound (thymol) increases if the temperature is raised above 30 °C, but the other compounds reach their maximum peak area (or a value which is not substantially different from maximum peak area), therefore 30 °C was the optimal extraction temperature chosen for further research.

2. Selection of herbs and oil for aromatisation

The quality of both herbs and oil is significant in oil aromatisation.

Selection of herbs for aromatisation.

The volatile compounds determine the taste and aroma of the product, therefore it is recommended to use herbs which contain more aroma producing compounds in oil aromatisation.

Basil. Samples of four different kinds of basil, grown at the Latvia University of Agriculture, Faculty of Agriculture experimental fields, were selected for the investigation (green basil, opal basil, lemon basil and Minette basil) and one sample of basil offered by the commercial system. The total identified volatile compound peak area of the samples differs significantly, the actual test value is $F=277 > F_{crit.}=3.48$. The largest peak area for volatile compounds identified in the headspace is in the headspace for commercial basil (Fig.5).

The peak areas of volatile compounds of Latvian grown basil identified in the headspace are two to three times smaller than that of commercial basil. These differences could be explained by the difference in growing conditions, because commercial basil is grown in dissimilar climates (Santa Maria herbs are imported from Asia, the south of Europe and other places). Drying conditions also significantly affect the content of the aroma producing compounds. The Latvian grown herbs are air-dried, which is conducive to the loss of the aroma producing substances, but commercial basil is likely dried using more modern technologies, thus preserving more of the volatile, aroma producing compounds. For further research, three types of basil have been selected—commercial, green and lemon basil. Commercial and green basil were selected because they contain the most volatile aroma producing compounds. Lemon basil was selected in the basis of the consumer sensory testing results.

Oregano. Three types of oregano were used in the investigation – oregano, which is grown in Latvia, Greek oregano and commercial oregano. The total identified volatile compound peak area of the various oregano species differed significantly ($p<0.05$). Two oregano species were selected for further research—commercial and Greek oregano, because they contain more aroma producing material.

Thyme. Two samples of thyme were analyzed in the investigation – thyme grown in Latvia, and commercial thyme. The total identified volatile compound

peak area for commercial thyme and Latvian grown thyme did not differ significantly ($p < 0.05$). Both thyme samples were used in the following research.

Selection of oil for aromatisation

Rapeseed oil was chosen for aromatisation because it is the most significant oil producing plant grown and processed in Latvia and it also has a high nutritional value. Both refined and unrefined oil is used for food, and in the selection process to determine the most appropriate oil, sensory evaluation was done and peroxide value changes were analyzed.

Peroxide value changes in refined and unrefined oil. Peroxide values for both refined and unrefined oil were established at the beginning of the investigation and during storage after 2 and 6 weeks and again after 9 months. It is necessary in further research to heat rapeseed oil, therefore the peroxide values were compared for both unheated and heated (20 minutes 80 °C) oil. During storage, peroxide values for both refined and unrefined oil increased and the correlation coefficient is respectively 0.98 and 0.99 (Fig. 6).

There is a rapid increase in peroxide values for unrefined oil, and after nine months it has increased 4 times, contrasted with refined oil, where it has increased only 1.7 times. The oxidization process during the research period occurs very slowly in refined rapeseed oil, and the increase in peroxide value is very small, which could be explained by the possible presence of antioxidants in the oil, as well as the effect of the refinement process, during which the oxidation facilitating compounds are separated out. Heating of the oil for 20 minutes at a temperature of 80 °C significantly ($p < 0.05$) affected the oxidation of unrefined oil, and peroxide formation in heated oil is more rapid, but the peroxide value of heated and unheated refined oil does not differ significantly. As peroxide formation was slower in both heated and unheated refined oil than in unrefined oil, refined oil is more suitable for aromatisation.

Sensory evaluation. At the food exhibition “Riga Food 2004, consumers were offered for evaluation two oil samples flavored with green basil, one with refined and the other with unrefined rapeseed oil. The results showed that there were no significant differences in consumer preference between the two samples. One possible use of aromatised oil is the preparation of mayonnaise. At the food exhibition “Riga Food 2004”, consumers were also offered for evaluation two samples of mayonnaise prepared with aromatised oil, and they evaluated significantly higher the sample prepared with refined oil. Based on these results, refined rapeseed oil was selected for aromatisation.

