Konopný olej, jeho charakterizace a použití v emulzích

Bc. Veronika Slezáková

Diplomová práce
2013

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Bc. Veronika Slezáková**
Osobní číslo:	**T11149**
Studijní program:	**N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia:	**prezenční**
Téma práce:	**Konopný olej, jeho charakterizace a použití v emulzích**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. **V teoretické části vypracujte literární rešerši na zadané téma. Věnujte se konopnému oleji, jeho složení, vlastnostem a metodám vhodným pro hodnocení jeho kvality. Dále se zaměřte na emulzní systémy rostlinných olejů, možnosti jejich přípravy a charakterizace.**

II. Praktická část

1. **V praktické části analyzujte komerčně dostupné vzorky konopných olejů pomocí vhodných fyzikálních a chemických metod. Z vybraných olejů připravte emulze a proveďte jejich charakterizaci, zejména s ohledem na velikost částic a stabilitu. Získané výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.**

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] HIEMENZ, P. C., RAJAGOPALAN, R. Principles of Colloid and Surface Chemistry. 3rd Edition, Boca Raton FL, Taylor and Francis, 1997. 650 p. ISBN 0-8247-9397-8.
[2] TADROS, T., Ed. Emulsion Science and Technology. Wiley-WCH. Weinheim, 2009. 326 p. ISBN 978-3-527-325-2.
[3] MATTHÄUS, B., BRÜHL, L. Virgin hemp seed oil: An interesting niche product. European of Lipid Science and Technology, 2008, vol. 110, p. 655 – 661.
[4] OOMAH, D., ET AL. Characteristic of hemp (Cannabis sativa) seed oil. Food Chemistry, 2002, vol 76, p. 33 – 43.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **11. února 2013**

Termín odevzdání diplomové práce: **22. května 2013**

Ve Zlíně dne 11. února 2013

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ……. Obor: …….

P R O H L Á Š E N Í

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně .....

.....

[1)] zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:
(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.
(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.
(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.
[2)] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:
(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).
[3)] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:
(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.
(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.
(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá charakterizací konopného oleje a jeho použitím v emulzích. V práci je popsáno získávání oleje z konopí, dále složení, účinky a využití konopného oleje. Jsou rovněž uvedeny způsoby jeho charakterizace. Pozornost je věnována emulzím, jejich přípravě a vlastnostem. V praktické části se práce soustřeďuje na základní charakterizaci konopných olejů, získaných od různých výrobců, pomocí vhodných fyzikálních a chemických metod, na přípravu emulzí O/V s obsahem konopných olejů a také na sledování jejich stability.

Klíčová slova: konopný olej, mastné kyseliny, emulze O/V, hydrofilně-lipofilní rovnováha, stabilita

ABSTRACT

This thesis deals with the characterization of hemp oil and its application in emulsions. In the work, oil obtaining from hemp, composition, properties and applications of the hemp oil are described. Methods for oil characterization are introduced as well. Attention is also paid to preparation and properties of emulsions. In experimental part, the thesis is focused on the fundamental characterization of hemp oils, obtained from different manufacturers, using relevant physical and chemical methods. Preparation of O/V emulsions containing hemp oil and monitoring of their stability is also presented.

Keywords: hemp oil, fatty acids, emulsions O/V, hydrophilic-lipophilic balance, stability

Tímto děkuji vedoucí mé diplomové práce, paní Doc. Ing. Věře Kašpárkové CSc., za odborné vedení, věcné připomínky, trpělivost a čas, které mi věnovala při zpracování této diplomové práce.

Dále bych chtěla poděkovat firmě M + H, Míča a Harašta s r.o. za laskavé poskytnutí vzorku konopného oleje.

Mé poděkování patří také rodině za morální a finanční podporu po celou dobu studia.

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

OBSAH

ÚVOD **10**
I TEORETICKÁ ČÁST **11**
1 KONOPNÝ OLEJ **12**
1.1 ZÍSKÁVÁNÍ OLEJE 12
1.1.1 Úprava semen 13
1.1.2 Izolace oleje 13
1.1.2.1 Lisování za studena 13
1.1.2.2 Extrakce 14
1.1.2.3 Extrakce superkritickým oxidem uhličitým 14
1.1.2.4 Lisování za studena za přítomnosti enzymu 15
1.1.3 Závěrečné úpravy 17
1.2 SLOŽENÍ KONOPNÉHO OLEJE 17
1.2.1 Obsah mastných kyselin 17
1.2.1.1 Zdravotní účinky mastných kyselin 21
1.2.2 Obsah tokoferolů 22
1.2.3 Obsah fytosterolů 22
1.2.4 Obsah tetrahydrocannabinolu a ostatních kanabinoidů 22
1.2.5 Obsah methyl salicylátu 23
1.3 VYUŽITÍ A ÚČINKY KONOPNÉHO OLEJE 23
1.4 CHARAKTERIZACE TUKŮ A OLEJŮ 24
1.4.1 Stanovení tukových čísel 24
1.4.1.1 Číslo kyselosti 25
1.4.1.2 Číslo zmýdelnění 25
1.4.1.3 Jodové číslo 25
1.4.1.4 Esterové číslo 25
1.4.2 Stanovení stability tuků a olejů 26
1.4.2.1 Schallův test 26
1.4.2.2 Peroxidové číslo 27
1.4.2.3 Anisidinové číslo 27
1.4.2.4 Thiobarbiturové číslo 27
1.4.2.5 Stanovení konjugovaných dienových, trienových MK 27
1.4.2.6 Index lomu 28
1.4.3 Metody analýzy 28
1.4.3.1 Plynová chromatografie 29
1.4.3.2 Vysoce účinná kapalinová chromatografie 30
1.4.3.3 Diferenční skenovací kalorimetrie 31
2 EMULZE **34**
2.1 KLASIFIKACE 34
2.1.1 Dle charakteru disperzního podílu a prostředí 34
2.1.2 Dle koncentrace disperzního podílu 34
2.1.3 Dle velikosti částic 35
2.2 VLASTNOSTI 35
2.2.1 Barva a vzhled 35
2.2.2 Viskozita 35

2.3 STABILITA A ROZPAD EMULZE 36
2.3.1 Krémování 37
2.3.2 Sedimentace 37
2.3.3 Flokulace 37
2.3.4 Koalescence 38
2.3.5 Fázová inverze 38
2.3.6 Ostwald ripening 38
2.4 PŘÍPRAVA STABILNÍCH EMULZÍ 38
3 EMULZE ROSTLINNÝCH OLEJŮ V KOSMETICE 40
3.1 PŘÍPRAVA KOSMETICKÝCH EMULZÍ O/V 40
3.1.1 Oční gel 40
3.1.2 Mléko po opalování ve formě spreje 40
3.1.3 Pleťové hydratační krémy 41
3.1.3.1 Pleťový krém 1 41
3.1.3.2 Pleťový krém 2 41
3.1.3.3 Pleťový krém 3 42
3.1.3.4 Pleťový krém 4 42
3.1.3.5 Pleťový krém 5 42
3.2 STABILITA REÁLNÝCH SYSTÉMŮ EMULZÍ O/V 42
4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE 44
II PRAKTICKÁ ČÁST 45
5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 46
5.1 POUŽITÉ VZORKY 46
5.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE 46
5.3 POUŽITÁ ZAŘÍZENÍ 47
5.4 POUŽITÉ METODIKY 48
5.4.1 Stanovení čísla kyselosti a zmýdelnění 48
5.4.2 Stanovení jodového čísla 49
5.4.3 Stanovení peroxidového čísla 49
5.4.4 Schallův test 50
5.4.5 Stanovení indexu lomu 50
5.4.6 Stanovení konjugovaných dienových a trienových mastných kyselin UV spektrofotometrií 50
5.4.7 Plynová chromatografie 51
5.4.7.1 Příprava methylesterů 51
5.4.7.2 Analýza GC 51
5.4.8 Gelová permeační chromatografie 52
5.4.9 Diferenční skenovací kalorimetrie 52
5.4.10 Příprava a charakterizace emulzí 52
5.4.10.1 Složení emulzí 52
5.4.10.2 Výpočet jednotlivých složek emulze 53
5.4.10.3 Příprava emulzí 55
5.4.10.4 Stanovení velikosti částic emulzí 55
5.4.10.5 Mikroskopie 56
6 VÝSLEDKY A DISKUSE 57
6.1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA ČERSTVÝCH OLEJŮ 57
6.1.1 Číslo kyselosti 57

6.1.2 Číslo zmýdelnění 57
6.1.3 Jodové číslo 58
6.1.4 Plynová chromatografie 59
6.2 TEPELNĚ NAMÁHANÉ OLEJE 61
6.2.1 Vyhodnocení Shallova testu 61
6.2.1.1 Peroxidové číslo 61
6.2.1.2 Index lomu 62
6.2.1.3 Konjugované dieny, trieny 63
6.2.1.4 Gelová permeační chromatografie – stanovení polymerů 65
6.2.1.5 DSC – stanovení fázových charakteristik 67
6.2.2 Souhrnné srovnání a zhodnocení rozdílů mezi oleji 70
6.3 EMULZE 70
6.3.1 Velikost částic a stabilita emulze 70
6.3.1.1 Emulze připravené se směsí emulgátorů Span 80 + Tween 80 71
6.3.1.2 Emulze připravené se směsí emulgátorů Span 85 + Tween 85 75
6.3.1.3 Emulze připravené s emulgátorem Montanov 78
6.3.2 Vizuální pozorování 80
6.3.3 Mikroskopie 82
ZÁVĚR 84
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 87
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK 94
SEZNAM OBRÁZKŮ 95
SEZNAM TABULEK 97
SEZNAM PŘÍLOH 99

ÚVOD

Konopný olej lze získávat různými způsoby. Nejčastějším způsobem je lisováním semen za studena, při kterém je zachován vysoký obsah nenasycených mastných kyselin. Esenciální mastné kyseliny působí pozitivně na řadu nemocí a mají tak příznivý vliv na lidské zdraví. Nejdůležitějšími mastnými kyselinami v konopném oleji jsou kyselina linolová a kyselina α–linolenová. Vzhledem k obsahu cannabinolu má olej i antimikrobní účinky. Z těchto důvodů roste obliba používání konopného oleje jako potraviny, ale i jako součásti kosmetiky. Jak již bylo zmíněno, konopný olej je využíván v potravinářském i kosmetickém průmyslu, kde jsou v typických výrobcích často využívány emulzní systémy. Emulze vznikají dispergací povrchově aktivní látky v systému obsahujícím vodnou a olejovou fázi. Pokud je dispergovanou fází olej a spojitou voda, vznikne emulze olej ve vodě (O/V). V opačném případě vzniká emulze opačná, a to voda v oleji (V/O). Jednou z nejdůležitějších vlastností, které mají vztah k praktickému využití emulzí je stabilita, kterou však lze ovlivnit vhodným složením emulze.

Cílem praktické části diplomové práce bylo provést základní charakterizaci tří čerstvých konopných olejů, komerčně dostupných na českém trhu. Bylo stanoveno jejich číslo kyselosti, zmýdelnění, jodové číslo a byl rovněž určen obsah mastných kyselin metodou plynové chromatografie. Pro hodnocení stability olejů byl proveden Shallův test, tedy teplené namáhání olejů. Tepelně namáhané oleje byly pak charakterizovány peroxidovým číslem, byl stanoven index lomu, obsah konjugovaných dienových a trienových kyselin, obsah polymerů metodou gelové permeační chromatografie a v neposlední řadě byly vyhodnoceny termogramy olejů metodou diferenční skenovací kalorimetrie.

U připravených emulzních systémů bylo cílem sledovat vliv složení emulze, konkrétně typu použitého emulgátoru, na stabilitu připravených emulzí (O/V) v čase. Hodnocení probíhalo vizuálně, měřením velikosti částic technikou fotonové korelační spektroskopie a mikroskopicky.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KONOPNÝ OLEJ

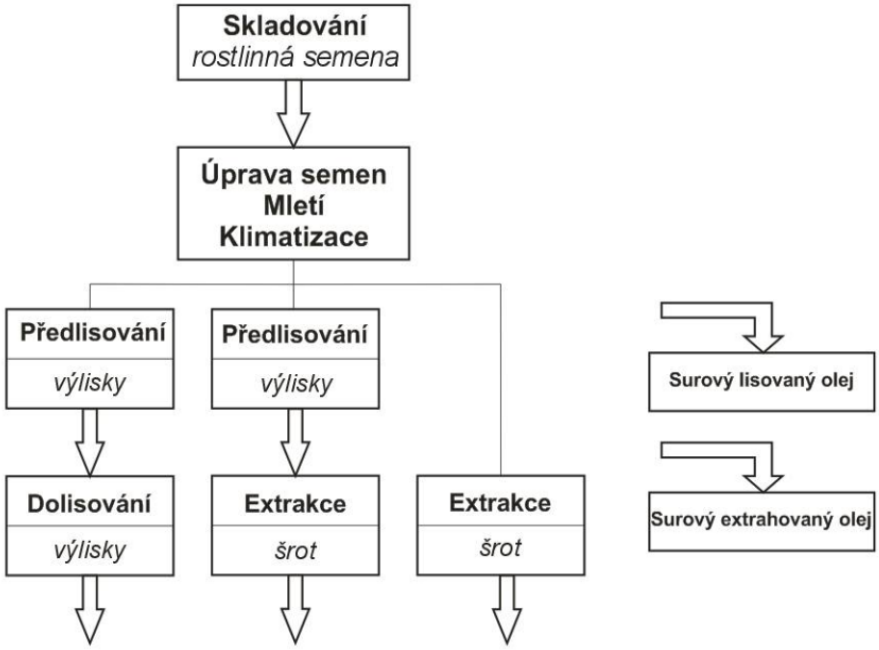
Konopný olej se získává lisováním nebo extrakcí ze semen rostlin konopí setého (*Cannabis sativa*). Konopí seté je jednou z nejstarších kulturních plodin využívaných ve výživě [1, s. 655]. Vzhledem k obsahu omamných látek však bylo ve většině zemí jeho pěstování zakázáno [2, s. 53]. V zemích Evropské unie je, podle stávajících opatření, možno pěstovat speciální šlechtěné kultivary konopí setého, které splňují normu předepisující velmi nízký obsah omamných látek. Obsah omamných látek nesmí překročit 0.3 % delta-9-tetrahydrocannabinolu (THC) [3].

Konopnému oleji náleží čtvrtina hmotnosti semene. Barva oleje je zelená, chuť se podobá chuti oříškové a někdy je doprovázena mírně hořkou pachutí. Na základě spektra mastných kyselin (MK) je řazen do skupiny špičkových stolních rostlinných olejů [4]. Současně je však díky vysokému obsahu nenasycených mastných kyselin velmi citlivý na oxidační poškození a je tudíž řazen mezi vysoce nestabilní oleje. Proto je potřeba konopný olej skladovat v chladnu, temnu a pokud možno bez přítomnosti kyslíku [1, s. 658 – 659].

Z hlediska používání není konopný olej vhodný pro přípravu potravin, které vyžadují dlouhodobější vystavení vyšším teplotám. Podle výzkumu německého institutu pro výživu a potraviny vykazuje panenský konopný olej podstatně kratší oxidační stabilitu ve srovnání s řepkovým nebo olivovým panenským olejem. U testu prováděného při 120 °C bylo zjištěno, že zatímco panenský řepkový olej je oxidačně stabilní asi čtyři hodiny, olivový šest hodin, u konopného oleje se oxidační stabilita zhoršila již po méně než jedné hodině (nepublikované údaje z laboratoře autorů) [1, s. 659].

1.1 Získávání oleje

Oleje se v současné době získávají ze semen rostlin dvěma procesy – lisováním, nebo extrakcí. V této části práce jsou stručně popsány operace od úpravy semen přes sklizeň až po závěrečné úpravy olejů. Je zde také představen další proces získávání olejů – lisovaní za studena za přítomnosti enzymů, který ovšem není příliš využíván. Na Obr. 1 je znázorněno obecné schéma technologie výroby rostlinných olejů.



Obr. 1. Schéma technologie procesů výroby rostlinných olejů [5].

1.1.1 Úprava semen

Posklizňová úprava semen je záležitostí zemědělské prvovýroby. Semena procházejí procesem čištění, kde dochází k oddělení hrubých příměsí, zrn jiných obilovin, plevelů a poškozených zrn. Důležitým strojem je odkaménkovač, který odděluje částice podobné velikosti jako je zrno, ale s odlišnou hustotou. Další používaný stroj je triér, který odděluje zrna stejné hmotnosti a hustoty, ale odlišného tvaru. Čistící linka obsahuje také magnetické separátory pro odstranění případných kovových nečistot. Vyčištěná zrna jsou poté sušena na požadovanou vlhkost a skladována [6, s. 301 – 302].

Oproti jiným olejnatým semenům, například slunečnici, není nutno semeno zbavovat slupky, ale pro svou pevnost jsou semena před izolací oleje namleta a podrobena klimatizaci, tedy působení tepla a páry. Při klimatizaci dochází k rozrušení struktury semen, částečnému narušení pletiv a buněk a zvětšení plochy, což má význam pro snazší získávání olejů [6, s. 302], [7, s. 111 – 112].

1.1.2 Izolace oleje

1.1.2.1 Lisování za studena

Konopný olej je většinou vyráběn lisováním za studena, při kterém sice nedochází k ovlivnění kvality výrobku, ale množství vylisovaného oleje je nižší. S rostoucím tlakem

se totiž dostává do vylisovaného oleje více jemných úlomků semene, což zhoršuje jeho kvalitu [8], [9]. Při lisování dochází k mechanickému oddělení oleje z rostlinných pletiv za přesně stanoveného tlaku, kdy olej vytéká z rozemletého semene vytvořenými kapilárami. Je možno použít předlisy, dolisy a nebo kombinované dvojité lisy. U předlisů je využíván tlak 3 – 4 MPa, u dolisů až 40 MPa. Surový lisovaný olej je čerpán do zásobníku [6, s. 303].

1.1.2.2 Extrakce

Hlavním cílem extrakce je získat pomocí vhodných rozpouštědel maximální množství olejů z nízkoolejnatých surovin nebo z výlisků vysokoolejnatých semen [10], [7, s. 112]. Hlavním kritériem, které rozhodují o volbě základního procesu, je olejnatost zvolené suroviny. Olejniny obsahující 25 – 30 % oleje v semeni se již nelisují, ale extrahují [5], [2, s. 53].