3. Volatile compounds in aromatised oils

Total volatile compounds were determined in oils in which the herb content was 30 g kg⁻¹. The total identified volatile compound peak area for the headspace of all analyzed oils is shown in Fig. 7.

The highest level of volatile aroma compounds is found in the headspace with oils aromatised with Greek oregano. Similarly, the highest level of total volatile compounds is found in the headspace above Greek oregano, compared to all other herbs used in the study. The lowest level of volatile compounds is found in oil aromatised with commercial basil in the headspace, but comparing the amount of volatile compounds for all the basil samples in the headspace, the highest level was found in the commercial basil samples. In order to compare the differences in concentration of volatile compounds in the oil and herb headspace, the relationship of the peak areas was calculated Ex, between the compound peak areas in the herb headspace and the compound peak areas with that herb in aromatised oil. If the peak area relationship Ex is 100%, then the headspace of the aromatised oil and the headspace of the herb have equal volatile compound content. The lowest amount of volatile aroma producing compounds from the herb headspace were identified in the headspace of oils containing commercial basil (9.6%), but the highest indicators were attained with thyme, lemon basil and green basil grown in Latvia, respectively, 40.1, 38.0 and 36.3%. The differences in peak area relationships for herbs are affected by various factors: physiology of the plant, that is, the location of the volatile oils in the plant's structure, as well as the characteristics of the compounds in the plant's composition.

Basil

Altogether, 54 different compounds were identified in the basil samples analyzed in the study. Of those, 10 are found in all three samples, and from these, the three most significant compounds which characterize the basil samples studied may be separated out – oxygenated monoterpenes: linalool and 1,8-cineole, as well as sesquiterpene *trans*- α -bergamotene. Linalool and 1,8-cineole can be found in studies by various authors as the major compounds in the composition of basil (Lee *et al.*, 2005; Barvieri *et al.*, 2004; Marotti *et al.*, 1996).

Fourty two volatile compounds were identified in the headspace of commercial basil. Of those, the most significant compounds are methyl chavicol, linalool, *trans*- α -bergamotene, 1,8-cineole and *E*-methylcinnamate; thus aromatic compounds and oxygenated monoterpenes are the most significant in the headspace of commercial basil. The composition of headspace of commercial basil and oil aromatised with it differs, therefore it is important to compare the percentage content of volatile compounds in headspace above the herbs and aromatised oils (Fig. 8). The difference in the percentage of methyl chavicol, the most significant volatile compound in commercial basil

and oil aromatised with it, is 43% and 26.9% respectively, much smaller in the oil. Methyl chavicol is an aromatic compound which is less volatile, shown by its retention time of 16.9 minutes, but the percentage of oxygenated monoterpene 1,8-cineole increased from 4.5% in the herb to 33% in the aromatised oil.

Of the compounds identified in commercial basil in the headspace at a level higher than 3%, sesquiterpene, *trans*- α -bergamotene and the aromatic compound *E*-methylcinnamate were not identified in the headspace.

Twenty-six volatile compounds were identified in the headspace of green basil. Of those, the most significant are linalool, 1,8-cineole, *trans*- α -bergamotene, mircene and menthon. The remaining 21 compounds in the headspace are less than 2%. Linalool is the main volatile compound in the headspace for green basil. Twelve compounds were identified in the headspace above oil with green basil. Of those, the most significant were linalool, 1,8-cineole, mircene and menthon. Compared to the composition of the herb, it was not possible to identify any aromatic compounds and sesquiterpene, except β -bisabolene. The most significant compound in the headspace of oil with green basil, as well as above the herb alone, is oxygenated monoterpene linalool, 53.5% and 63.7% respectively, nevertheless, its percentage is smaller in the oil. The other important compound in oil is 1,8-cineole (21.9%), whereas in the headspace of herb its percentage was only 9%. The percentage of mircene in oil is greater than in the herb alone, 7% and 3% respectively.

Twenty-one volatile compounds were identified in the headspace of lemon basil, and the major volatile compounds are linalool, neral and geranial. All three compounds belong to the oxygenated monoterpenes, and the oxygenated monoterpenes geraniol and neral, identified in the headspace of lemon basil, which constitute 36.8% of the total identified compounds, were not able to be identified in the composition of any other basil. Seventeen compounds were identified in the headspace of oil with lemon basil, of those more than 2% (of the total identified volatile compound amount) were made up by six compounds. In the headspace of lemon basil and oil aromatised with lemon basil, the percentage of the three most important compounds does not differ, but in the headspace with oil their percentage increases to 1.5–4% of the content. The fourth important compound found in the lemon basil – *E*-caryophyllene – decreases in oil with lemon basil, from 10% of the herb alone to 1.7% in the aromatised oil. A similar tendency is observed with *trans*- α -bergamotene, and its content in the headspace over the herb and aromatised oil is 4% and 0.8% respectively.

Oregano

Altogether, 42 different compounds were identified in the oregano samples analyzed in the study. Of those, 11 are found in all the oregano samples studied. The percentage of these compounds in the content of the herbs differs significantly, for example, carvacrol is the most important compound in Greek

oregano (63%), while it is only 1.7% and 0.4% of the content in oregano and commercial oregano, respectively. Similarly, *cis*-sabinene hydrate in significant quantity is found only in oregano.

Thirty-nine volatile compounds were identified in the content of commercial oregano, the most significant among them *p*-cymene and *trans*-sabinene hydrate, followed by linalool acetate, carvacrol methyl ether and terpen-4-ol. In oil with commercial oregano, the most significant compound is *p*-cymene, and the percentage of its content in oil is 14% higher than in the headspace of the herb alone. Two compounds found in the content of oregano – oxygenated monoterpene linalool acetate and aromatic compound carvacrol methyl ether – decreased by 7–9%, and in the oil, it was not possible to identify the aromatic compound thymol.

Fourteen volatile compounds were identified in the headspace of Greek oregano, the most significant being carvacrol and somewhat less significant *p*-cymene, *E*-caryophyllene and γ -terpinene (Fig. 9).

A high level of carvacrol and *p*-cymene is found in studies of oregano grown in the south of Greece (Kokkini *et al.*, 1997), Italy (Russo, 1998). In the studies of Juliani (2002), oregano is noted, the main compounds of which are carvacrol and γ -terpinene. The three most significant compounds in Greek oregano as well as the headspace of aromatised oil were carvacrol, *p*-cymene and γ -terpinene, but their percentage differs significantly ($p < 0.05$). The carvacrol content in the aromatic compound decreased from 58.7% in the herb alone to 18.5% in the oil, but the monoterpene, γ -terpinene and *p*-cymene content increased twofold.

Thyme

Altogether, 28 different compounds were identified in the thyme samples analyzed in the study. Of those, 16 are found in both herb samples studied. *p*-cymene is the most important compound in the headspace of commercial thyme, and in Latvian-grown thyme it makes up 7.2% of the volatile compounds.

Thirty-seven volatile compounds are identified in the content of commercial thyme, of those, the two main ones are *p*-cymene and thymol (Fig. 10). The data obtained are similar to the data obtained by other authors, and the analyzed thyme belongs to the *p*-cymene chemical type, the content of which is 32% *p*-cymene, 21% thymol, 9.5% γ -terpinene, 2.8% linalool (Kaloustian, 2005).

Eleven of the 35 compounds found in commercial thyme were also identified in oil with commercial thyme. Of the compounds which were found in amounts greater than 2% in the herb, the aromatic compounds thymol and carvacrol methyl ether were not found in the oil, as well as sesquiterpene *E*-caryophyllene.

Nineteen volatile compounds were identified in the headspace of thyme grown in Latvia. Of those, the most significant are the oxygen containing

monoterpene linalool acetate, *cis*-sabinene hydrate and monoterpene *p*-cymene. The headspace content of thyme differs significantly from the headspace of oil – linalool acetate content was decreased 21%, but monoterpene mircene and oxygenated monoterpene *cis*-sabinene hydrate content was increased by 10-13%.