Důležitým předpokladem průběhu extrakce je hluboké narušení pletiv a buněk semen. Rozpouštědlo penetruje kapilárami a olej se v něm rozpouští, vzniká miscela. Při zpracování miscely potom dochází k filtraci pevného podílu a následnému odpaření rozpouštědla [6, s. 303]. Značný význam má volba vhodného druhu rozpouštědla. Žádné rozpouštědlo ovšem nesplňuje všechna významná kritéria, jako jsou: vysoká rozpustnost oleje za nízkých teplot, vysoká selektivita pro extrakt, chemická inertnost vůči všem složkám, nízká toxicita, cenová dostupnost. Nejrozšířenějším rozpouštědlem je n-hexan [2, s. 54], [6, s. 304].

1.1.2.3 Extrakce superkritickým oxidem uhličitým

V poslední době se jeví jako perspektivní rozpouštědlo k extrakci kapalný oxid uhličitý (CO_2). Výhodou je, že extrakt neobsahuje žádné zbytky toxických rozpouštědel, CO_2 je nehořlavý a levný [2, s. 54].

Při dostatečně vysokém tlaku (desítky MPa) přechází plyn do stavu tzv. superkritické kapaliny. Tato kapalina má některé vlastnosti typické pro plyny, jako je viskozita a některé vlastnosti typické spíše pro kapaliny, např. hustota. Superkritická kapalina je vhodná pro extrakci látek z tuhých vzorků, protože vzorkem snadno proniká díky nízké viskozitě. Po ukončení extrakce je možno superkritický oxid uhličitý snadno oddělit odpařením [11, s. 46 – 47].

Ve studii prováděné C. Da Porto a kol. [12, s. 401 – 404] byl analyzován konopný olej získaný extrakcí superkritickým CO_2. Extrakce byla provedena při teplotě 40, 60 a 80 °C a při tlaku 300 a 400 bar, přičemž byly zkoumány různé poměry teploty a tlaku. Průtok CO_2 byl upraven na 10 kg/hod. Výsledky byly porovnány s olejem extrahovaným n-hexanem dle Soxhleta. Byl zkoumán výnos oleje, složení mastných kyselin a oxidační stabilita získaných olejů. Oxidační stabilita vzorků konopného oleje byla vyjádřena jako ekvivalentní milimolární koncentrace vitaminu E. V Tab. 1 je uvedena oxidační stabilita, výnosnost oleje a podmínky extrakce.

Tab. 1. Zisk, celková výnosnost a oxidační stabilita konopného oleje extrahovaného superkritickým CO_2 *a n-hexanem dle Soxhleta [12, s. 403].*

Tlak [bar]	Teplota [°C]	Množství CO_2 [kg CO_2/kg semen]	Zisk oleje [g oleje/100 g semen]	Výnosnost [% celkového oleje]*	Oxidační stabilita [mMeq Vit. E]
300	40	40	22.1	72.2	0.40
	60	50	17.2	56.2	0.17
	80	30	16.8	55.0	2.18
400	40	50	20.5	66.9	0.26
	60	30	17.3	56.6	0.16
	80	40	22.1	72.1	0.03
Soxhlet (n-hexan)	–	–	30.6	100	0.17

** Vztaženo k výnosnosti extrakce pomocí Soxhletta*

Ze semen bylo získáno nejvíce 22 % oleje, což odpovídá 72 % celkového množství oleje získaného Soxhletovou extrakcí. Tato hodnota byla získána při tlaku 300 bar a teplotě 40 °C a také při tlaku 400 bar a 80 °C. Olej měl nejvyšší oxidační stabilitu odpovídající 2.18 mMeq vitaminu E, které bylo dosaženo u oleje získaného při tlaku 300 bar a teplotě 80 °C.

1.1.2.4 Lisování za studena za přítomnosti enzymu

Relativně novým způsobem izolace olejů je lisování za studena ze surovin, které prošly předúpravou pomocí enzymů. Ve studii prováděné Sajid Latif a Farooq Anwar [13] byly hodnoceny fyzikálně chemické vlastnosti konopného oleje lisovaného za studena

v přítomnosti enzymů. Bylo použito pěti druhů enzymových přípravků – Kemzyme (především α-amylasa, β-glukanasa, celulasa komplex, hemicelulasa komplex, proteasa, xylanasa), Freedzyme (především xylanasa, β-glukanasa, celulasa a hemicelulasa), Natuzyme (především celulasa, xylanasa, fytasa, α-amylasa, pektinasa), Viscozyme L (multienzymový komplex obsahující široké spektrum sacharidů, včetně emzymů arabanasa, celulasa, β-glukanasa, hemicelulasa a xylanasa), Protex 7L (proteasa). Používání enzymů v procesu získávání olejů bylo rovněž sledováno několika dalšími výzkumnými pracovišti [13, s. 1042 – 1043].

Podstatou tohoto způsobu získávání olejů je rozemletí semen, která jsou po klimatizaci podrobena enzymatické hydrolýze podle předem optimalizovaných podmínek. Hydrolyzovaný vzorek se poté suší v sušárně kvůli inaktivaci enzymu a úpravě vlhkosti a po této technologické operaci následuje lisování. Za stejných podmínek byl zpracován také kontrolní vzorek, ovšem bez enzymatického předčištění a byl srovnán se vzorkem získaným enzymatickým procesem [13, s. 1043].

V již zmíněné studii byl po získání oleje ve zbytku semen zjišťován obsah bílkovin, vlákniny a minerálních látek. Ve srovnání s kontrolním vzorkem nebyly zjištěny významné rozdíly. Použití enzymu nemělo významný vliv ani na složení a obsah mastných kyselin v získaném oleji. Stanovené hodnoty obsahu mastných kyselin jsou uvedeny v Tab. 2.

Tab. 2. Složení mastných kyselin v konopném oleji získaném lisováním za studena s enzymatickou předúpravou [13, s. 1046].

Mastná kyselina	Obsah mastných kyselin [g/100g MK]					
	Použitý enzym					Kontrolní vzorek
	Kemzyme	Protex 7L	Viscozyme L	Feedzyme	Natuzyme	
Palmitová	6.14	6.16	6.11	6.07	5.91	5.95
Stearová	2.24	2.21	2.26	2.19	2.31	2.25
Olejová	12.49	12.63	12.74	12.87	12.85	12.55
Linolová	57.45	55.18	54.22	55.19	57.89	56.61
α–linolenová	18.31	18.56	18.65	18.73	18.29	18.38
γ–linolenová	1.91	1.86	1.85	1.87	1.84	1.85
Eikosenová	0.91	0.88	0.92	0.89	0.88	0.87

Co se týká barvy olejů, barva oleje získaného za pomoci enzymů byla intenzivnější, což bylo způsobeno vyšším obsahem pigmentů. Tento olej také vykazoval vyšší oxidační stabilitu, která může být způsobena vyšší koncentrací tokoferolů v olejích produkovaných za pomoci enzymů. Analýzou bylo zjištěno, že při lisování za studena s enzymatickou předúpravou jsou výnosy oleje podstatně vyšší bez nepříznivého vlivu na jeho kvalitu [13, s. 1045 – 1047].

1.1.3 Závěrečné úpravy

Surový olej obsahuje mnoho doprovodných látek, které pocházejí ze semen rostlin. Jedná se zejména o fosfolipidy, volné mastné kyseliny, nebo barviva. Tyto látky zhoršují kvalitu oleje tím, že snižují jeho trvanlivost a použitelnost. Cílem rafinačních procesů je tyto nežádoucí látky z oleje odstranit [14].

Při výrobě běžných olejů zahrnuje technologický postup následující rafinační procesy: hydratace (odslizování), neutralizace (odkyselení), bělení, a deodorace [15]. Konopný olej lisovaný za studena je však lisován šetrně bez využití vyšších teplot a jeho rafinace není proto obvykle nutná [16]. Lisování probíhá při teplotě 40 – 50 °C. Olej se nechá usadit po dobu dvou až tří týdnů a pak se přímo dekatuje do menších nádob pro maloobchodní prodej. Lahvování se provádí rychle, pod dusíkem do matných a tmavých lahví. Skladování v chladu významně ochraňuje olej proti oxidaci a degradaci [2, s. 53].

1.2 Složení konopného oleje

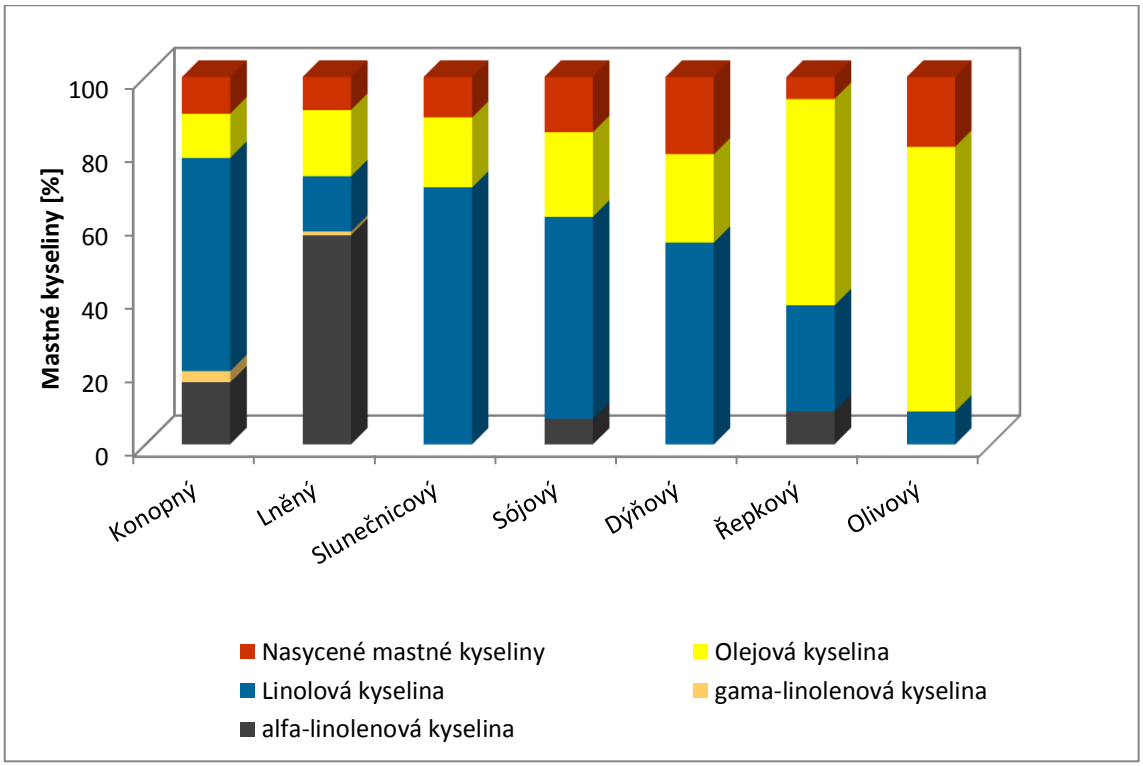
Konopný olej je ceněn především pro své výživové vlastnosti, se kterými jsou spojeny pozitivní zdravotní účinky. Nejdůležitější složkou oleje jsou mastné kyseliny, kterých obsahuje 25 – 35 % [17, s. 36]. Tato kapitola je zaměřena na složení konopného oleje a to především na charakteristiku mastných kyselin a dalších doprovodných látek jako jsou tokoferoly, fytosteroly a také tetrahydrocannabinol a další kanabinoidy.

1.2.1 Obsah mastných kyselin

Každý druh oleje má charakteristické složení mastných kyselin [18, s. 4]. Obsah mastných kyselin určuje vhodnost oleje pro určité aplikace a je proto nejvýznamnějším kritériem pro hodnocení olejů. Z hlediska výživy jsou nejdůležitější nenasycené formy mastných kyselin [1, s. 656], [19, s. 87].

Konopný olej obsahuje 70 – 80 % nenasycených mastných kyselin [19, s. 87]. Je v něm obsaženo velké množství esenciálních, pro organismus nezbytných, mastných kyselin, mezi které se řadí kyselina linolová a kyselina α– a γ–linolenová. Kyselina linolová se nachází rovněž v rostlinách jako je pupalka, slunečnice, len a sója a lidské tělo je z ní schopno syntetizovat kyselinu γ–linolenovou [4, s. 32].

Na Obr. 2 je pro porovnání znázorněn obsah mastných kyselin ve vybraných rostlinných olejích (konopný, lněný, slunečnicový, sójový, dýňový, řepkový, olivový).



Obr. 2. Obsah mastných kyselin v rostlinných olejích [20].

Obsah mastných kyselin získaných extrakcí superkritickým CO_2 za různých podmínek a extrakcí n-hexanem je uveden v Tab. 3. Z naměřených hodnot je patrné, že se obsah mastných kyselin v závislosti na použitých druzích extrakce téměř neliší.

Tab. 3. Obsah mastných kyselin získaných superkritickou extrakcí a extrakcí n-hexanem dle Soxhleta [12, s. 403].

Obsah MK [%]	Extrakce superkritickým CO_2						Soxhlet
	A	B	C	D	E	F	
Palmitová	5.19	5.13	5.36	5.23	5.07	5.05	5.37
Stearová	1.57	1.56	1.45	1.74	1.75	1.7	1.56
Olejová	10.99	11.30	11.31	11.11	11.33	11.46	11.51
Linolová	59.77	59.23	59.49	59.30	59.33	59.45	59.16
γ–linolenová	3.42	3.58	3.46	3.50	3.49	3.39	3.48
α–linolenová	18.15	18.20	17.95	18.12	18.04	18.01	17.96
Eikosanová	0.78	0.81	0.81	0.79	0.79	0.78	0.80
Behenová	0.13	0.20	0.16	0.18	0.18	0.17	0.18
Celkový obsah esenciálních MK	77.92	77.43	77.45	77.43	77.38	77.40	77.12
ω-6/ω-3	3.29	3.25	3.31	3.29	3.28	3.25	3.29
Celkový obsah polynenasycených MK	81.35	81.00	80.91	80.93	80.87	80.85	80.60
Mononenasycené	11.12	11.49	11.47	11.30	11.51	11.63	11.66
Nasycené	7.54	7.51	7.62	7.77	7.61	7.52	7.74
Polynenasycené/Nasycené	10.79	10.79	10.62	10.42	10.62	10.76	10.42

Poznámka: A: 40 °C, 300 bar, 45 kg CO_2/kg semen; B: 60 °C, 300 bar, 60 kg CO_2/kg semen; C: 80 °C, 300 bar, 30 kg CO_2/kg semen; D: 40 °C, 400 bar, 60 kg CO_2/kg semen; E: 60 °C, 400 bar, 30 kg CO_2/kg semen; F: 80 °C, 400 bar, 45 kg CO_2/kg semen.

V konopném oleji lisovaném za studena od firmy Cannaderm byl stanoven obsah jednotlivých mastných kyselin, který je uveden v Tab. 4. Analýza oleje byla provedena metodou plynové chromatografie (GC) [4, s. 32].

Tab. 4. Obsah MK v konopném oleji stanovený metodou GC [4, s. 32].

Mastná kyselina	Počet uhlíků	Obsah [hm. %]
Palmitová	16:0	6.38
Palmitolejová	16:1	0.17
Stearová	18:0	2.55
Olejová	18:1	14.58
Linolová	18:2; ω-6	54.79
α–linolenová	18:3; ω- 3	15.87
γ–linolenová	18:3; ω- 6	3.12

Vliv způsobu získávání oleje na jeho typické vlastnosti byl sledován ve studii [2] na konopných olejích firmy Cannaderm. Cílem této studie bylo porovnat olej lisovaný za studena a olej extrahovaný pomocí CO_2. Za tímto účelem byly stanoveny peroxidové číslo, číslo zmýdelnění, jodové číslo, číslo kyselosti, obsah vlhkosti a těkavých látek, nezmýdelnitelný podíl a obsah barviv. Vyhodnocení studie uvádí Tab. 5.

Tab. 5. Kvalitativní charakteristika konopného oleje lisovaného a extrahovaného [2].

Ukazatel	Olej lisovaný	Olej extrahovaný CO_2
Peroxidové číslo [mekv $0_2.kg^{-1}$]	12.62	18.20
Číslo zmýdelnění [mg $KOH.g^{-1}$]	189.70	193.33
Číslo jodové [g $I_2.100\ g^{-1}$]	155.67	154.43
Číslo kyselosti [mg $KOH.g^{-1}$]	4.14	0.96
Obsah vlhkosti a těkavých látek [% hm.]	0.16	0.18
Nezmýdelnitelný podíl [% hm.]	1.44	2.27
Obsah feofytinů [$mg.kg^{-1}$]	9.12	38.65
Obsah karotenoidů [$mg.kg^{-1}$]	3.73	19.58

U obou olejů byly zjištěny odlišnosti v hodnotách peroxidového čísla, což je způsobeno odlišným zpracováním semene před lisováním nebo extrakcí. Číslo zmýdelnění i jodové číslo má u olejů podobné hodnoty. Číslo kyselosti je u lisovaného oleje vyšší, což odpovídá vyššímu obsahu volných mastných kyselin v tomto oleji. Obsah vlhkosti a těkavých látek se v olejích téměř neliší. Podíl nezmýdelnitelných látek je vyšší u oleje získaného extrakcí. Rozdíl je způsoben účinkem oxidu uhličitého na tyto látky v buněčných membránách. Olej extrahovaný pomocí CO_2 vykazoval rovněž vyšší obsahy

feofytinů a karotenoidů, což je způsobeno opět účinky CO_2 na tyto látky obsažené v buňkách [2, s. 55].

1.2.1.1 Zdravotní účinky mastných kyselin

Zdravotní přínos konopného oleje souvisí především s přítomností výše uvedených nenasycených mastných kyselin, které mají protizánětlivé, antitrombotické, antiarytmické a hypolipidemické vlastnosti [17, s. 37]. Konopný olej obsahuje 50 – 70 % kyseliny linolové, 15 – 25 % kyseliny α-linolenové a 1 – 4 % kyseliny γ–linolenové. Pro lidskou výživu je velmi důležitý poměr kyselin řady ω-6 a ω-3 [4, s. 32]. Typický poměr podílu kyseliny linolové a kyseliny α–linolenové činí v konopném oleji přibližně 3:1 [21]. Nejnovější poznatky ukazují, že nejoptimálnější poměr ω-6:ω-3 je 2:1 až 3:1. Pro porovnání lze uvést, že tento poměr se v moderní západní dietě blíží 15 – 20:1 a převažují v ní tedy ω-6 kyseliny. Nadměrný příjem ω-6 kyselin však negativně ovlivňuje vývoj mnoha civilizačních chorob, jako jsou hypertenze, obezita, diabetes, astma, deprese, autoimunní choroby nebo rakovina [22, s. 86 – 89], [23, s. 366 – 367].