Comparison of the headspace of aromatised oil and herbs with the deviation square sum coefficient K

The percentage of monoterpene and oxygenated monoterpene content in the headspace of aromatised oil is higher, but sesquiterpene and aromatic compounds are minimal or cannot be identified at all. The explanation for that may be the characteristics of the compound, its volatility, how it extracts in oil, as well as the attributes of the headspace over products, that is, how the compound separates from the substrate. If the volatile compound percentage in herbs alone and in oil aromatised with the herb is the same, then the coefficient is 0, consequently, the smaller the coefficient, the more similar is the content of the headspace of oil to the herb. The coefficients are set out in Fig. 11.

The smallest coefficient K is found in lemon basil, because the most significant compounds in the herb – oxygenated monoterpenes linalool, nerol and geraniol – extract in oil similarly. The greatest K coefficients are for Greek oregano and commercial basil, because the most significant compounds, carvacrol and methyl chavicol, are less volatile, and their percentage in the content of the aromatised oil is 63% and 41 % respectively. These results show that in preparation of oil from herbs with more highly volatile compounds, such as oxygenated monoterpenes, the content of aromatised oil is closer to that of the herb.

4. Phenolic compounds in herbs and aromatised oils

As phenolic compounds in plants are one of the most significant primary antioxidants, it is important to determine their quantity in herbs and aromatised oils. The total content of phenolic compounds in herbs differs significantly ($p < 0.05$) (Fig. 12). The highest total content of phenolic compounds was found in commercial thyme, thyme grown in Latvia, and Greek oregano. The lowest content of phenolic compounds was in both basil samples studied. The phenolic compounds in the herbs belong to various classes: phenolic acids and their derivatives, flavonoids. Each class has its structural characteristics, so that different methods and solvents are used for extraction of the compounds. Two extraction methods were selected in this study: 1) extraction with methanol, which is suitable for extraction of phenolic acids, 2) extraction with diethyl ether, which is suitable for extraction of flavonoids from herbs. The phenolic compound content which can be identified in herbs using different extraction methods differs significantly (Fig. 12).

More phenolic compounds were extracted from herbs using methanol. A total of six phenolic compounds were identified, which belong to various

classes: phenolic acid (caffeic acid), phenolic acid derivative (caffeic acid dimers – rosmarinic acid), flavones (apigenin, luteolin) and flavonoids (eriodictyol, naringenin). Rosmarinic acid is the most significant phenolic compound in all the herbs studied and its content determines the total phenolic content in the herbs, because the content of the remaining compounds is proportionately very small (to 4%). Rosmarinic acid is found in the greatest amount in the content of thyme, commercial thyme and Greek oregano. Caffeic acid is one of the phenolic acids found in the herbs studied, and it was identified only in both thyme samples studied: thyme grown in Latvia at 0.26 mg per 100 g⁻¹, and commercial thyme at 0.38 mg per 100 g⁻¹. Apigenin was identified in the composition of oregano and thyme, and the highest content was found in thyme grown in Latvia and Greek oregano. The other flavon – luteolin – was found in smaller quantities in the herbs studied compared to apigenin, and the greatest amount of luteolin is found in commercial thyme. Apigenin and luteolin were also found in almost all of more than 40 analyzed thyme samples grown in Macedonia (Marin *et al.*, 2003). The highest level of eriodictyol was established in the composition of Greek oregano. Naringenin was identified in the composition of oregano and thyme, and the highest level was found in the composition of Greek oregano and commercial thyme.

It was possible to identify 5 phenolic compounds in aromatised oil, and the highest phenolic compound content is in oil with Greek oregano (Fig. 13).

It was not possible to identify phenolic compounds in oils with green and commercial basil. Different quantities of herbs were used in the preparation of aromatised oil – 30 g kg⁻¹, and 60 g kg⁻¹. Oil which was prepared using 60 g kg⁻¹ of herbs had 1.9 to 2.1 times more phenolic compound content than oil prepared with 30 g kg⁻¹, thus in the researched range, phenolic compound content increases proportionately to the amount of herbs added to the oil. The most significant phenolic compound in the composition of the herbs – rosmarinic acid – could only be identified in oils which were aromatised with oregano and Latvian grown thyme. The compound could only be identified in oil samples prepared with 60 g kg⁻¹ of Greek oregano and thyme. Caffeic acid was identified only in oil with thyme grown in Latvia, as well as by its content in the oil. Of the flavones in the composition of the herbs studied, luteolin was not identified in the oil. The other flavon, apigenin, was identified in the content of oil aromatised with Greek oregano, commercial oregano and thyme grown in Latvia. In order to compare the level of phenolic compounds in the herbs and in the oils, the extraction of compounds in the oil was calculated (E). Phenolic compound extraction in oil differs among the identified compounds as well as among the herbs studied. The extraction of rosmarinic acid, the most significant phenolic compound in the composition of herbs, is low – 1.4%. The extraction of caffeic acid is also only 0.8%. Of the flavonoids, apigenine

extracted the best in oil (up to 10.49%) (Fig. 14). The extraction of narigenin and eriodictyol was significantly lower (0.19–1.89%).

This could be explained by the fact that some phenolic compounds, including apigenin, are found in the outer layers of the leaves (surface flavanoids), and therefore are more easily extracted in oil. The greatest share of flavanoids act as antioxidants, but the literature indicates that narinegin can also act as a prooxidant (Miranda, 2000). As the level of narinegin extraction in oil is low, there is a positive impact on the quality of the oil and it does not spoil.

5. Changes in quality indicators of aromatised oils

Aromatised oils were prepared by heating oil for 20 minutes at 70 C. Three herbs were used for aromatisation – commercial basil, commercial oregano and commercial thyme. Quality indicators were designated for oils in which differing quantities of herbs were used for aromatisation – 30 g kg⁻¹ and 60 g kg⁻¹. At the beginning of the study, quality indicators were established for heated and unheated rapeseed oil. Aromatised oils were analyzed after storage for one month.

Fatty acid content. Vegetable oils are significantly affected by fatty acid composition, therefore, the composition was studied in rapeseed oil as well as in aromatised oils. The refined rapeseed oil used in the study contains 12 different fatty acids, the most significant of them being oleic acid, linolic acid and linolenic acid. In the aromatised oil, the fatty acid content does not differ significantly from the control samples of heated and unheated oils after both types were stored for a month. For this reason, fatty acids were not analyzed further in the study.

Acid value. Acid values in heated and unheated oil stored for a month was significantly ($p < 0.05$) increased compared to the control samples. They do not substantially differ between heated and unheated samples, however. The greatest effect on acid values was caused by the herb used in aromatisation of oil and its content in the oil. Oils aromatised with basil and oregano have no significant differences in acid value compared to heated and unheated unaromatised oils, but the acid value of oil aromatised with thyme is higher than that in unaromatised oil.

Peroxide value. Peroxide value increased during storage time, but heating did not affect these changes. Basil is favourable to the formation of peroxide, but the content of the herb in oil did not substantially affect peroxide value. Previous studies also show that basil acts as a prooxidant. The results obtained do not correspond to data found in literature, because the studies show that the compounds it contains are powerful antioxidants. This contradiction could be explained by the studies showing that there is powerful synergy and antagonism between compounds, which affects the characteristics of antioxidants. The peroxide value does not significantly differ between oil aromatised with oregano and unaromatised oil samples. Thyme affects the oxidization of oil,

depending on the amount used. At 30 g kg^{-1} , peroxide value is smaller than in unaromatised oil samples, but at 60 g kg^{-1} , it is greater.

6. The effect of aromatisation conditions on the quality of aromatised oil

Analysis of aromatisation conditions for oils with commercial basil

The effect of aromatisation conditions on the composition of the aromatised oil was studied using two herbs – commercial basil and Greek oregano. The composition of the volatile compounds for these two herbs differs, and there are significant amounts of compounds of various classes – terpenes and aromatic compounds. Aromatised oil samples, prepared using herbs in oil at room temperature as well as heating the oil with the herb, were analyzed in this study. The extraction of volatile compounds in unheated oil samples occurs slowly. There is a significant positive linear correlation ($R=0.97$) between the holding time and peak area, and in the range studied, equilibrium of volatile compounds in the oil has not been reached in 28 days, because the content of volatile compounds increases as the holding time is increased. Heating temperature and duration substantially ($p<0.05$) affect the quantity of volatile compounds (Fig. 15). Comparing peak areas for aromatised oil samples heated at different temperatures, it can be seen that there is no substantial difference between volatile compound peak areas for oil heated at $60 \text{ }^\circ\text{C}$ temperature for 60 minutes and $70 \text{ }^\circ\text{C}$ for 10 minutes.