Jak již bylo zmíněno, poměr kyselin ω-6:ω-3 je v západní stravě přibližně 15 – 20:1. V prevenci kardiovaskulárních onemocnění bylo při dietě s poměrem mastných kyselin 4:1 pozorováno snížení celkové úmrtnosti o 70 % pozorovaných jedinců. Klinické výzkumy prokázaly, že strava obsahující mastné kyseliny ω-6:ω-3 v poměru 2.5:1 způsobila snížení buněčné proliferace u pacientů s kolorektálním karcinomem, zatímco kyseliny ω-6:ω-3 v poměru 4:1 již neměly na proliferaci žádný vliv. Snížení poměru ω-6:ω-3 rovněž snížilo riziko rakoviny prsu. Mastné kyseliny ω-6:ω-3 v poměru 5:1 příznivě ovlivnily zdravotní stav pacientů s astmatem, zatímco zvýšení obsahu ω-6 kyselin (10:1) působilo nepříznivě. Z těchto studií je patrné, že optimální poměr mastných kyselin ve stravě a možnost ovlivnit jimi zdravotní stav člověka závisí na typu a závažnosti onemocnění [23, s. 365].

V posledních dvou desetiletích bylo pomocí technik molekulární biologie prokázáno, že náchylnost k nemocem je určena především genetickými faktory, dále potom faktory životního prostředí. Je proto jasné, že výživa má v tomto ohledu zásadní význam. V lidské stravě se v průběhu posledních 10000 let uskutečnily velké změny, zatímco změny v genech byly jen velmi malé (asi 0.005 %). Strava se velmi změnila a to zejména co se týká příjmu typů a množství esenciálních mastných kyselin, tuků a antioxidantů

v potravinách [23, s. 365 – 366]. Proto zdravotní odborníci doporučují, aby byla omezena spotřeba tuku na 30 % celkového nutričního příjmu [18, s. 6].

1.2.2 Obsah tokoferolů

Důležitou složkou olejnatých semen jsou tokoferoly a tokotrienoly. Tokoferoly, označované jako vitamin E, působí jako přírodní antioxidanty proti oxidační degradaci oleje a jsou důležité i v lidské výživě. Jsou schopny snížit riziko kardiovaskulárních chorob, rakoviny, uplatňují se také v kosmetice proti stárnutí pokožky. Mezi tokoferoly je řazen také plastochromanol-8, který má podobnou strukturu. Plastochromanol-8 je proti oxidační degradaci účinnější než tokoferoly, zatímco tokoferoly jsou účinnější než tokotrienoly [1, s. 657].

Obsah tokoferolů v konopném oleji stanovil Matthäus et al. [24] na 80 mg/100 g, přítomnost tokotrienolů nebyla ve sledovaném oleji zjištěna. Podobné hodnoty koncentrace tokoferolů určili Oomah et al. [25], kteří stanovili jejich obsah na 79.7 mg/100 g. V oleji převládal γ–tokoferol, který představuje 85 % celkového množství tokoferolů. Obsah dalších tokoferolů v oleji byl nízký, přibližně 5 % α–tokoferolu a δ–tokoferolu a méně než 1 % β–tokoferolu a plastochromanolu-8 [24], [25]. Bylo prokázáno, že γ–tokoferol má významné antioxidační účinky *in vitro* i při koncentraci nižší než 50 μg/g. Kromě toho je γ–tokoferol ve srovnání s α–tokoferolem účinnější při prevenci ischemické choroby srdeční. Nejdůležitější je schopnost γ–tokoferolu působit jako protinádorová látka, konkrétně u rakoviny tlustého střeva [17, s. 48].

1.2.3 Obsah fytosterolů

Další složkou olejů jsou fytosteroly, které snižují obsah LDL a celkového cholesterolu v krvi, což přispívá ke snížení rizika aterosklerózy. Sdílí totiž společné mechanismy adsorpce s cholesterolem a ovlivňují tak metabolismus cholesterolu uvnitř buněk. Obsah fytosterolů v konopném oleji je 5.2 g/kg oleje. β-sitosterol jako hlavní složka tvoří 70 % celkového obsahu fytosterolů. Mezi další významné fytosteroly je řazen kampesterol, stigmasterol a D5-avenasterol [1, s. 658], [26, s. 337 – 341].

1.2.4 Obsah tetrahydrocannabinolu a ostatních kanabinoidů

V potravinách, které byly vyrobeny ze semen konopí, může být detekováno stopové množství tetrahydrocannabinolu (THC) a dalších kanabinoidů, především kanabidiolu

(CBD). Množství kanabinoidů závisí na čištění semen před lisováním, protože jsou obsaženy v pryskyřici a při nedokonalém čištění se dostanou do oleje. Nicméně toto stopové množství nemá žádný významný negativní dopad na lidské zdraví [27, s. 70 – 71], [17, s. 36 – 37].

1.2.5 Obsah methyl salicylátu

Methyl salicylát je prospěšnou složkou konopného oleje, i když se v něm vyskytuje jen ve stopovém množství. Methyl salicylát se hydrolyzuje na kyselinu salicylovou, aktivní složku aspirinu. Farmakologické účinky methyl salicylátu jsou tedy podobné účinkům aspirinu, který je využíván pro své antipyretické, protizánětlivé a analgetické vlastnosti [17, s. 49].

1.3 Využití a účinky konopného oleje

V dnešní době je konopný olej nejvíce využíván jako poživatina a jako produkt v péči o pleť. Krémy na obličej, tělová mléka, mýdla, balzámy na rty, šampony, kondicionery či masážní oleje jsou jenom některé z dostupných produktů s jeho obsahem [18, s. 3].

Konopný olej je vzhledem ke svým antibakteriálním a regeneračním vlastnostem důležitou látkou především při prevenci kožních chorob a dokáže při poškození kůže podpořit její přirozenou regeneraci. V kosmetickém použití se uplatňují také jeho protizánětlivé účinky. Antioxidantům přítomným v konopném oleji je přisuzována schopnost vázat volné radikály poškozující buňky lidského organismu. Konopný olej může podpořit výživu a energetické zásobovaní buněk, upravovat jejich hospodaření s vodou a napomáhat odstraňování odumřelých buněk. Zdravé buňky znamenají zlepšení funkce orgánů, orgánových systémů i celého organizmu. Posiluje rovněž odolnost kůže vůči vnějším dráždivým vlivům [28].

Lipidy v kůži jsou tvořeny převážně steroly, mastnými kyselinami a ceramidy. Ceramidy se skládají z bazického alkoholu, kterým může být sfingozin nebo fytosfingozin, na jehož primární aminoskupinu v poloze 2 se amidicky váže mastná kyselina. Ceramidy na bázi nenasycených mastných kyselin tvoří zhruba 18 % vnější vrstvy pokožky. Množství ceramidů s věkem klesá, což má přímou souvislost se snižováním hydratace kůže. Ceramidy vytváří dvojvrstvy, ale také vzájemně propojené lamely. Velmi významné jsou ceramidy, které obsahují ω-hydroxykyselinu o délce cca 30 uhlíků, na jejíž konec je navázána kyselina linolenová. Rozeznáváme 9 typů ceramidů, které mají specifické kosmetické účinky. Například nejvíce zastoupenou složkou ceramidu 1 je kyselina γ–linolenová, která hraje zásadní úlohu

v zachování optimální vlhkosti pokožky. Vzhledem k tomu, že konopný olej tuto nenasycenou mastnou kyselinu obsahuje, je možné jeho topickou aplikací podpořit obnovu optimálního složení lipidové vrstvy a regeneraci pokožky. Důležitou roli při regeneraci pokožky a zmírnění příznaků jejího stárnutí hraje i vitamin E, který je v konopném oleji rovněž zastoupen. Protizánětlivé účinky mastných kyselin linolové a linolenové mohou pozitivně působit i na akné a zmírnit jeho projevy [29], [30, s. 55 – 58].

Ve studii, která zkoumala vliv perorálního podávání konopného oleje (30 ml/den), bylo dosaženo pozitivních výsledků, jako je: zlepšení suchosti kůže, svědění a snížení dodatečného používání dermatologik. Tento efekt se dá vysvětlit právě zlepšením membránových funkcí, které nastává díky příjmu polynenasycených mastných kyselin v metabolicky optimálním poměru, kde je kyselina linolová významnou složkou ceramidů, které zastávají důležité bariérové funkce [19, s. 88], [27, s. 70].

Pozitivní účinky konopného oleje byly prokázány například při léčbě lupénky, chronického zánětlivého kožního onemocnění, dále u chorob jako je astma, ulcerózní kolitida, Crohnova nemoc nebo revmatoidní artritida. Často se ovšem jedná o multifaktoriální onemocnění, kde je nerovnováha příjmu esenciálních mastných kyselin pouze jedním článkem řetězce etiopatogeneze. Ve studiích prováděných s konopným olejem bylo rovněž zjištěno, že jeho dostatečný příjem ovlivňuje hladinu sérových lipidů, přičemž dochází ke snižování LDL a zvyšování hladiny HDL lipoproteinů [19, s. 88].

Rozšíření použití konopného oleje v kosmetických a farmaceutických preparátech vedlo k tomu, že byl konopný olej notifikován podle směrnice 98/34/ES, pod číslem CZ0582/2009 a je registrován pod názvem *Cannabis Sative Oleum* jako schválená farmaceutická surovina/složka pro výrobu léčivých a pomocných látek, tedy výrobu a přípravu léčivých přípravků, v doplňku Českého lékopisu (1. září 2010) jako oficiální součást lékopisných norem Evropské unie [31].

1.4 Charakterizace tuků a olejů

Metody popisované v této kapitole představují pouze některé z mnoha testů, které jsou používány k charakterizaci tuků a olejů.

1.4.1 Stanovení tukových čísel

Vzorky tuků a olejů lze charakterizovat různými metodami. K jejich popisu často slouží jednoduché chemické metody, označované jako skupinová stanovení, jako je například

číslo zmýdelnění, jodové číslo, číslo kyselosti nebo esterové číslo. V následujícím textu jsou jednotlivé metody popsány.

1.4.1.1 Číslo kyselosti

Číslo kyselosti udává množství hydroxidu draselného (v mg) potřebné k neutralizaci volných mastných kyselin obsažených v 1 g tuku a je tedy mírou obsahu volných mastných kyselin [32, s. 41]. U rafinovaných tuků znamená vysoká kyselost špatnou rafinaci nebo špatný způsob uskladnění a použití. Číslo kyselosti lze rovněž použít jako měřítko stupně žluknutí [33, s. 235].

1.4.1.2 Číslo zmýdelnění

Zmýdelnění je proces rozkladu tuku na glycerol a volné mastné kyseliny působením alkálií [33, s. 234]. Číslo zmýdelnění je vyjadřováno jako hmotnost hydroxidu draselného (v mg) potřebného ke zmýdelnění 1 g tuku a neutralizaci volných mastných kyselin. Množství hydroxidu draselného potřebného pro zmýdelnění se zvyšuje s klesající délkou mastných kyselin v řetězci. Číslo zmýdelnění odráží průměrnou délku řetězce mastných kyselin příslušného tuku. Udává obsah veškerých mastných kyselin [32, s. 41], [34, s. 711].

1.4.1.3 Jodové číslo

Jodové číslo udává množství halogenu (přepočtené na jod) v gramech, které se váže za stanovených podmínek na 100 g tuku. Princip stanovení spočívá v adici známého množství halogenu na dvojnou vazbu a zjištění nezreagovaného činidla titrací thiosíranem. Je měřítkem nenasycenosti tuku, tedy obsahu dvojných vazeb. Jodové číslo se používá například pro charakterizaci oleje, ke sledování hydrogenačního procesu při rafinaci a také jako metoda zjišťování oxidace, protože během oxidace nenasycenost klesá [32, s. 41 – 42], [33, s. 233 – 234].

1.4.1.4 Esterové číslo

Esterové číslo udává množství hydroxidu draselného (v mg) potřebného ke zmýdelnění esterů obsažených v 1 g tuku. Hodnota esterového čísla se stanoví jako rozdíl mezi číslem zmýdelnění a číslem kyselosti [32, s. 41], [34, s. 711].

1.4.2 Stanovení stability tuků a olejů

Kapitola stanovení stability tuků a olejů je zaměřena především na sledování jejich oxidační stability. Nejběžnějším typem oxidace tuků je autooxidace. Probíhá při běžné i zvýšené teplotě. Reakce se zúčastňují především nenasycené mastné kyseliny. U nasycených probíhá pouze za vysoké teploty, např. při smažení. Primárním produktem autooxidace jsou hydroperoxidy, které jsou nestabilní, rychle se rozkládají a iniciují tvorbu široké řady sekundárních oxidačních produktů, ze kterých je možno jmenovat oxokyseliny, hydroxykyseliny, ketokyseliny, aldehydy, ketony nebo uhlovodíky. Uhlovodíky způsobují žluklou chuť tuků v prvních stádiích oxidace, aldehydy v pokročilých stupních oxidace. Oxidaci esenciálních mastných kyselin způsobují i enzymy lipoxygenasy a to v potravinách, které neprošly tepelnou úpravou. V rafinovaných olejích a tepelně upravených potravinách jsou lipoxygenasy odstraněny, což eliminuje nebezpečí enzymového žluknutí [35, s. 31 – 42], [33, s. 237], [36, s. 194].

Jelikož oxidované lipidy vykazují nízkou akutní toxicitu, byl jejich účinek na lidské zdraví dlouhou dobu podceňován. Bylo však zjištěno, že vyšší obsah hydroperoxidů v potravě způsobuje příznaky deficitu vitaminu E a esenciálních mastných kyselin a zvyšuje rovněž propustnost pokožky pro vodu. Oxidované lipidy se hůře enzymově štěpí a obtížněji stravují. Vyšší příjem oxidovaných lipidů zvyšuje jejich hladinu v krevním séru a oxidované mastné kyseliny a z nich vzniklé radikály mohou reagovat s některými bílkovinami krevního séra a cévních stěn za vzniku aterosklerotických usazenin. Reaktivní oxidační produkty lipidů také reagují s proteiny a nukleovými kyselinami, čímž mohou usnadnit vznik zhoubného nádorového bujení. Proto je doporučeno při vyšším příjmu oxidovatelných lipidů zvýšit příjem antioxidantů [37, s. 187].

K měření oxidačních produktů bylo vyvinuto mnoho metod. Kvalita tuku nebo oleje s ohledem na oxidační stabilitu může být hodnocena pomocí tukových čísel, měřením obsahu konjugovaných dienových a trienových mastných kyselin, plynovou chromatografií, kapalinovou chromatografií a dalšími metodami.

1.4.2.1 Schallův test

Principem testu je zahřívání vzorku při teplotě 60 °C a průběžné vzorkování ve vhodných časových intervalech. U odebraných vzorků se pak vhodnou metodou stanoví stupeň oxidace tuku [36, s. 198], například pomocí peroxidového, anisidinového, thiobarbiturového čísla nebo také ze změn hmotnosti. Podle závislosti stupně oxidace

na počtu dnů tepelného namáhání tuku je sestavena křivka závislosti sledovaného parametru na době oxidace a je určena indukční perioda [32, s. 53], [34, s. 717 – 719].

1.4.2.2 Peroxidové číslo

Pomocí peroxidového čísla se zpravidla stanoví obsah primárních oxidačních produktů. Peroxidové číslo je jednou z nejběžnějších testů oxidace lipidů. Nízká hodnota peroxidového čísla může představovat buď začátek oxidace, nebo pokročilou oxidaci. Výsledek je vyjádřen v mikroekvivalentech aktivního kyslíku na 1 kg vzorku. Vysoce kvalitní, čerstvé oleje mají peroxidové číslo velmi nízké. Peroxidové číslo vyšší než 20 mEq značí nekvalitní tuky a oleje. Stanovení může rušit vyšší obsah bílkovin v tuku, ale také velké množství peroxidů. Současně se stanovením peroxidového čísla se v praxi často provádí stanovení benzidinového nebo thiobarbiturového čísla [33, s. 237 – 238], [38, s. 301 – 302].

1.4.2.3 Anisidinové číslo

Hodnota anisidinového čísla udává množství nenasycených aldehydů, tedy sekundárních produktů oxidace v tucích a olejích. Aldehydy reagují s p-anisidinem za vzniku chromogenu, který se stanoví spektrofotometricky při 350 nm. Výsledky jsou srovnatelné pro tuky obdobného složení a oxidované za podobných podmínek [33, s. 238], [38, s. 302 – 303].

1.4.2.4 Thiobarbiturové číslo

Thiobarbiturovým testem se měří sekundární produkt oxidace lipidů, malondialdehyd. Metoda je vhodná pro tuky obsahující polyenové mastné kyseliny a tuky v počátečních stadiích žluknutí. Principem je reakce kyseliny 2-thiobarbiturové s malondialdehydem za vzniku barevné sloučeniny, která je měřena spektofotometricky při 530 nm. Hodnoty naměřené absorbance jsou obvykle přepočteny a thiobarbiturové číslo je vyjádřeno jako mg malondialdehydu na kilogram vzorku [33, s. 239], [38, s. 304].

1.4.2.5 Stanovení konjugovaných dienových, trienových MK

Systém konjugovaných dvojných vazeb se v přírodních lipidech běžně nevyskytuje a vzniká oxidací polyenových mastných kyselin. Je pro něj typické, že je silným UV chromoforem a lze jej proto stanovit spektrofotometricky. Konjugované dieny

mají charakteristická absorpční maxima při 233 nm a konjugované trieny při 268 a 278 nm. [33, s. 239].

1.4.2.6 Index lomu

Měřením indexu lomu se zabývá refraktometrie, která patří do skupiny optických metod. Index lomu je definován poměrem rychlostí světelného záření ve vakuu k rychlosti světelného záření v měřené látce [39, s. 73]. Z teoretického hlediska je ideálním prostředím vakuum, z praktického hlediska je to vzduch [40, s. 56]. Dopadá-li paprsek na rozhraní dvou prostředí pod úhlem α, láme se a v druhém prostředí pokračuje pod úhlem β. Průchod světla rozhraním dvou prostředí o indexech lomu n_1 a n_2 se řídí Snellovým zákonem:

$$n_{1,2} = \frac{n_2 \sin \alpha}{n_1 \sin \beta} \tag{1}$$

Protože je rychlost paprsků v reálném prostředí různá a hustota prostředí je závislá na teplotě, závisí index lomu na teplotě a dále na vlnové délce. Index lomu je nejčastěji měřen při vlnové délce sodíkové výbojky značené písmenem D (dublet 589.0 nm), např. $\mathbf{n_D^{25}}$ [39, s. 73]. [41, s. 395].