A similar tendency can be observed comparing oil heated at $70 \text{ }^\circ\text{C}$ temperature for 60 minutes and at $80 \text{ }^\circ\text{C}$ for 10 minutes. Thus, it is possible to achieve equivalent levels of volatile compounds at lower temperatures for a longer period, or higher temperatures for a shorter period. In unheated oil samples, volatile compound peak areas increase slowly, and the peak areas for volatile compounds in all the heated aromatised oil samples were larger than for unheated oil samples after 24 hours. Thus, heating increases formation of volatile compounds in the headspace of the oil and the possibility to obtain aromatised oils in a shorter time period. There is no significant ($p<0.05$) difference between the peak areas of volatile compounds in unheated oil held for 7 days and oil heated for 10 and 20 minutes at $60 \text{ }^\circ\text{C}$ temperature. The total identified volatile compound peak areas for oil heated 40 minutes at $80 \text{ }^\circ\text{C}$ was twice as large as unheated oil samples after 28 days. These results show that changing the temperature and duration of aromatisation, the process can be shortened considerably, and as aromatic oil can be obtained in 48 hours with heating as at room temperature in four weeks. The extraction of volatile compounds in oil can also promote reductions in the viscosity of oil during the heating process. The results show that the viscosity of refined oil at $18 \text{ }^\circ\text{C}$ is 72 mPa s , but in oil heated to $90 \text{ }^\circ\text{C}$, it is 9.6 mPa s , consequently, it decreases more than seven times.

Aromatisation conditions significantly ($p < 0.05$) affect the extraction of the certain compounds in oil. The composition of heated and unheated oils differs significantly. It was possible to identify the three most important compounds in heated and unheated oil samples – linalool, 1,8-cineole and methyl chavicol. Therefore, these compounds were studied particularly. These three compounds make up more than 65% of all volatile compounds in the composition of the herbs.

At room temperature, the extraction of linalool and methyl chavicol occurs gradually, and there is a positive linear correlation between the increase in peak area and the duration of holding ($R = 0.96$ for both compounds). On the other hand, 1,8-cineole reaches its maximum peak area in 14 days, and does not change substantially ($p < 0.05$) thereafter. Thus there is a higher percentage of linalool and methyl chavicol in unheated oil held for a longer time, but 1,8-cineole decreases. The peak area changes of linalool tend to be similar, depending on aromatisation conditions, as noted for total peak areas.

The peak area of 1,8-cineole after 28 days in unheated oil was only 27% of oil aromatised for 40 minutes at 80 °C. There was no significant difference in 1,8-cineole peak areas in oils which were heated for 60 minutes at 60 °C and unheated oil held for 28 days. There was a significant increase in methyl chavicol levels in the headspace at 60 °C only in oil heated for 60 minutes. At temperatures of 70 °C and 80 °C, the peak area for methyl chavicol increased only up to 40 minutes' duration, and after that begins to decrease. On the other hand, the peak area of linalool and 1,8-cineole does not decrease after heating at 70 °C up to 60 minutes.

Methyl chavicol, similar to 1,8-cineole, when heated for 60 minutes at 80 °C, decreases two times compared with a sample heated for 40 minutes (Fig. 16). In unheated oil after 28 days, the peak area for methyl chavicol was greater (120%) than in oil heated for 40 minutes at 80 °C. Methyl chavicol belongs to aromatic compounds and is therefore more difficult to extract, taking a longer time. It is also more sensitive to higher temperatures and extracts better at room temperature.