Měřením indexu lomu je možno kontrolovat čistotu chemických individuí, popř. obsah příměsí. Nejčastěji je tato metoda využívána při identifikaci čistých organických rozpouštědel nebo pevných krystalických látek především anorganického původu [40, s. 57], [42, s. 270].

V tucích je využíván index lomu při kontrole průběhu hydrogenace, jedná se totiž o veličinu citlivou na složení mastných kyselin. Index lomu se zvyšuje s rostoucí délkou mastné kyseliny v triacylglycerolu a se stupněm nenasycenosti mastných kyselin v triacylglycerolu [43].

1.4.3 Metody analýzy

V následující části práce jsou popsány nejčastěji používané metody pro analýzu tuků a olejů. Jedná se o plynovou chromatografii, kapalinovou chromatografii a diferenční skenovací kalorimetrii.

1.4.3.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) se řadí mezi separační analytické metody. Využívá rozdělení koncentrace analytu mezi stacionární a mobilní fázi na základě adsorpce nebo rozpouštění [44, s. 94]. Mobilní fází je zpravidla inertní plyn, stacionární fází je nejčastěji kapalina zakotvená na inertním nosiči, který nesmí chemicky reagovat se zakotvenou fází, ani se složkami analyzované směsi [45, s. 116], [40, s. 10], [46]. Jeho sorpční aktivita musí být minimální a specifický povrch relativně malý [47, s. 232]. Plynová chromatografie je využívána především v analýze těkavých látek. Je možné identifikovat nejen plyny, ale i veškeré látky, které lze převést do plynného stavu [47, s. 243].

Před analýzou tuků a olejů pomocí plynové chromatografie je nutno vzorek převést na nízkomolekulární nepolární deriváty, kterými jsou methylestery [46]. Nejprve se provede zmýdelnění acylglycerolů v oleji, poté následuje esterifikace volných mastných kyselin v alkalickém prostředí methanolu.

Při analýze je vzorek dávkován do proudu plynu, který jej unáší kolonou. V koloně se složky separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi [40, s. 11 – 12]. Vzhledem k vysoké citlivosti chromatografických analýz je potřeba pouze malého množství vzorku, obvykle stačí méně než 1 mg, u některých sloučenin je umožněna detekce vzorku v řádech pikogramů [46], [48, s. 31].

Zařízení plynové chromatografie se skládá ze tří základních částí: injektoru, kolony a detektoru. Detektory jsou zařízení, jejichž úkolem je detekovat v nosném plynu složky, které opouští chromatografickou kolonu. Od detektoru je vyžadována rychlá odezva, vysoká citlivost a stabilita signálu [45, s. 151].

V plynové chromatografii se vyžívají tyto detektory [44, s. 130 – 135]:

- hmotnostně spektrofotometrický detektor
- plamenově ionizační detektor
- detektor elektronového záchytu
- detektor tepelně vodivostní

Záznamem z chromatografické analýzy je chromatogram, ze kterého lze vyhodnotit retenční parametry jednotlivých signálů, plochy a výšky píků. Podle polohy píku lze určit identitu stanovované látky. Plocha píku je úměrná množství látky ve vzorku [49, s. 1].

Hlavními výhodami plynové chromatografie je rychlost a jednoduchost provedení analýzy, účinná separace látek a malé množství vzorku potřebného k analýze [48, s. 31], [47, s. 205 – 243].

Poustková I. a kol [2] provedli analýzu konopného oleje metodou plynové chromatografie za těchto podmínek: GC Varian Star 3600 s FID: CP WAX 57 CB (25 m x 0.32 mm x 1.2 μm), teplota nástřiku 250 °C, teplotní program: 150 °C po dobu 1 minuty, 5 °C/min do 230 °C, výdrž 5 min, 20 °C/min do 260 °C, výdrž 10 min, teplota detektoru 280 °C, nástřik 1 μl, nosný plyn N_2, 1.5 ml/min.

1.4.3.2 Vysoce účinná kapalinová chromatografie

Vysoce účinná kapalinová chromatografie je často nazývána pouze zkratkou HPLC a představuje pokročilou analytickou techniku odvozenou od chromatografie kapalinové [48, s. 63], [44, s. 136]. Mobilní fází je kapalina, stacionární fázi tvoří film látky zakotvený na povrchu nosiče nebo pevný adsorbent. Na rozdíl od plynové chromatografie není mobilní fáze inertní, ale významně se podílí na separačním procesu [44, s. 136 – 140]. Aby bylo dosaženo přijatelného průtoku kolonami a přijatelné doby analýzy, je třeba pracovat při vyšších tlacích [44, s. 136], [47, s. 163].

Kapalinový chromatograf je složen ze zásobníku mobilní fáze, vysokotlakého čerpadla, které zabezpečuje transport mobilní fáze kolonou, dávkovače vzorků, chromatografické kolony, kde se složky vzorku separují a detektoru. Dávkovač, kolona i detektor bývají uloženy v termostatu. Přístroj doplňuje zařízení pro záznam a ukládání signálu detektoru [47, s. 188 – 189].

V kapalinové chromatografii se jako detektory nejčastěji používají [48, s. 80 – 87]:

- spektrofotometrický detektor
- refraktometrický detektor
- fluorescenční detektor

HPLC analýza je ve srovnání s GC analýzou mnohem méně citlivá na teplotu kolony a průtokovou rychlost mobilní fáze. Je však citlivá na složení a pH mobilní fáze. Výhodou kapalinové chromatografie je široká oblast použitelnosti: lze analyzovat ionty, látky polární a nepolární, látky termolabilní (např. vitaminy a jiné), které by při použití plynové chromatografie degradovaly. Nevýhodou ve srovnání s GC je náročnější instrumentace a složitější mechanismus separace [44, s. 136 – 140]. HPLC doplňuje aplikační možnosti

plynové chromatografie zejména v oblasti dělení látek netěkavých nebo nestálých za vyšší teploty [47, s. 163].

V analýze tuků a olejů lze kapalinovou chromatografii využít například pro analýzu methylesterů mastných kyselin nebo polymerů triacylglycerolů v oxidovaných tucích.

HPLC na reverzní fázi lze analyzovat např. methylestery mastných kyselin, mono-, di- a triglyceridy. Analýzu methylesterů mastných kyselin je možno provést například za těchto podmínek [50]:

- Kolona: SUPELCOSIL LC-18, 25 cm x 4.6 mm ID, částice 5 μm
- Mobilní fáze: acetonitril:aceton (59:41), průtok: 1.0 ml/min
- Detektor: Refraktometrický R401
- Nástřik vzorku: 10 μl 9% C8 až C18 nasycených a nenasycených methylesterů v mobilní fázi

1.4.3.3 Diferenční skenovací kalorimetrie

Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) patří mezi metody termické analýzy, je využívána při studiu fázových přechodů. Při této metodě je vzorek lineárně ohříván a plynule se měří tepelný tok (elektrický příkon) potřebný k udržení izotermických podmínek u zkoumaného a referenčního vzorku. Malá tepelná kapacita systému umožňuje použít velké rychlosti ohřevu (až 80 °C/min) a zajišťuje vysokou rozlišovací schopnost. Metoda DSC nalezla v praxi uplatnění pro svou experimentální jednoduchost a dostupnost zařízení [51, s. 152 – 155]. Zkoumaný i referenční vzorek jsou umístěny v jednokomorové peci na tepelně vodivém disku a podle určeného teplotního programu ohřívány nebo ochlazovány. Měří se rozdíl teplot mezi vzorky [52]. DSC je rychlá, snadná a schopná podávat údaje jak termodynamické (tepelná kapacita, entalpie, entropie), tak i kinetické údaje (rychlost reakce a aktivační energii). Metoda může být použita pro charakterizaci polymorfních forem tuků, k vyhodnocení průběhu hydrogenace nebo také ke zkoumání fyzikálního stavu a vlastností vody v potravinách [53, s. 239].

Charakterizaci konopného oleje pomocí teplotně modulované DSC provedli ve své práci Oomah a kol. [54], kteří sledovali vlastnosti komerčně dostupného oleje čerstvého a oleje podrobeného mikrovlnnému záření. Při interpretaci výsledků z teplotně modulovaného DSC je třeba brát v úvahu, že metoda umožňuje rozložení signálu celkového tepelného toku na jeho termodynamickou (reverzibilní) a kinetickou složku (nereverzibilní). Autoři

práce tedy touto metodou zjistili, že čerstvý konopný olej vykazuje tři termální strukturní přechody mezi teplotami – 39 °C a – 17 °C. Dva reverzní přechody, indikující tání krystalické struktury oleje byly pozorovány při teplotách – 36 °C a mezi – 17 °C a – 27 °C a odpovídají přítomnosti polymorfních forem α a β. Na křivkách nereverzibilní složky, na kterých jsou patrné kinetické děje, jako např. krystalizace a rekrystalizace, byly detekovány při rychlosti chlazení vyšší než 1 °C/min tři fázové přechody v rozmezí teplot – 39 °C až – 18 °C. Jsou důsledkem rekrystalizace metastabilních forem α, β' a krystalizace formy β. Výsledků bylo dosaženo při použití následujících analytických podmínek:

- Vzorek a referenční pánvičky byly ponechány v kalorimetru při teplotě 70 °C po dobu 5 minut. Teplota byla snížena ze 70 °C na – 65 °C rychlostí 1 °C/min s periodou modulace 60 sekund a teplotní amplitudou 0.16 °C. Vzorky byly poté udržovány při teplotě – 65 °C po dobu 1 minuty a potom opět stejnou rychlostí ohřívány na 70 °C. Analýzy byly provedeny za různých rychlostí ochlazování vzorku od 0.5 do 20 °C/min.

Standardní DSC metodu pro charakterizaci rostlinný olejů použili Tan a Che Man [55], kteří navažovali do hliníkových pánviček vzorky o hmotnosti 6 – 12 mg. Chlazení a ohřev definovali pomocí dvou různých teplotních programů sestávajících z následujících kroků:

- 1) Roztavení vzorku při teplotě 80 °C následované izotermní temperancí při této teplotě po dobu 5 minut, 2) ochlazení rychlostí 5 °C/min na – 80 °C a opětovná temperance při této teplotě podobu 5 minut, 3) zahřívání z – 80 °C na 80 °C rychlostí 5 °C/min.
- 1) Roztavení vzorku při 50 °C s temperancí při této teplotě 5 minut, 2) ochlazení rychlostí 5 °C/min na – 100 °C a 5 minutová temperance, 3) zahřívání z – 100 °C na 50 °C rychlostí 5 °C/min.

V této práci bylo srovnáno chování řady rostlinných olejů s různým zastoupením nenasycených mastných kyselin (například olivový, řepkový, světlicový, sezamový, slunečnicový) při jejich tání a krystalizaci a výsledky analýz termální analýzy byly korelovány se složením studovaných olejů. V závěru bylo konstatováno, že metoda DSC poskytla užitečné informace o povaze termodynamických změn, které jsou spojeny s fázovými přechody probíhajícími v jedlých olejích spojenými s transformací z jedné polymorfní fáze do druhé. Tyto termodynamické vlastnosti jsou citlivé na chemické

složení jedlých olejů a lze je v principu použít pro jejich kvalitativní a kvantitativní charakterizaci. Autoři studie zjistili, že dva parametry DSC analýzy, a to teplota počátku třífázového přechodu (onset temperature T_o) při krystalizaci a teplota tání píku (peak melting temperature T_m) na křivce tání jsou citlivými indikátory umožňujícími identifikovat jednotlivé druhy jedlých olejů. Jedním z kritických omezení při této aplikaci je závislost tepelných přechodů na rychlosti ohřevu (chlazení). Pokud však jsou jedlé oleje analyzovány při stejné rychlosti ohřevu/chlazení, poskytuje DSC citlivý, rychlý a reprodukovatelný fingerprint daného oleje, který je vhodný pro kontrolu jeho kvality.

2 EMULZE

V praxi se setkáváme jak s přirozenými, tak i uměle připravenými emulzemi a to v potravinářském průmyslu, v průmyslu plastických hmot, ve farmacii, kosmetice, v zemědělství i dalších oborech [56, s. 172]. Mezi kosmetické emulze patří pleťové krémy, tělová mléka, čistící vody nebo lotiony, které zaujímají velkou část trhu, a proto jim bude věnována následující část práce.

Emulze jsou disperze kapaliny v kapalném disperzním prostředí. Kapaliny, které vytváří emulzi, musí být omezeně mísitelné nebo se nesmí mísit vůbec [56, s. 172]. Emulze jsou agregátně nestálé. Aby byla zajištěna jejich dostatečná životnost, je nutná jejich stabilizace. Jako metody stabilizace lze použít stabilizaci elektrickou dvojvrstvou, stabilizaci pomocí adsorpce polymeru a nejpoužívanější je stabilizace pomocí emulgátoru [57, s. 269].

2.1 Klasifikace

V následující kapitole jsou emulze klasifikovány podle charakteru disperzního podílu a prostředí, podle koncentrace disperzního podílu a podle velikosti částic.

2.1.1 Dle charakteru disperzního podílu a prostředí

Podle polarity disperzního podílu a disperzního prostředí se emulze dělí na [58], [59, s. 42]:

- přímé emulze (prvního druhu) – označovány jako O/V (olej ve vodě), přičemž disperzním prostředím je polárnější kapalina, většinou voda nebo vodný roztok;
- nepřímé emulze (druhého druhu) – označovány jako V/O (voda v oleji), ve kterých je disperzním prostředím méně polární kapalina.

2.1.2 Dle koncentrace disperzního podílu

Emulze se podle koncentrace disperzního podílu dělí na [56, s. 172], [58]:

- zředěné emulze – ve kterých disperzní podíl zaujímá max. 2 % celkového objemu, průměr kapiček je zpravidla řádově 100 nm, tedy blízký rozměru koloidních částic;
- koncentrované emulze – emulze s nedeformovanými sférickými kapkami, které v monodisperzních systémech mohou dosáhnout koncentrace disperzního podílu

max. 74 obj. %, což odpovídá nejtěsnějšímu geometrickému uspořádání kulovitých částic;

- gelovité (vysoce koncentrované) emulze – ve kterých jsou částice disperzního podílu uloženy tak těsně, že se vzájemně deformují a nabývají tvaru mnohostěnů, oddělených od sebe tenkými filmy disperzního prostředí a emulgátoru.

2.1.3 Dle velikosti částic

Podle velikosti částic se emulze dělí na makroemulze, mikroemulze a nanoemulze. Rozmezí velikosti částic pro tyto systémy není jasně definované, proto je možné v literatuře najít i jiné hodnoty. Podle velikosti částic se emulze dělí na [60, s. 133], [61, s. 150 – 167]:

- makroemulze – velikost částic je větší než 400 nm, jedná se o kalné mléčně zbarvené a termodynamicky nestabilní disperze;
- mikroemulze – velikost částic je v rozmezí desítek nanometrů, maximálně 100 nm, jedná se o čiré termodynamicky stabilní disperze;
- nanoemulze – velikost částic se pohybuje v rozmezí 100 – 400 nm, jsou průsvitné, obvykle modrobílého vzhledu a kineticky stabilní [61, s. 150]. V publikaci Tadros a kol. [62] je však udáván rozsah velikosti nanoemulzí v rozmezí 50 až 200 nm.

2.2 Vlastnosti

V následujícím oddílu jsou popsány základní charakteristiky emulzí, jako je barva, vzhled a viskozita. Mezi důležité vlastnosti bývá řazena také stabilita, která je popsána v další kapitole.

2.2.1 Barva a vzhled

Barva a vzhled emulzí závisí na koncentraci a velikosti částic disperzního podílu a také na indexu lomu obou kapalných fází. Emulze jsou většinou kalné, koncentrovanější emulze jsou neprůhledné. Čím více se indexy lomu obou složek emulze od sebe liší, tím je zákal emulze větší. Čiré emulze pak mohou tvořit látky o stejném indexu lomu [63, s. 239].

2.2.2 Viskozita

Viskozita je jak pro technologické tak i pro potravinářské použití nejdůležitější vlastnost [63, s. 235]. Viskozita emulzí závisí mnohem více na objemovém zlomku disperzního

podílu než pouze na viskozitě disperzního prostředí a důležitou roli hraje také druh použitého emulgátoru [56, s. 175].

2.3 Stabilita a rozpad emulze

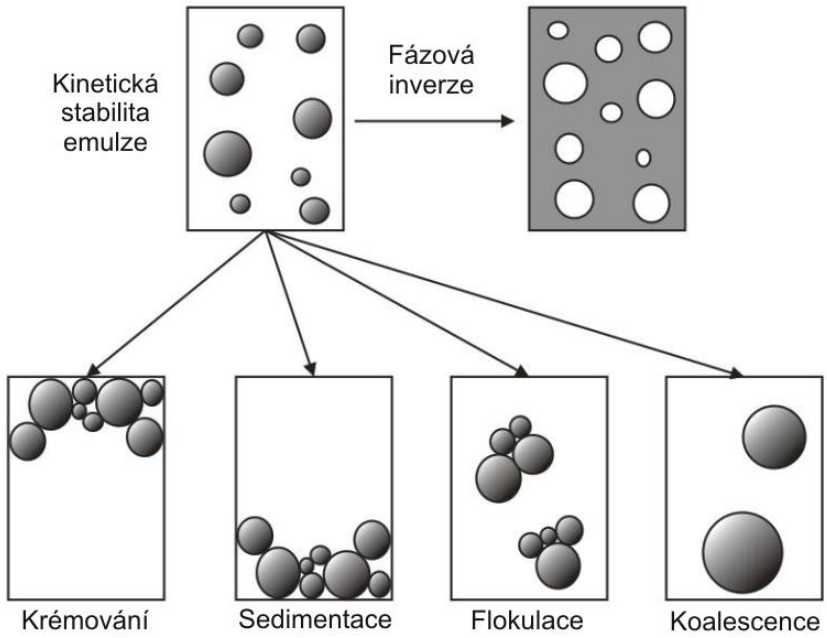
Stabilita emulzí má úzkou souvislost s jejich praktickým použitím. Stabilitu emulze lze posuzovat z termodynamického a kinetického hlediska. Termodynamická stabilita emulze je v přímé souvislosti s pravděpodobností, že daný proces tj. rozpad emulze proběhne. Kinetická stabilita udává rychlost rozpadu dané emulze [35, s. 47], [57, s. 270].

Stabilitu emulzí ovlivňuje mnoho faktorů např.: velikost částic disperzního podílu, množství disperzního podílu, hustota obou fází, teplota, přítomnost emulgátorů, mezifázové napětí a jiné faktory jako je třeba doba míchání emulze [60, s. 133], [63, s. 202 – 203].

Ve stabilní emulzi není po dobu měření patrná změna počtu, rozdělení, velikosti a prostorového uspořádání částic disperzního podílu. Nestabilita emulzí může zahrnovat celou řadu procesů, probíhající současně nebo postupně, v závislosti na daných podmínkách [64, s. 13]. Na stálost emulze mají vliv také různé okolnosti – může být různá podle toho, zda je emulze ponechána v klidu nebo vystavena otřesům, odstřeďování, změnám teploty nebo jiným vlivům, které mohou vést k jejímu zániku [56, s. 173].

Koloidní částice se vlivem působení gravitační síly pohybují ve směru působení síly, tedy sedimentují. Pohyb částic v gravitačním poli závisí na jejich hmotnosti, tvaru, hustotě a závisí také na vlastnostech prostředí, ve kterém se částice pohybuje [59, s. 13]. Mezi čtyři hlavní způsoby destabilizace emulzí patří krémování, sedimentace, flokulace a koalescence [64, s. 13].

Nestabilita emulze se projeví postupnou separací vodné a olejové fáze. Různé fyzikální mechanismy rozpadu emulze jsou uvedeny na Obr. 3 [35, s. 48].



Obr. 3: Různé mechanismy rozpadu emulze [57, s. 6].

2.3.1 Krémování

Krémování lze charakterizovat jako shromažďování dispergovaných částic v horní části systému z důvodu jejich nižší hustoty [35, s. 49]. Dispergované částice nemění svou velikost ani tvar. Proces krémování je vratný, krátké třepání způsobí návrat dispergované fáze do původního stavu [65].

2.3.2 Sedimentace

Sedimentace je obdobný proces jako krémování s tím rozdílem, že se částečky dispergované fáze usazují ve spodní části systému, jelikož mají vyšší hustotu. Obdobně jako v případě krémování je sedimentace proces vratný a kapičky dispergované fáze nemění při sedimentaci svůj objem ani tvar [65]. Vysoce koncentrované nebo gelovité emulze nesedimentují a vykazují některé mechanické vlastnosti stejné jako gely [56, s. 175].

2.3.3 Flokulace

Při flokulaci dochází k agregaci částic do větších celků při zachování jejich individuálního charakteru. Děj je nevratný. Flokulace pak urychluje rychlost sedimentace ve zředěných emulzích [35, s. 49], [57, s. 292].

2.3.4 Koalescence

Při koalescenci dochází ke spojování dvou nebo více kapek v jednu novou kapku o větším průměru. Zvětšený objem kapek pak způsobuje rychlejší sedimentaci nebo krémování emulze. Koalescence obvykle končí kompletním oddělením vodné a olejové fáze. Děj je nevratný [35, s. 49], [57, s. 310].

2.3.5 Fázová inverze

Fázová inverze je proces, při kterém dochází k výměně fází, tzn., že emulze typu O/V přechází na emulze typu V/O a naopak [35, s. 49].

2.3.6 Ostwald ripening

Ostwald ripening, neboli Ostwaldovo zrání je proces, který vyplývá z rozdílu rozpustnosti mezi malými a velkými částicemi v emulzích. Nejčastěji způsobuje problémy při destabilizaci nanoemulzí. Dochází při něm ke zvětšování průměru větších částic na úkor menších v důsledku vyššího tlaku páry nebo větší rozpustnosti menších částic. Dochází ke snižování stupně disperzity systému, které probíhá až do přeměny disperzní soustavy na soustavu hrubě disperzní, v níž jsou rozdíly rozpustnosti nebo tlaku páry částic s různou velikostí již malé a rychlost procesu je tak zanedbatelná [57, s. 330], [62, s. 311].

2.4 Příprava stabilních emulzí

Stabilní emulze mohou v menší míře vznikat samovolnou emulgací, tedy pouhým smícháním dvou kapalin, pokud je mezi oběma fázemi dostatečně malé mezipovrchové napětí. Častější je však situace, kdy je pro vznik emulze dispergované kapaliny potřeba intenzivně protřepat, podrobit vibracím pomocí míchadel, speciálních emulgátorů, koloidních mlýnů nebo ultrazvuku. Někdy se získané emulze ještě dodatečně homogenizují ve speciálních homogenizátorech různé konstrukce [56, s. 176], [59, s. 43].

K přípravě stabilních emulzí je třeba přidat látku, která umožňuje tvorbu kapének disperzního podílu**,** tedy emulgátor. Emulgátor adsorbuje na rozhraní mezi dvěma nemísitelnými kapalinami a snižuje jejich povrchové napětí, čímž je usnadněn vznik emulze těchto dvou kapalin. Emulgátor dále vytváří stabilní mezifázový film, zabraňuje koalescenci a podporuje tak stabilitu emulze [66, s. 316 – 317]. Bez přítomnosti emulgátoru vznikne nestabilní emulze, u které postupně dochází ke koalescenci [59, s. 43].

Nejčastější kritérium pro výběr emulgátoru je hydrofilně-lipofilní rovnováha (HLB). K hodnocení emulgátorů byla na základě jejich afinity k oleji a vodě vytvořena stupnice HLB s rozsahem hodnot 1 – 18. Sloučeniny s nízkou HLB hodnotou jsou lipofilní, zatímco s vyšší HLB jsou hydrofilní [67, s. 134]. V Tab. 6. je uveden rozsah HLB a možnost aplikace jednotlivých typů emulgátorů s příslušnými hodnotami HLB.

Tab. 6. Rozsah HLB a jejich aplikace [68, s. 25].

Rozsah HLB	Aplikace
3 – 6	V/O emulgátor
7 – 9	Smáčedlo
8 – 18	O/V emulgátor
13 – 15	Detergent
15 – 18	Solubilizátor

3 EMULZE ROSTLINNÝCH OLEJŮ V KOSMETICE

3.1 Příprava kosmetických emulzí O/V

V následující části práce jsou na základě literární studie uvedeny vybrané možnosti využití a přípravy kosmetických emulzí s obsahem rostlinných olejů. Jako příklad je uveden gel na oční okolí, mléko po opalování a pleťové krémy. Emulze byly připraveny s konopným, olivovým a extra panenským olivovým olejem. Po provedení formulačních studií bylo zjištěno, že připravit emulze obsahující konopný nebo olivový olej je obtížné [69, s. 227 – 246].

3.1.1 Oční gel

Emulze byla připravena s použitím konopného, olivového nebo extra virgin olivového oleje a jako reologický modifikátor s emulgační aktivitou byl použit Carbopol 1382 (Akrylát/C10-30 alkyl akryl crosspolymer – Biochim) neutralizovaný 10 % vodným roztokem NaOH. Polymer byl dispergován ve vodné fázi zahřáté na 60 °C, za stálé homogenizace pomocí Ultra-turrax T 25. Do vodné fáze pak byla přidána olejová fáze a gel byl homogenizován, dokud jeho teplota neklesla na teplotu místnosti. Takto připravený gel byl podroben formulačním studiím. Všechny druhy připravených gelů byly poměrně konzistentní a stabilní při zahřátí. Hodnoty pH byly vhodné pro použití na pleť. Reologické studie prokázaly pseudoplastické chování emulzí připravených ze všech tří typů olejů. [69, s. 236 – 243].

3.1.2 Mléko po opalování ve formě spreje

Tyto produkty jsou obvykle emulzemi s vysokou viskozitou, i když jsou aplikovány postřikem pomocí zařízení určeného pro kapaliny. V tomto případě byl jako reologický modifikátor s emulgační aktivitou použit Permulen TR-1 (Akrylát/C10-30 alkyl akryl crosspolymer – Biochim) neutralizovaný 18% vodným roztokem NaOH. Při výrobě byly používány tyto emulgátory: Tween 20 (Acef), Tween 40 (Acef), PEG-40-hydrogenovaný ricinový olej (Acef), methyl glukosa sesquistearate OE (Amerchol) a LRI solubilizer (Waker). Emulze byly získány dispergací polymeru ve studené vodě s následnou homogenizací po dobu asi jedné minuty. Potom byl systém zneutralizován přidáním roztoku NaOH za mírného míchání. Během homogenizace byly do vodné fáze přidány emulgátory spolu s olejovou fází a byly tak připraveny emulze O/V. U takto

připravených emulzí bylo stanoveno pH a reologické vlastnosti. Pro snížení viskozity byla tato emulze následně upravena snížením množství Permulenu TR-1 a 18 % roztoku NaOH. Stabilita emulze byla ověřena v zátěžovém testu provedeném odstředěním při 3000 otáčkách za minutu po dobu 60 minut a kontrolou (každých 10 minut) separace fází [69, s. 236 – 237].

3.1.3 Pleťové hydratační krémy

Formulační studie byly provedeny v přítomnosti vybraných, komerčně dostupných emulgátorů. Nejlepší emulze byly získány použitím následujících emulgátorů: Olivem 700 (B&T), Montanov 68EC (Seppic), Montanov L (Seppic), Tego Care (Goldchimdt Italia), Cukroestery DUB SSE 3S a 15P (Prodotti Gianni), Cukroestery SP 30 a 50 (Sisterna BV) [69, s. 237]. Byly použity různé metody přípravy a různé složení krémů.

3.1.3.1 Pleťový krém 1

Tato emulze byla připravena cold-hot technikou: olejová fáze (Olivem 700, dimethicone, konopný a olivový olej, Finsolv TN, Cetearylalkohol a glycerol monostearát s přídavkem Eurol BT) byla zahřívána za mírného míchání až do úplné homogenizace. Vodná fáze (hydrolyzovaná mléčná bílkovina, Hamamelis destilát, filtrovaná voda) byla pomalu přidávána k horké olejové fázi za homogenizace při 11000 otáčkách za minutu. Po dosažení požadované viskozity byla emulze ochlazena na teplotu místnosti za mechanického míchání při 100 otáčkách za minutu. Při 25 – 30 °C byl přidán vodný roztok Kathon CG a Gram 1. Jako reologický modifikátor byl přidán Sepigel 305 a homogenizován při 11000 ot./min po dobu několika minut [69, s. 237].

3.1.3.2 Pleťový krém 2

Emulze byla připravena horkou technikou. Olejová fáze (Montanov 68EC nebo Montanov L, dimethicone, konopný a olivový olej, Finsolv TN a Eurol BT) byla zahřívána za mírného míchání na teplotu 80 °C. Vodná fáze (Hamamelis destilát a filtrovaná voda) byla zahřána na 80 °C a pomalu přidána do olejové fáze za homogenizace při 11000 otáčkách až do dosažení požadované viskozity. Emulze byla ochlazena na teplotu místnosti a míchána při 100 ot./min. Stejně jako u pleťového krému 1 byly Gram 1, Kathon CG, a Sepigel 305 přidány při 25 °C [69, s. 237].

3.1.3.3 Pleťový krém 3

Olejová fáze (Tego Care, dimethicone, konopný a olivový olej, Finsolv a Eurol BT) byla zahřáta na 50 °C, stejně jako vodná fáze obsahující Hamamelis destilát a filtrovanou vodu. Horká vodná fáze byla potom přidána k olejové fázi a za homogenizace byla emulze ochlazena. Pro zvýšení viskozity byl přidán Sepigel 305. Při vynechání Sepigelu 305 lze tuto emulzi použít jako tekutý tělový krém [69, s. 238].

3.1.3.4 Pleťový krém 4

Emulze byla připravena za použití emulgátorů tristearátu (DUB SE 3S) nebo palmitátu (DUB SE 15P) sacharózy. Při první studii byly oba emulgátory rozpuštěny v olejové fázi, avšak výsledek nebyl uspokojivý. Proto byl při další formulační studii více lipofilní cukroester (DUB SE 3S) rozpuštěn v olejové fázi a hydrofilní emulgátor (DUB SE 15P) ve vodné fázi. Při tomto postupu vykazoval systém optimální viskozitu. Vodná fáze obsahující emulgátor a Hammamelis byla homogenizována za zvýšené teploty při 11000 ot/min po dobu jedné minuty a olejová fáze (DUB SE 3S, cetearyl alkohol, Finsolv TN, konopný a olivový olej, dimethicone a Eorol BT) byla za homogenizace pomalu přidána do fáze vodné. Systém byl poté za míchání ochlazen a do studené emulze byl, stejně jako u předchozích formulací, přidán Kathon CG, Gram 1 a Sepigel 305 [69, s. 238].

3.1.3.5 Pleťový krém 5

Emulze byla připravena za použití emulgátorů, cukroesterů SP 30 a SP 50. Emulgátory, Hamamelis, destilovaná voda byly přidány do filtrované vody o teplotě 70 °C, směs byla homogenizována při 11000 otáčkách po dobu jedné minuty. Olejová fáze (Finsolv TN, konopný a olivový olej, dimethicone, Eurol BT a cerearyl alkohol) byla za homogenizace při teplotě 65 °C přidána do vodné fáze a ochlazena za míchání při 100 ot/min. Konzervační přísady a Sepigel 305 byly přidány při pokojové teplotě a emulze byla homogenizována, dokud nebylo dosaženo požadované konzistence [69, s. 238].

3.2 Stabilita reálných systémů emulzí O/V

Jak již bylo uvedeno výše, stabilita kosmetických emulzí je kritickým parametrem určujícím jejich užitné vlastnosti. V následující části práce jsou uvedeny příklady studií stability kosmetických emulzí obsahujících oleje/triacylglyceroly. Ve studii prováděné Hesson Chung [70] byla zkoumána korelace mezi průměrnou velikostí kapek emulze a

fyzikálními vlastnostmi použitých olejů. Jako olejová fáze byla použita řada nasycených triacylglycerolů – tributyrin (C4), tricaproin (C6), tricaprylin (C8) a tricaprin (C10). Jako emulgátory byly vybrány vaječný L-α-fosfatidylcholin, 1,2-dinonanoyl-sn-glycero-3-fosfocholin (DNPC) a 1,2-dilauryl-sn-glycero-3-fosfocholin (DLPC). Stabilita připravených emulzí byla vyhodnocena ze změn velikosti kapek emulze zaznamenaných po dobu měření. V této studii byl také zkoumán vliv emulgátoru s různou HLB hodnotou na stabilitu emulze při použití různých druhů olejů. Emulze O/V obsahovala 100 μl/ml oleje a různé koncentrace emulgátoru (1 – 24 mg/ml) [70, s. 284 – 288].

Emulze emulgované pomocí vaječného fosfatidylcholinu (12 mg/ml):

Stabilita emulze byla měřena první a čtvrtý den po přípravě. Tributyrin tvořil nestabilní emulze, fáze se oddělily během několika dnů. Tricaproin tvořil také velmi nestabilní emulze. Velké agregáty byly pozorovány již bezprostředně po přípravě a velikost kapek při skladování rostla. Nejstabilnější emulze vznikly za použití tricaprylinu a tricaprinu, kdy se velikost kapek nezměnila po čtyřech dnech [70, s. 285].

Emulze emulgované pomocí DLPC:

Tributyrin netvořil stabilní emulze za přítomnosti žádné z testovaných koncentrací emulgátoru (1 – 24 mg/ml), velikost kapek emulze byla větší než 1 μm. Tricaproin tvořil emulze s většími kapkami než tricaprylin. U tricaproinu se velikost kapek zvětšila během skladování bez ohledu na koncentraci emulgátoru. V emulzi tricaprylinu se velikost kapek z původní hodnoty nezměnila po dobu 20 dní [70, s. 285 – 286].

Emulze emulgované pomocí DNPC:

Použitím emulgátoru DNPC v rozmezí koncentrací 1 – 24 mg/ml vznikly emulze s menší průměrnou velikostí částic ve srovnání s DLPC a emulgací tributyrinu s DNPC v koncentraci 24 mg/ml vznikla stabilní emulze. Podobné chování bylo pozorováno také u tricaproinu, ačkoli velikost částic byla menší než u tributyrinu. U emulze s tricaprylinem nebyl shledán žádný statisticky významný rozdíl ve velikosti kapek emulze při použití DNPC a DLPC. Velikost částic tricaproinu a tricaprylinu byly při koncentraci 24 mg/ml DNPC stejné pro oba systémy [70, s. 286].

4 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo vypracovat literární rešerši zaměřenou na konopný olej, jeho způsob získávání, složení, vlastnosti a na metody vhodné pro hodnocení jeho vlastností. Další část práce byla zaměřena na problematiku emulzních systémů rostlinných olejů, možnosti jejich přípravy a charakterizace.