The total peak area of volatile compounds as well as the peak areas of the most important compounds linalool, 1,8-cineole and methyl chavicol – reach their maximum if the oil is aromatised at 80 °C for 40 minutes. Thus these aromatisation conditions may be viewed as optimal for oils with green basil, because the goal is to obtain maximal amounts of volatile compounds.

Methyl chavicol is the most important compound in commercial basil in the headspace (43%), but its content is significantly smaller in aromatised oils. In unheated oil, its content is 31%, but only 13% in oil heated at 80 °C for 40 minutes. The most significant percentage increase was for 1,8-cineole. Its level was only 4.5% in the headspace of herbs, but after 28 days in unheated oil and 40 minutes in oil at 80 °C, it was 19% and 34% respectively. The

percentage of 1,8-cineole in the oil increased more than 7 times compared to the herb headspace.

The composition of aromatised oil is affected by the conditions of aromatisation, so it is important to determine which method results in oil having a percentage composition more similar to that of basil. Coefficient K was calculated to compare the percentage composition of basil and oil aromatised with basil (Fig. 17).

If the volatile compound percentage composition for basil and oil aromatised with basil is the same, then coefficient K is 0. Thus, the smaller the coefficient, the greater the similarity of oil with the herb. During the time of aromatisation, the volatile compound content increases and the percentages of its composition also changes.

The volatile compound content of unheated aromatised oil samples is more similar to the composition of the volatile compounds in herbs than that of oil samples aromatised by heating.

Analysis of aromatisation conditions for oils with Greek oregano

Oil samples aromatised with oregano under various conditions were analyzed in the study. The results of the study of aromatisation conditions were analyzed according to quantitative and qualitative content, that is, peak area or concentration in the headspace, and aromatised oil headspace percentage composition. The total volatile compound concentration in the headspace of aromatised oil changes depending on the conditions of aromatisation. In oil samples heated at 50, 60, and 70 °C, the concentration of volatile compounds in the headspace increases with the increase in heating time. But heating at 80 and 90 °C the maximum concentration is reached in the studied time interval and reduction begins. For samples heated at 80 °C, the maximum is reached after 20 minutes, but for heating at 90 °C, after only 10 minutes, however, the concentration does not begin to decrease significantly ($p < 0.05$) even after heating 20 minutes. Comparing all samples, it is not possible to identify one set of conditions which would be optimal for obtaining the maximum volatile compound concentration, because there is no significant ($p < 0.05$) difference between the total volatile compound peak areas for the three samples heated in the following conditions: 80 °C 20 minutes, 90 °C 10 minutes, 90 °C 20 minutes (Fig. 18).

In further studies, more attention was paid to the most significant compounds in the content of oregano, *p*-cymene, α -thuyene, carvacrole and γ -terpinene. They were to be extracted for oil and are arranged in order according to their retention times.

The concentration of *p*-cymene in the headspace of oil at 50, 60 and 70 °C increases slowly and the maximum is not reached. At 70 °C there is a rapid increase if the oil is heated for more than 40 minutes. At 80 °C, the maximum *p*-cymene peak area is reached heating the oil for 20 minutes, after which the

concentration begins to decrease. In samples heated at 90 °C, the maximum *p*-cymene concentration is reached after only 10 minutes, but the concentration also decreases rapidly after that. Oil samples heated for 60 minutes at 90 °C and 70 °C do not differ significantly ($p < 0.05$).

The maximum peak area for monoterpene γ -terpinene is reached heating the sample at 90 °C for 10 minutes, but if the sample is heated longer, the peak area decreases, and in a sample heated for 60 minutes, the peak area for γ -terpinene is two times smaller.

Unlike α -thujene and *p*-cymene, the maximum concentration of γ -terpinene is reached in 40 minutes heating in oil at 80 °C.

The most important compound in oregano is the aromatic compound carvacrol, and its extraction in oil affects the total concentration of volatile compounds in the headspace of oil. Heating the oil at 50, 60 and 70 °C, carvacrol concentration in the headspace increases slowly if the duration of heating is increased. But at 80 and 90 °C, the concentration of carvacrol increases rapidly, as in samples heated at 80 °C. At 90 °C, however, there is a more rapid decrease after the maximum concentration is attained.

In order to identify the optimal parameters for aromatisation of oil, the oxidizability of oil was studied (Fig. 19).