V praktické části diplomové práce bylo cílem analyzovat komerčně dostupné vzorky konopných olejů pomocí vhodných fyzikálních a chemických metod, z vybraných olejů připravit emulze typu O/V, zjistit vliv formulace na velikost kapek emulzí pomocí fotonové korelační spektroskopie a zhodnotit jejich stabilitu v čase.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité vzorky

- Konopný olej za studena lisovaný (Cannaderm), datum spotřeby: 15. 7. 2013
- Konopný olej za studena lisovaný, nečištěný (M+H, Míča a Harašta), datum spotřeby: 8/2013
- Konopný olej za studena lisovaný (NobilisTilia), datum spotřeby: 30. 5. 2013

5.2 Použité chemikálie

- Hexan, 99 % p.a. (Ing. Petr Švec, PENTA)
- Xylenp.a. (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Ethanol 96 % (UTB ve Zlíně)
- Fenolftalein (UTB ve Zlíně)
- KOH p.a (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- NaOH p.a (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- HCl koncentrovaná p.a. (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- $K_2Cr_2O_7$(Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Chloroform p. a. (Ing. Petr Švec, PENTA)
- Hanušovo činidlo (UTB ve Zlíně)
- KI p.a. (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- $Na_2S_2O_3$ (LACHEMA Brno)
- Škrobový maz (UTB ve Zlíně)
- NaCl p.a. (Ing. Petr Švec, PENTA)
- Methylalkohol p.a (Ing. Petr Švec, PENTA)
- Tetrahydrofuran pro HPLC (Chromservis)
- Destilovaná voda
- Plyny N_2, H_2, technický vzduch

- Montanov 68 (Seppic)
- Tween 80 – polyoxyethylensorbitan monooleát, HLB = 15 (Sigma-Aldrich)
- Span 80 – sorbitan monooleát, HLB = 4.3 (Sigma-Aldrich)
- Tween 85 – polyoxyethylensorbitan trioleát,HLB = 11 (Sigma-Aldrich)
- Span 85 – sorbitan trioleát, HLB = 1.8 (Sigma-Aldrich)

5.3 Použitá zařízení

- Běžné laboratorní sklo a vybavení
- Digitální váhy – Kern EW
- Křemenné kyvety
- Topné hnízdo
- Chladič
- Byreta
- Skleněné náprstky
- Míchadlo
- Termostat – Memmert
- Standartní polystyrenová kyveta pro měření velikosti částic
- Automatické mikropipety Eppendorf (100 – 1000 μl, 3 – 10 μl)
- Plastové zkumavky
- Stříkačkový filtr o velikosti pórů 0,22 μm
- Podložní sklíčko
- Krycí sklíčko (22 x 22 mm)
- Plastové pasteurovy pipety
- Magnetické míchadlo (Lovat Chotutice)
- Ultra-turrax T-25 Homogenizer, IKA (Německo)
- Přístroj UV-VIS 6600 Photolab

- Abbeho refraktometr
- Plynový chromatograf Shimadzu GC - 14A s FID detektorem
- Zetasizer Nano series – Nano ZS 90 (Malvern, UK)
- DSC, model DSC1Star^{e} System (Mettler Toledo)
- Modulární HPLC systém sestávající z: Pumpa Waters 600E (Waters), odplyňovač mobilní fáze (Watrex), dávkovací ventil se smyčkou 20 µl (Rheodyne), detektor: Refractive Index detektor 2414 (Waters), analytická kolona X-Select C18 (Waters) a chromatografická stanice Clarity pro sběr a vyhodnocování dat (Chromservis)
- Mikroskop – Olympus CX41 (Japonsko)
- Fotoaparát – Olympus (Japonsko)
- Počítač s programem Quick PHOTO PRO 2.0

5.4 Použité metodiky

5.4.1 Stanovení čísla kyselosti a zmýdelnění

Do zábrusové baňky s kulatým dnem byly naváženy 2 g vzorku a bylo přidáno 5 ml xylenu, 30 ml neutrálního etanolu a fenolftalein. Roztok byl zahřát pod zpětným chladičem na 50 – 60 °C (10 – 15 min) a titrován za horka 0.5 M etanolickým roztokem KOH. K titrovanému roztoku bylo přidáno tolik etanolického KOH, aby jeho celkové množství včetně spotřeby na číslo kyselosti bylo 20 ml. Roztok byl udržován na topném hnízdě ve varu pod zpětným chladičem po dobu 2 hodin. Obdobným způsobem byl připraven slepý pokus. Po ukončení varu byl přidán fenolftalein a roztok byl titrován za horka 0.5 M vodným roztokem HCl do zmizení červeného zbarvení. Číslo kyselosti a číslo zmýdelnění se stanoví z rovnic (1) a (2).

$$\check{C}K = \frac{(a-b)\cdot c_{KOH}\cdot M_{KOH}}{n} \qquad (2)$$

kde:

a spotřeba 0.5 M KOH pro vlastní titraci [ml];

b spotřeba 0.5 M KOH pro slepý pokus [ml];

c_{KOH} koncentrace odměrného roztoku KOH [mol.l^{-1}];

M_{KOH} molární hmotnost KOH [g.mol^{-1}];

n navážka vzorku [g].

$$ČZ = \frac{(b-a)\cdot c_{HCl}\cdot M_{KOH}}{n} \quad (3)$$

kde:

a spotřeba 0.5 M HCl pro vlastní titraci [ml];

b spotřeba 0.5 M HCl pro slepý pokus [ml];

c_{HCl} koncentrace odměrného roztoku HCl [mol.l^{-1}];

M_{KOH} molární hmotnost KOH [g.mol^{-1}];

n navážka vzorku [g].

5.4.2 Stanovení jodového čísla

Do Erlenmayerovy baňky se zabroušenou zátkou bylo naváženo 0.1g vzorku (s přesností na 1 mg), přidáno 25 ml chloroformu a 25 ml Hanušova činidla. Obsah byl promíchán, baňka uzavřena a ponechána 1 hodinu na tmavém místě. Po uplynutí stanovené doby bylo přidáno 20 ml 10 % roztoku KJ, 100 ml destilované vody a roztok byl titrován 0.1 M roztokem $Na_2S_2O_3$ do žlutého zbarvení. Po přídavku 1 ml škrobového mazu byl roztok dotitrován do odbarvení. Současně bylo provedeno i stanovení slepého pokusu. Jodové číslo se vypočte podle rovnice (3).

$$JČ = \frac{(a-b)\cdot c_{Na_2S_2O_3}\cdot M_{J_2}\cdot 100}{2\cdot n\cdot 1000} \quad (4)$$

kde:

a spotřeba 0.1 M $Na_2S_2O_3$ na slepý pokus [ml];

b spotřeba 0.1 M $Na_2S_2O_3$ při vlastním stanovení [ml];

$c_{Na2S2O3}$ koncentrace odměrného roztoku $Na_2S_2O_3$ [mol.l^{-1}];

M_{J2} molární hmotnost J_2 [g.mol^{-1}];

n navážka vzorku [g].

5.4.3 Stanovení peroxidového čísla

Do Erlenmayerovy baňky bylo naváženo 0.2 – 0.4 g vzorku, který byl rozpuštěn ve 25 ml směsi chloroform: kyselina octová 1:1. Po přídavku 1 ml roztoku KJ a promíchání byl roztok ponechán 5 minut ve tmě. Potom bylo přidáno 75 ml destilované vody, 2 ml škrobového mazu a roztok byl titrován 0.01 M $Na_2S_2O_3$ do odbarvení. Provede se také slepý pokus. Peroxidové číslo se vypočte podle rovnice (4).

$$PČ = \frac{1000 \cdot c_{Na_2S_2O_3} \cdot (a-b)}{n} \quad (5)$$

kde:

$c_{Na2S2O3}$ přesná koncentrace roztoku $Na_2S_2O_3$ [mol.l^{-1}];

a spotřeba 0.01 M $Na_2S_2O_3$při vlastním stanovení [ml];

b spotřeba 0.01 M $Na_2S_2O_3$na slepý pokus [ml];

n navážka vzorku [g].

5.4.4 Schallův test

Vzorky olejů byly vloženy v uzavíratelných nádobkách do sušárny, kde byly ponechány při teplotě 60 °C. V časových intervalech 1, 3, 6, 10, 13, 16 a 20 dnů byly ze sušárny odebírány alikvotní množství tepelně namáhaných vzorků a použity k analýze.

5.4.5 Stanovení indexu lomu

Měření bylo provedeno pomocí Abbeho refraktometru. Očištěný a osušený hranol byl pomocí kapátka pokryt měřeným vzorkem a refraktometr byl uzavřen. Ukazatel byl posunut do takové polohy, aby se rozhraní světla a tmy v okuláru refraktometru nacházelo na středu nitkového kříže. Na stupnici byla odečtena přesná hodnota indexu lomu. Měření probíhalo při 23 ± 2 °C.

5.4.6 Stanovení konjugovaných dienových a trienových mastných kyselin UV spektrofotometrií

Do kádinky bylo naváženo 50 mg vzorku, rozpuštěno v hexanu a převedeno do 10 ml odměrné baňky. Na přístroji UV-VIS Photolab bylo v křemenných kyvetách proměřeno UV spektrum v rozmezí vlnových délek 200 – 400 nm proti čistému hexanu. Na záznamu byla hodnocena přítomnost píků v absorpční oblasti 233 nm (konjugované dieny) a 268, 278 nm (konjugované trieny). Po odečtu hodnot absorbance A při 233, 262 a 274 nm byl obsah konjugovaných dienových (CD) a trienových (CT) mastných kyselin vypočten podle rovnic (6), (7) a (8).

$$obsah\ konjugovaných\ dienů:\ CD = 0.91 \cdot (a_{233} - 0.07) \quad (6)$$

$$obsah\ konjugovaných\ trienů:\ CT = 1.316 \cdot (a_{262} - 0.5 \cdot (a_{262} - a_{274})) \quad (7)$$

$$a_{\lambda} = A_{\lambda} \cdot \frac{V}{l} \cdot m \quad (8)$$

kde:

A_λ absorbance stanovená pro příslušnou vlnovou délku;

m hmotnost navážky [mg];

V výsledný objem roztoku [ml];

l délka kyvety [cm].

5.4.7 Plynová chromatografie

Složení mastných kyselin v jednotlivých olejích bylo studováno pomocí plynové chromatografie. Pro tuto analýzu je potřeba převést mastné kyseliny na jejich methylestery.

5.4.7.1 Příprava methylesterů

Do varné baňky byly naváženy 2 g vzorku. Ke vzorku bylo přidáno 20 ml methanolu a 0.5 ml 1 M methanolického roztoku KOH. Směs byla ponechána vařit pod zpětným chladičem po dobu 30 minut. Po ochlazení byl obsah baňky převeden do dělicí nálevky. Baňka byla promyta 10 ml hexanu a roztok přidán do dělicí nálevky spolu s 20 ml 20% roztoku NaCl. Po protřepání byla vodná fáze oddělena do druhé dělicí nálevky a bylo k ní přidáno 5 ml hexanu. Obsah druhé dělicí nálevky byl opět protřepán a vodná a hexanová fáze byly odděleny. Hexanové extrakty z první a druhé extrakce byly spojeny a promyty 15 ml 20% roztoku NaCl. Po oddělení vodné fáze byla hexanová fáze vysušena filtrací přes bezvodý síran sodný.

5.4.7.2 Analýza GC

Vzorky methylesterů byly zředěny v poměru 1 : 5 hexanem. Analýza byla provedena na plynovém chromatografu Shimadzu GC - 14A vybaveném FID detektorem a polární, kapilární kolonou DB-Wax. Nástřikový objem činil 2 μl. Pro analýzu byl použit teplotní program skládající se z následujících kroků: kolona byla po dobu 3 minuty ponechána při počáteční teplotě 110 °C, po které následovalo zvýšení teploty na 20 °C rychlostí 15 °C/min a při této teplotě byla kolona ponechána po dobu 10 minut. Teplota injektoru

byla nastavena na 225 °C a teplota detektoru na 230 °C. Průtok nosného plynu činil 2.5 $kg.cm^{-2}$. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí software CS 32.
Kvalitativní analýza byla provedena srovnáním retenčních časů elučních píků vzorků se standardem *SUPELCO^{TM} 37 Component FAME Mix*. Pro kvantitativní analýzu byla použita metoda vnitřní normalizace.

5.4.8 Gelová permeační chromatografie

Analýza byla provedena modulárním kapalinovým chromatografem, který byl složen z pumpy Waters 600E (Waters), odplyňovače mobilní fáze (Watrex), dávkovacího ventilu se smyčkou 20 µl (Rheodyne) a DRI detektoru 2414 (Waters). Jako mobilní fáze byl použit tetrahydrofuran a byla použita analytická kolona PL gel Mixed E (Polymer Labs.). Pro analýzu byly připraveny roztoky o koncentracích v rozsahu 0,0463 – 0,9980 mg/ml. Chromatografická stanice Clarity sloužila pro sběr a vyhodnocování dat (Chromservis).

5.4.9 Diferenční skenovací kalorimetrie

Termální analýza olejů byla provedena pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC), na modelu DSC1 Star^{e} System. Pro měření byly vzorky olejů naváženy na analytických vahách do aluminiových pánviček. Navážky ležely od 2.68 mg do 3.98 mg. Jako reference byla použita prázdná aluminiová pánvička. Kalibrace přístroje byla provedena standardem India. Měření probíhalo v dusíkové atmosféře. Vzorek byl umístěn v měřící cele přístroje a byl nastaven následující teplotní program: 1) ochlazení vzorků na – 85 °C s výdrží 5 min, 2) následné ohřátí na 80 °C rychlostí 20 K/min a izotermální temperance při 80 °C po dobu 5 min, 3)chlazení z 80 °C na – 85 °C rychlostí 20 K/min, s výdrží při – 85 °C 15 min a 4) opakovaný ohřev rychlostí 20 K/min na 80 °C.

5.4.10 Příprava a charakterizace emulzí

5.4.10.1 Složení emulzí

Studované konopné oleje byly dále použity k přípravě emulzí. Emulze byly složeny z vodné (V) a olejové fáze (O) v poměru O/V = 5/95. Vodnou fázi tvořila destilovaná voda a olejovou fázi konopný olej Nobilis Tilia, každá z fází pak obsahovala odpovídající emulgátor.

V první části práce byly připraveny emulze za použití dvojic emulgátorů Span 80 a Tween 80. Span 80 (HLB = 4.3) byl použit jako emulgátor pro olejovou fázi. Pro vodnou fázi byl použit emulgátor Tween 80 (HLB = 15). Emulze byly připraveny s celkovým obsahem emulgátorů jak 5 %, tak i 10 %. Kombinací obou emulgátorů byly nastaveny požadované hodnoty HLB na 6, 7, 8, 9 a 10.

Další série vzorků emulzí byla připravena za použití emulgátorů Span 60 (HLB = 4.7) a Tween 60 (HLB = 14.9). Emulze ovšem byly extrémně nestabilní, došlo k jejich rozpadu ihned po přípravě a byly vyhodnoceny jako nevhodné pro další práci. Proto byly zvoleny emulgátory Span 85 (HLB = 1.8) a Tween 85 (HLB = 11). Opět byl zachován stejný princip přípravy jako u předchozích kombinací emulgátorů a byly zachovány rovněž stejné požadované hodnoty HLB (7, 8 a 9) a celkové množství emulgátorů (5 %, 10 %).

Pro srovnání byly také připraveny emulze obsahující jeden emulgátor, komerčně dostupný Montanov 68. Celkové množství emulgátoru v těchto emulzích bylo, na základě doporučení dodavatele, 1 % a 5 %.

5.4.10.2 Výpočet jednotlivých složek emulze

Výpočet potřebného množství jednotlivých emulgátorů je dán rovnicí (8):

$$HLB = x_1 \cdot HLB_1 + x_2 \cdot HLB_2 \qquad (9)$$

kde:

x_1 hmotnostní zlomek olejové složky;

x_2 hmotnostní zlomek vodné složky;

HLB_1 HLB hodnota emulgátoru rozpustného v olejové fázi;

HLB_2 HLB hodnota emulgátoru rozpustného ve vodné fázi.

Vypočtená množství jednotlivých složek emulzí při daných hodnotách HLB a stanovených množstvích emulgátorů jsou uvedeny v Tab. 7 – 9.

Tab. 7. Vypočtená množství vodné, olejové fáze a emulgátorů Span 80, Tween 80 (vztaženo na 50 g emulze).

HLB	Emulgátor [%]	Vodná fáze [g]	Olejová fáze [g]	Span 80 [g]	Tween 80 [g]
6	5	45.125	2.375	2.103	0.397
	10	42.750	2.250	4.206	0.794
7	5	45.125	2.375	1.869	0.631
	10	42.750	2.250	3.738	1.262
8	5	45.125	2.375	1.636	0.864
	10	42.750	2.250	3.271	1.729
9	5	45.125	2.375	1.402	1.098
	10	42.750	2.250	2.804	2.196
10	5	45.125	2.375	1.168	1.332
	10	42.750	2.250	2.336	2.664

Tab. 8. Vypočtená množství vodné, olejové fáze a emulgátorů Span 85, Tween 85(vztaženo na 50 g emulze).

HLB	Emulgátor [%]	Vodná fáze [g]	Olejová fáze [g]	Span 85 [g]	Tween 85 [g]
7	5	45.125	2.375	1.087	1.413
	10	42.750	2.250	2.174	2.826
8	5	45.125	2.375	0.815	1.685
	10	42.750	2.250	1.630	3.370
9	5	45.125	2.375	0.543	1.957
	10	42.750	2.250	1.087	3.913

Tab. 9. Vypočtená množství vodné, olejové fáze a emulgátoru Montanov 68 (vztaženo na 50 g emulze).

Emulgátor [%]	Vodná fáze [g]	Olejová fáze [g]	Montanov 68 [g]
1	47.025	2.475	0.5
5	45.125	2.375	2.5

5.4.10.3 Příprava emulzí

Pro přípravu emulzí byly použity dva postupy. Jednak míchání pomocí míchadla HEIDOLPH RZR 2020 a jednak homogenizace pomocí dispergátoru Ultra-turrax. Při přípravě emulzí pomocí dispergátoru Ultra-turrax byl vždy celkový objem připravené emulze 30 g. Všechny složky byly naváženy do zkumavky a směs byla před homogenizací zahřátá na 70 °C. Emulze byly homogenizovány při laboratorní teplotě (25 °C) po dobu 15 minut. Rychlost homogenizace byla nastavena na 13400 otáček za minutu.

Příprava emulzí za pomoci míchadla RZR 2020 probíhala následujícím postupem. Do kádinek o objemu 250 ml byly naváženy zvlášť vodná a olejová fáze, z nich každá obsahovala příslušný emulgátor. Obě fáze byly ohřáty na 70 °C. Poté byla kádinka s olejovou fází umístěna pod míchadlo a míchána rychlostí 1050 ot./min. Do olejové fáze byla postupně přikapávána fáze vodná, která byla stále udržována při teplotě 70 °C. Po ukončení přídavku vodné fáze byla emulze vždy ještě 5 minut míchána.

Ihned po přípravě byla měřena velikost částic přístrojem Zetasizer. Připravené emulze byly uchovávány při laboratorní teplotě a pozorovány v čase – vizuálně a měřením velikosti částic.

5.4.10.4 Stanovení velikosti částic emulzí

Měření velikosti micel bylo provedeno metodou dynamického rozptylu světla na přístroji Zetasizer Nano ZS. Stanovení probíhalo tak, že 3 µl připravené emulze bylo dávkováno pomocí automatické pipety do plastové kyvety obsahující 1 ml destilované vody filtrované přes 0. 22 µm filtr. Kyveta byla zakryta víčkem zajišťujícím teplotní stabilitu vzorku a vložena do přístroje a použita pro analýzu. Všechna měření velikosti částic byla prováděna při teplotě 25 °C. Intenzita rozptýleného světla byla pozorována pod úhlem 90°. Během měření byl sledován z-průměr velikosti částic, který je také označován jako intenzitní–vážený střední průměr a je nejčastěji používanou veličinou vyjadřující velikost částic, kterou poskytuje DLS měření.

Přesnost měření velikosti částic byla ověřena pomocí analýzy suspenze monodisperzního standardu polystyrénového latexu o nominálním průměru částic 92 ± 3 nm. Jako disperzní médium byl použit roztok NaCl o koncentraci 9 mg/ml. Pro vlastní měření byl použit 1 ml 2x filtrovaného roztoku NaCl a 5 µl standardu. Získané výsledky analýzy prokázaly, že hodnoty velikosti částic polystyrénového latexu ležely v rozmezí 97 ± 2 nm.

5.4.10.5 Mikroskopie

K mikroskopickému pozorování byl použit mikroskop Olympus CX41 propojený s fotoaparátem Olympus a počítačem s programem Quick PHOTO PRO 2.0. Vzorek emulze byl odebrán plastovou pasteurovou pipetou, malé množství vzorku bylo naneseno na podložní sklíčko a přikryto krycím sklíčkem. Na krycí sklíčko byla nanesena kapka imerzního oleje a emulze byla pod imerzním objektivem pozorována. Bylo použito zvětšení 10 x 100. Pomocí fotoaparátu byly pořízeny záznamy.

6 VÝSLEDKY A DISKUSE

6.1 Základní charakteristika čerstvých olejů

6.1.1 Číslo kyselosti

Číslo kyselosti udává množství hydroxidu draselného potřebné k neutralizaci volných mastných kyselin obsažených ve studovaném tuku nebo oleji [32, s. 41]. Číslo kyselosti má úzkou souvislost se žluklostí tuků a olejů, a proto je v analytických certifikátech uváděna jeho maximální hodnota. Kvalita tuků a olejů s rostoucí hodnotou čísla kyselosti klesá. Výsledky naměřených hodnot jednotlivých vzorků olejů a hodnoty čísla kyselosti uváděné v certifikátech dodavatele jsou uvedeny v Tab. 10. Nejnižší hodnota byla stanovena u konopného oleje firmy M+H (0.7 mg $KOH.g^{-1}$) a nejvyšší u oleje Cannaderm (1.7 mg $KOH.g^{-1}$). Při porovnání s hodnotami uvedenými v analytických certifikátech dodavatele nepřekračují maximální povolenou hodnotu, ačkoli certifikát firmy Cannaderm není k dispozici. Poustková a kol. [2] provedli analýzu konopného oleje Cannaderm a číslo kyselosti bylo stanoveno na 4. 14 mg $KOH.g^{-1}$. Lze proto usoudit, že analyzované oleje neobsahují velké množství volných mastných kyselin a jsou tedy dobré kvality. V příloze I je uveden analytický certifikát oleje M+H, v příloze II analytický certifikát oleje Nobilis Tilia.

Tab. 10. Hodnoty čísla kyselosti.

Výrobce oleje	Číslo kyselosti [mg $KOH.g^{-1}$]	Číslo kyselosti dle certifikátu [mg $KOH.g^{-1}$]
Cannaderm	1.7 ± 0.60	–
Nobilis Tilia	1.4 ± 0.01	max. 2.0
M+H	0.7 ± 0.00	max. 4.0

6.1.2 Číslo zmýdelnění

Číslo zmýdelnění je vyjadřováno jako hmotnost hydroxidu draselného (v mg) potřebného ke zmýdelnění 1 g tuku a neutralizaci volných mastných kyselin [32]. Se stoupajícím množstvím volných i vázaných mastných kyselin v olejích jeho hodnota roste. Výsledky naměřených hodnot čísla zmýdelnění jednotlivých vzorků olejů a hodnoty uváděné

v certifikátech dodavatele jsou uvedeny v Tab. 11. Naměřené hodnoty vzorků olejů se pohybují v rozmezí 197.6 – 207.2 mg KOH.g^{-1}. Někteří výrobci neuvádí v certifikátech číslo zmýdelnění a proto je možno porovnat pouze olej firmy Nobilis Tilia, který uváděné rozmezí překračuje. Výrobce deklaruje rozmezí 195 – 199 mg KOH.g^{-1}, zatímco naměřené hodnoty činily 207 mg KOH.g^{-1}. Poustková a kol. [2] uvádí u oleje Cannaderm číslo zmýdelnění 189.7 mg KOH.g^{-1}. Anwar [72, s. 327] uvádí u konopného oleje lisovaného za studena číslo zmýdelnění 184 – 190 mg KOH.g^{-1}. Toto rozmezí neodpovídá průměrné hodnotě získané při analýze.

Tab. 11. Hodnoty čísla zmýdelnění.

Výrobce oleje	Číslo zmýdelnění [mg KOH.g^{-1}]	Číslo zmýdelnění dle certifikátu [mg KOH.g^{-1}]
Cannaderm	197.6 ± 4.21	–
Nobilis Tilia	207.2 ± 1.89	195.0 – 199.0
M+H	202.2 ± 3.94	–

6.1.3 Jodové číslo

Jodové číslo udává množství halogenu (přepočtené na jod) v gramech, které se váže za stanovených podmínek na 100 g tuku [33, s. 233]. Vyjadřuje míru nenasycenosti tuků a olejů. Naměřené hodnoty jodového čísla olejů a hodnoty uváděné v certifikátech dodavatele jsou uvedeny v Tab. 12. Nejnižší jodové číslo bylo stanoveno u oleje firmy Cannaderm, a to 155.8 g I_2/100 g. Naopak nejvyšší hodnoty byly zjištěny u oleje vyráběného firmou M+H, 167.4 g I_2/100 g. Z těchto výsledků je lze konstatovat, že konopný olej M+H obsahuje největší množství nenasycených mastných kyselin, zatímco olej Cannaderm nejmenší množství a je možno jej z tohoto důvodu označit jako oxidačně stabilnější. Nicméně vzhledem k podobným hodnotám lze říci, že oxidační stabilita se příliš neliší. Stanovené jodové číslo odpovídá údajům v dostupných analytických certifikátech. Anwar [72, s. 327] uvádí u oleje lisovaného za studena jodové číslo v rozmezí 154 – 165 g I_2/100 g. Poustková a kol. [2, s. 56] stanovili toto číslo u oleje Cannaderm na 155.67 g I_2/100 g, což se téměř neliší od hodnoty získané při analýze (155.8 g I_2/100 g).

Tab. 12. Hodnoty jodového čísla.

Výrobce oleje	Jodové číslo [g I_2/100 g]	Jodové číslo dle certifikátu [g I_2/100 g]
Cannaderm	155.8 ± 1.97	–
Nobilis Tilia	158.0 ± 3.23	145.0 – 165.0
M+H	167.4 ± 0.61	145.0 – 170.0

6.1.4 Plynová chromatografie

Metodou plynové chromatografie byla provedena kvalitativní a kvantitativní analýza konopných olejů. Výsledky analýzy jsou uvedeny v Tab. 13. Konopný olej firmy M+H obsahuje tyto mastné kyseliny: kyselina myristová, palmitová, palmitoolejová, stearová, olejová, linolová, γ–linolenová, α–linolenová, arachová, eikosanová, eikosadienová a eikosatrienová. V oleji Cannaderm byly stanoveny stejné mastné kyseliny, mimo kyselinu myristovou a eikosatrienovou. V oleji Nobilis Tilia navíc nebyla prokázána přítomnost kyseliny palmitoolejové. Bylo zjištěno, že konopný olej obsahuje nejvíce kyseliny linolové. Porovnáním s dostupnými certifikáty výrobce (Tab. 14) lze konstatovat, že složení analyzovaných olejů odpovídá údajům uvedeným v certifikátech u většiny mastných kyselin. V certifikátech nebyla uvedena pouze kyselina myristová, eikosadienová a eikosatrienová. Kvantitativní analýza mastných kyselin souhlasí s rozmezím uvedeným výrobcem. Pouze v případě kyseliny olejové v oleji Nobilis Tilia, kde byl stanoven její obsah na 10 %, leží tato hodnota na spodní hranici intervalu udávaného certifikátem (rozmezí 10 – 16 %). Porovnáním s literaturou [4, s. 32], kde byl analyzován konopný olej Cannaderm za studena lisovaný, bylo zjištěno, že stanovené hodnoty koncentrací mastných kyselin odpovídají běžně uváděným údajům.

Tab. 13. Stanovené množství mastných kyselin v olejích.

Mastná kyselina	Obsah mastných kyselin [%]		
	Cannaderm	Nobilis Tilia	M+H
Myristová	–	–	0.04 ± 0.03
Palmitová	6.2 ± 0.13	6.4 ± 0.27	5.9 ± 0.27
Palmitoolejová	0.1 ± 0.02	–	0.1 ± 0.00
Stearová	2.4 ± 0.07	2.2 ± 0.04	2.2 ± 0.04
Olejová	12.1 ± 0.03	10.0 ± 0.04	9.0 ± 0.15
Linolová	57.3 ± 0.03	55.8 ± 0.66	55.3 ± 0.12
γ–linolenová	3.0 ± 0.02	4.5 ± 0.12	4.4 ± 0.03
α–linolenová	16.7 ± 0.04	18.7 ± 0.34	20.3 ± 0.03
Arachová	1.0 ± 0.04	1.6 ± 0.04	1.7 ± 0.04
Eikosanová	0.8 ± 0.00	0.7 ± 0.08	0.7 ± 0.05
Eikosadienová	0.4 ± 0.02	0.3 ± 0.04	0.4 ± 0.02
Eikosatrienová	–	–	0.1 ± 0.01

Tab. 14. Množství mastných kyselin v olejích dle certifikátu výrobců.

Mastná kyselina	Obsah mastných kyselin [%]	
	Nobilis Tilia	M+H
Palmitová	5.0 – 12.0	4.5 – 12.5
Palmitoolejová	max. 1.0	max. 1.0
Stearová	1.0 – 4.5	0.5 – 4.5
Olejová	10.0 – 16.0	5.5 – 20.5
Linolová	45.0 – 65.0	44.5 – 65.5
γ–linolenová	min. 1.0	min. 1.0
α–linolenová	14.0 – 30.0	13.5 – 30.5
Arachová	max. 2	max. 2.0
Eikosanová	max. 1.0	max. 1.0
Behenová	–	max. 1.0

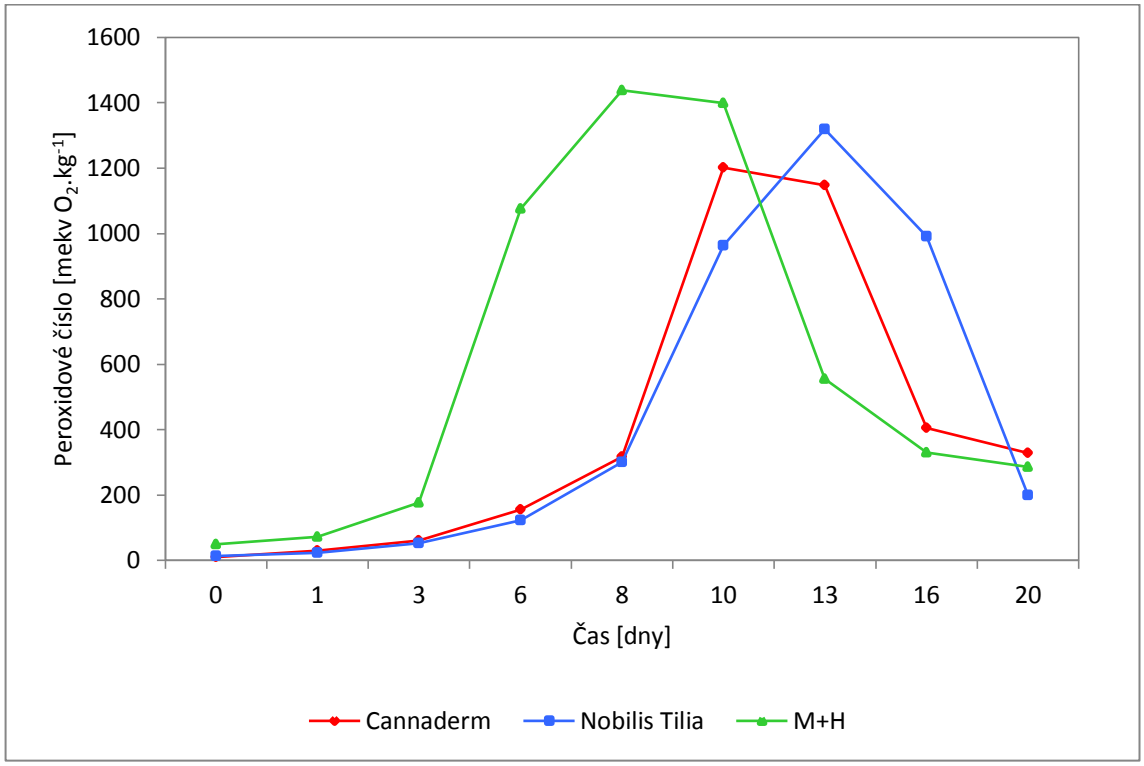
6.2 Tepelně namáhané oleje

6.2.1 Vyhodnocení Shallova testu

6.2.1.1 Peroxidové číslo

Peroxidové číslo patří mezi nejběžnější metody při stanovení oxidace tuků a olejů. Slouží ke stanovení primárních oxidačních produktů. Stanovená peroxidová čísla u čerstvých olejů (Tab. 15) neodpovídají údajům v analytických certifikátech. U oleje Nobilis Tilia mělo peroxidové číslo hodnotu 13.2 mekv $O_2.kg^{-1}$, certifikát udává max. 5 mekv $O_2.kg^{-1}$. Značně se liší hodnota peroxidového čísla oleje M+H, která byla stanovena na 48.8 mekv $O_2.kg^{-1}$, zatímco certifikát deklaruje max. 10 mekv $O_2.kg^{-1}$. Pro olej Cannaderm bylo stanoveno peroxidové číslo 10.8 mekv $O_2.kg^{-1}$. Tato hodnota je v souladu s výsledky studie [2, s 56], která pro tento olej uvádí peroxidové číslo s hodnotou 12.6 mekv $O_2.kg^{-1}$.

Závislost peroxidového čísla na době, po kterou byly oleje podrobeny ohřevu při Shallově testu, je znázorněna na Obr. 4. Všechny oleje nejprve vykazují rostoucí trend peroxidového čísla, což je způsobeno nárůstem obsahu primárních oxidačních produktů. Po určité době se primární oxidační produkty začínají přeměňovat na sekundární a peroxidové číslo klesá. Podobný vývoj vykazují závislosti zaznamenané pro oleje Cannaderm a Nobilis Tilia. Cannaderm obsahoval nejvíce primárních oxidačních produktů 10. den skladování a Nobilis Tilia 13. den skladování. Velmi rychle vznikly primární oxidační produkty v oleji M+H a jejich obsah dosáhl maxima již 8. den skladování. Z grafu lze odečíst indukční periodu, tedy dobu potřebnou k nastartování rychlé tvorby peroxidů, která činí pro oleje Canaderm a Nobilis Tilia osm dnů a pro olej M+H pouze tři dny.



Obr. 4. Závislost peroxidového čísla olejů na době tepelného namáhání.

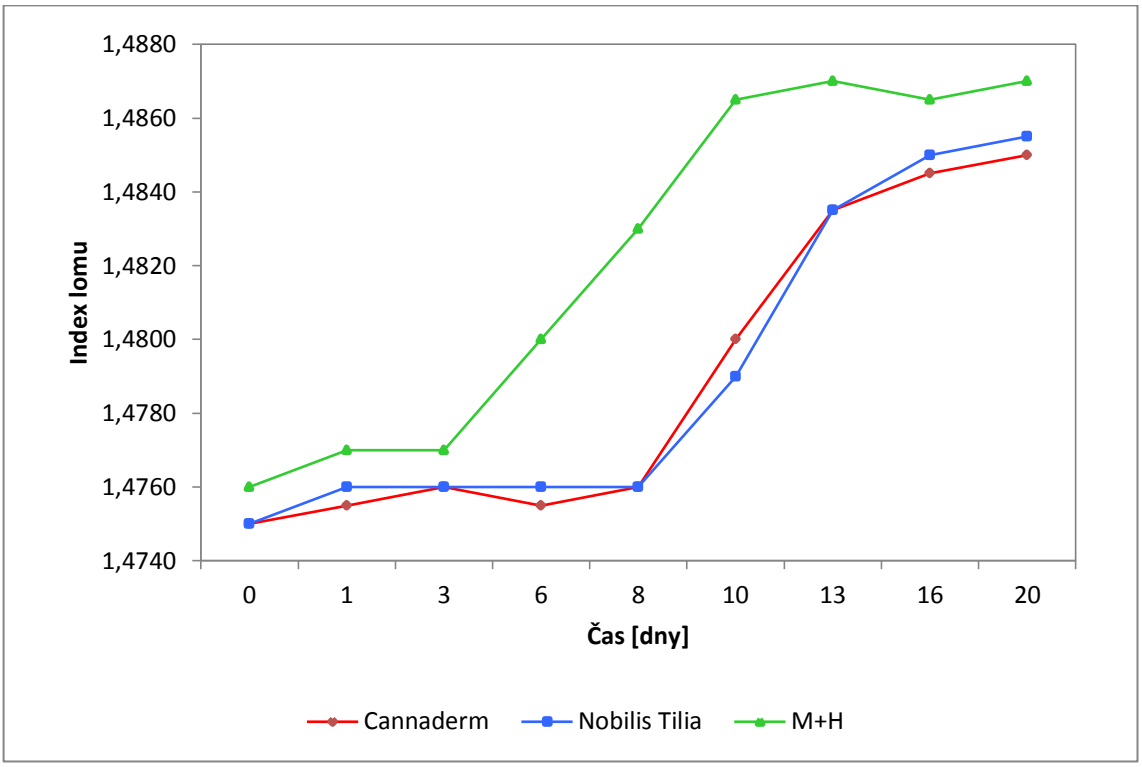
Tab. 15. Hodnoty peroxidového čísla tepelně namáhaných olejů.