Peroxide values were significantly affected by the heating temperature of the oil. In oil samples heated at 50, 60 and 70 °C, the peroxide values were substantially the same. Increases were observed only in oil samples which were heated at 80 and 90 °C longer than 20 minutes. Since peroxide values do not differ significantly at 80 °C for 20 minutes, 90 °C for 10 minutes and 90 °C for 20 minutes, any of these conditions may be selected for aromatisation of oil.

CONCLUSIONS

1. Solid phase microextraction of volatile compounds from herbs and aromatised oil occurs optimally using DVB/Car/PDMS fibre, duration of 60 minutes, temperature 30 °C.
2. The greatest volatile compound content was established in commercial and Greek oregano and commercial basil. Seventy-six compounds were identified in the headspace of the studied herbs belonging to terpenes, aromatic compounds, ketones and alcohols. The volatile compound content of the herbs studied differs, but the characteristic compounds of each herb can be separated out:
 - basil – linalool, 1,8-cineole, methyl chavicol,
 - oregano – *p*-cymene, carvacrol or *cis* sabinene hydrate,
 - thyme – *p*-cymene, thymol or linalool acetate.
3. The content of volatile compounds in herbs alone and in aromatised oil differs significantly. Compared to the content of herbs, there is a greater percentage of highly volatile compounds (monoterpenes), but a lower

percentage of sesquiterpene in aromatised oils. The most important compounds found in oil aromatised with herbs are:

- oil with basil – linalool, 1,8-cineole,
- oil with oregano – *p*-cymene,
- oil with thyme – *p*-cymene.

4. Six phenolic compounds were identified in the herbs studied. Of those, the most important is rosmarinic acid. The total identified phenolic compound content is:

- for basil – 12–18 mg 100 g⁻¹,
- for oregano – 53–72 mg 100 g⁻¹,
- for thyme – 73–76 mg 100 g⁻¹.

5. Phenolic compound levels extracted in oil were low, only 0.1–10% of the amounts present in the herbs extracted into the oil, and for each compound it was different:

- apigenin extracted at the highest levels—up to 10%,
- rosmarinic acid extracted at the lowest levels—up to 0.5%.

6. The acid content in aromatised oils does not change significantly, but aromatisation of oil affects quality indicators for the oil, acid values and peroxide values:

- oil aromatised with commercial thyme has a higher acid value than non-aromatised oil,
- formation of peroxide is delayed by thyme if its content in oil is 30 g kg⁻¹, but it is promoted by commercial basil.

7. The composition of oil aromatised under different conditions differs significantly. The volatile compound content of oil aromatised at room temperature is closer to the content of herbs alone, but oils aromatised at higher temperatures (50–90 °C) contain a higher percentage of monoterpenes.

8. The maximum volatile compound content of oils aromatised at higher temperatures is reached:

- for commercial basil – 40 minutes at 80 °C,
- for Greek oregano – 20 minutes at 80 °C and 10–20 minutes at 90 °C,

Aromatising oil with herbs at 18±2 °C, maximum peak area is not reached after 28 days' aromatisation.

RECOMMENDATIONS FOR MANUFACTURERS

1. For aromatisation, it is best to select herbs, the aroma of which is produced by highly volatile compounds, because that results in oil which is more aromatic.
2. Aromatising oil at room temperature, it is possible to obtain oil which has an aroma very similar to the aroma of the herbs used.

3. For faster aromatisation of oil, herbs can be held in oil at higher temperatures. The conditions of aromatisation are affected by the composition of the volatile compounds. Optimal aromatisation conditions for herbs studied are:
 - commercial basil – 40 minutes at 80 °C,
 - Greek regano – 80 °C for 20 minutes or 90 °C for 10 minutes.
4. Higher nutritional quality in oil can be obtained aromatising it with Greek oregano, because this product contains the highest levels of flavanoids, which are natural antioxidants.
5. It is recommended to use refined oil for aromatisation, because the product oxidizes more slowly and retains its quality longer.
6. Extracted herbs is a byproduct from oil aromatisation, and they are valuable raw material for production of aromatised mayonnaise.