Dny	Peroxidové číslo[mekv O_2.kg^{-1}]		
	Cannaderm	Nobilis Tilia	M+H
0	10.8 ± 0.00	13.2 ± 0.74	48.8 ± 3.09
1	30.5 ± 0.14	23.9 ± 1.96	72.6 ± 1.09
3	61.4 ± 1.90	53.2 ± 1.63	177.1 ± 2.53
6	156.2 ± 4.74	123.3 ± 1.05	1076.1 ± 1.39
8	316.4 ± 5.32	300.7 ± 3.55	1438.6 ± 4.32
10	1201.6 ± 2.62	963.3 ± 1.50	1399.8 ± 0.92
13	1147.8 ± 4.16	1318.9 ± 6.76	554.9 ± 0.82
16	405.3 ± 1.28	991.6 ± 4.57	330.3 ± 14.50
20	329.4 ± 1.05	199.0 ± 3.49	285.9 ± 11.13

6.2.1.2 Index lomu

Závislost indexu lomu na době, po kterou byly oleje podrobeny ohřevu při Shallově testu, je znázorněna na Obr. 5. U čerstvých olejů Canaderm a Nobilis Tilia byla naměřena obdobná hodnota indexu lomu, a to 1.4750, index lomu se lišil pouze mírně u oleje M+H,

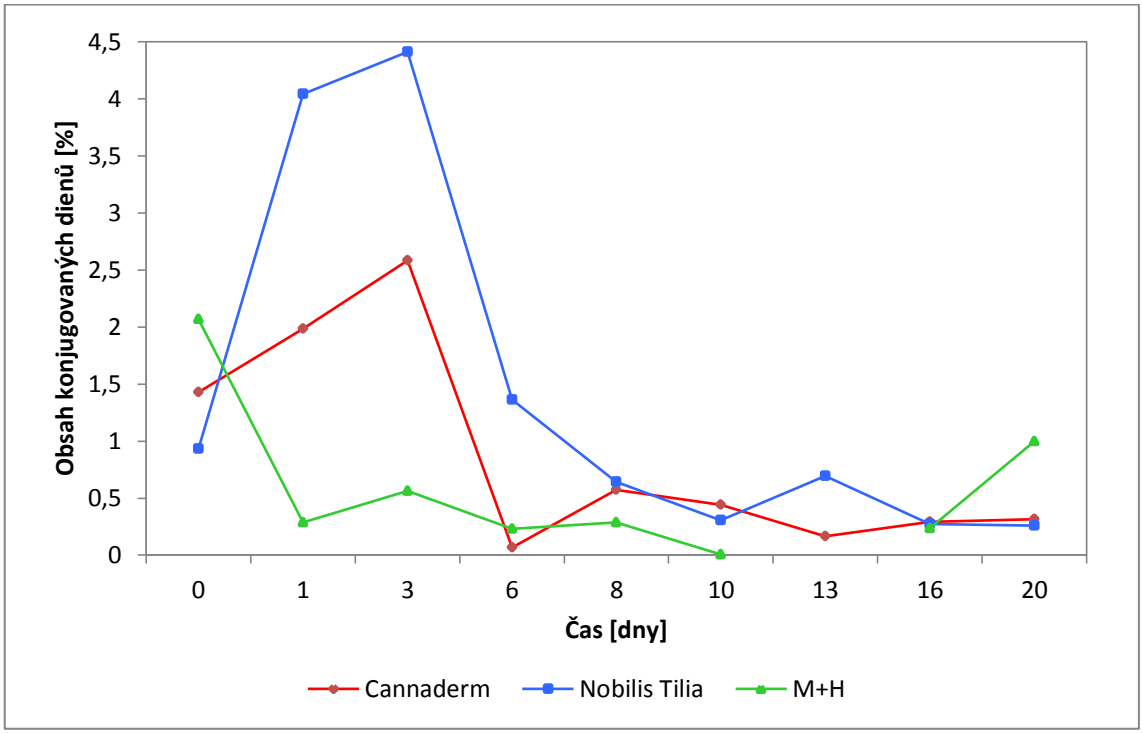
u kterého byl stanoven na 1.4760. Bylo zjištěno, že index lomu roste s prodlužující se dobou tepelného namáhání olejů. Významný nárůst lze pozorovat u olejů Cannaderm a Nobilis Tilia od 8. dne skladování, zatímco u oleje M+H byl tento jev pozorován již 3. den skladování při zvýšené teplotě. Rovněž z tohoto grafu je možno odečíst indukční periodu.



Obr. 5. Závislost indexu lomu olejů na čase tepelného namáhání při Shallově testu.

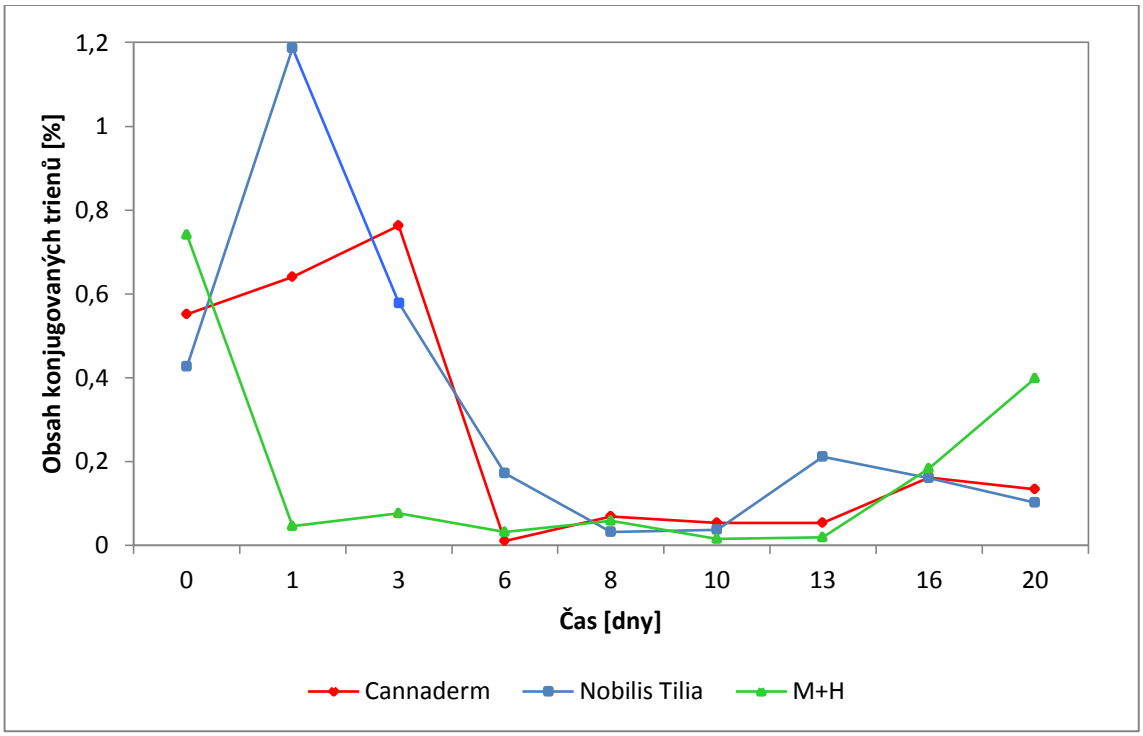
6.2.1.3 Konjugované dieny, trieny

Konjugované vazby vznikají oxidací polyenových mastných kyselin. Obsah konjugovaných dienů je představen na Obr. 6. Nejvíce konjugovaných dienů vzniklo v oleji Nobilis Tilia třetí den skladování při zvýšené teplotě, poté následoval jejich prudký pokles. Stejný průběh lze pozorovat u oleje Cannaderm. Olej M+H obsahoval zvýšené množství konjugovaných dienů již v čerstvém stavu ještě před tím, než byl zahříván, avšak jejich obsah během dalšího záhřevu ve sledovaném časovém období dále nerostl. Náhlý prudký pokles je zřejmě způsoben dalším rozkladem těchto oxidačních produktů. Analýza tohoto oleje 13. den stárnutí byla zatížena chybou a proto není zanesena v grafu.



Obr. 6. Obsah konjugovaných dienů v tepelně namáhaných olejích.

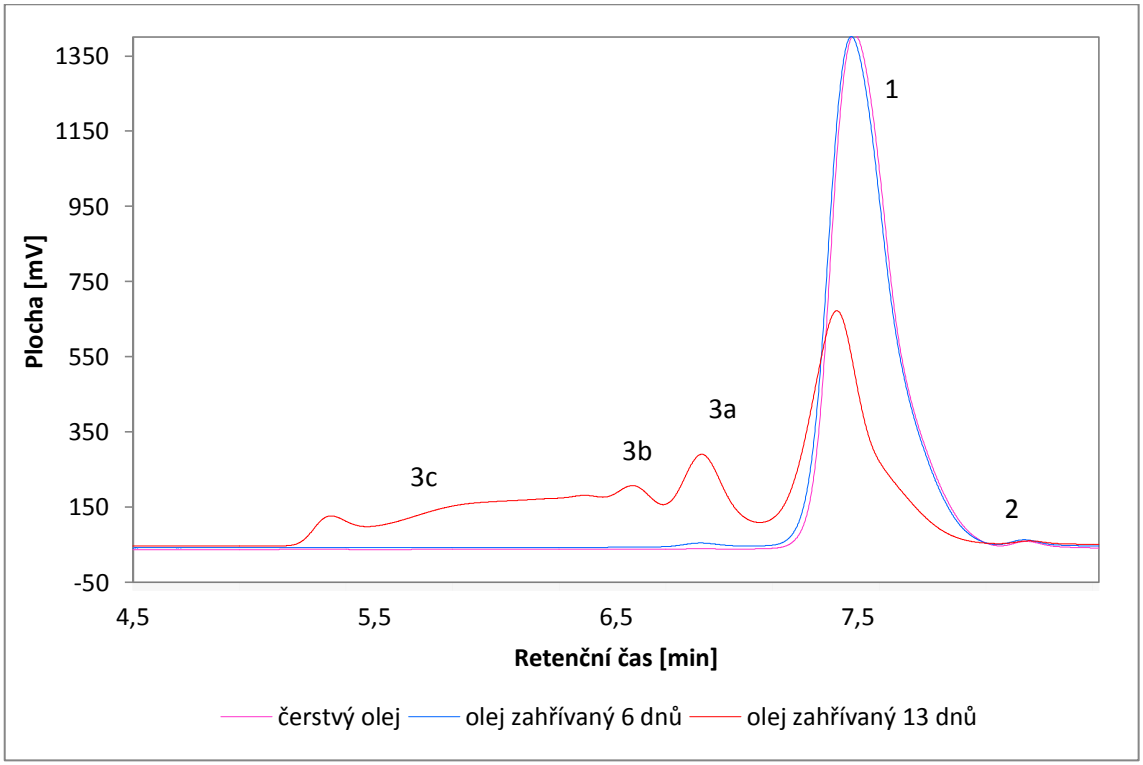
Obsah konjugovaných trienů je znázorněn na Obr. 7. U olejů Cannaderm a Nobilis Tilia je patrné, že obsah trienů nejprve roste a poté prudce klesá. V oleji M+H obsah konjugovaných trienů klesá již po prvním dnu, stejně jako v případě konjugovaných dienů.



Obr. 7. Obsah konjugovaných trienů v tepelně namáhaných olejích.

6.2.1.4 Gelová permeační chromatografie – stanovení polymerů

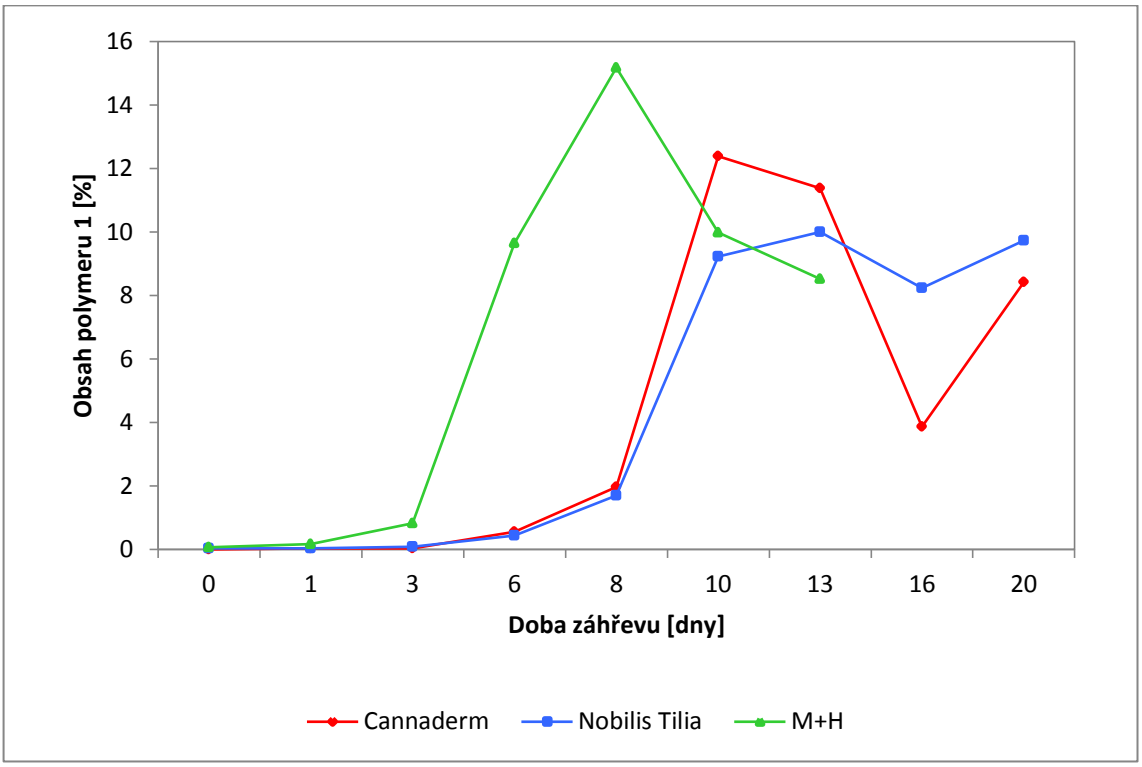
Gelovou permeační chromatografií byly stanoveny terciální produkty oxidace. Při analýze byla detekována přítomnost triacylglycerolů, mastných kyselin a v závislosti na době stárnutí olejů rovněž přítomnost vysokomolekulárních sloučenin, oligomerů a polymerů. Na Obr. 8 je znázorněn chromatogram zaznamenaný při analýze konopného oleje Nobilis Tilia. Největší pík představuje triacylglycerol (1) a vpravo od něj jsou eluovány mastné kyseliny (2). Polymery a oligomery (3), které mají při separaci pomocí GPC kratší retenční čas než TAG, jsou detekovány před molekulou triacylglycerolu. Na obrázku je srovnán čerstvý olej a vzorky olejů tepelně namáhané po dobu 6 a 13 dnů. Z chromatogramu je patrné, že s rostoucí dobou degradace olejů se zvětšuje plocha a počet chromatografických píků představujících oligomery a polymery. Zároveň je zřejmé, že během prvních šesti dnů zahřívání v tomto oleji podstatné množství oligomerů a polymerů nevzniklo a množství výšemolekulárních podílů rostlo s prodlužující se dobou tepelného namáhání.



Obr. 8. GPC chromatogram tepelně namáhaného konopného oleje Nobilis Tilia.

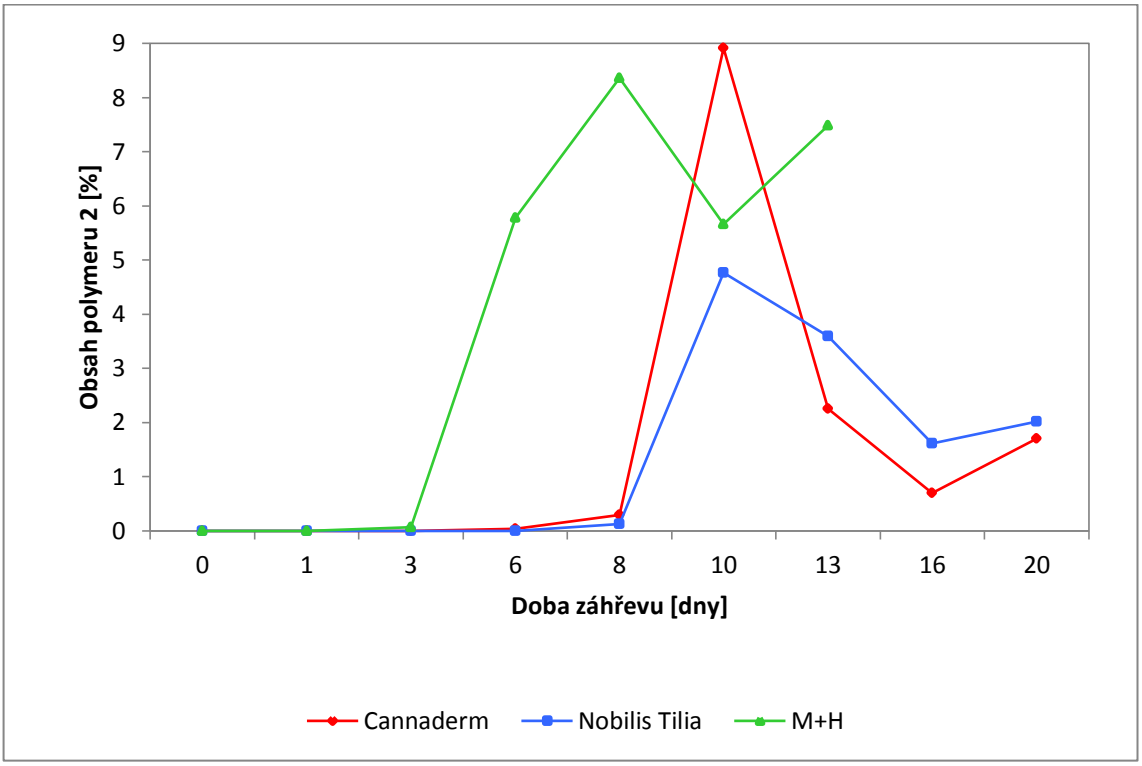
Chromatogramy byly vyhodnoceny a pomocí software byla stanovena plocha jednotlivých píků. Pík 3a byl označen jako „polymer 1“, píky 3b a 3c jako „polymer 2“ a „polymer 3“. Na Obr. 9 je vyobrazen růst obsahu polymeru 1 s prodlužující se dobou zahřívání olejů. Pro oleje Cannaderm a Nobilis Tilia roste obsah polymeru 1 obdobnou rychlostí a z grafu

je zřejmý strmý nárůst jeho obsahu osmý den zahřívání. Olej M+H se od ostatních odlišuje, strmý růst obsahu polymeru 1 byl pozorován již třetí den zahřívání. Tento olej byl analyzován pouze do třináctého dne zahřívání, jelikož déle degradované vzorky již nebylo možno rozpustit, z čehož lze usuzovat na přítomnost síťovaných struktur.



Obr. 9. Obsah polymeru 1 v tepelně namáhaných olejích.

Na Obr. 10 je znázorněn graf závislosti obsahu polymeru 2, s molekulovou vahou vyšší, než polymer 1, na době zahřívání. U olejů Cannaderm a Nobilis Tilia je detekován podobný charakter růstu polymeru 2 a počátek vzniku tohoto polymeru byl stanoven na šestý den zahřívání. Od těchto olejů se opět odlišuje olej M+H, u kterého došlo k prudkému růstu obsahu polymeru 2 již třetí den zahřívání.



Obr. 10. Obsah polymeru 2 v tepelně namáhaných olejích.

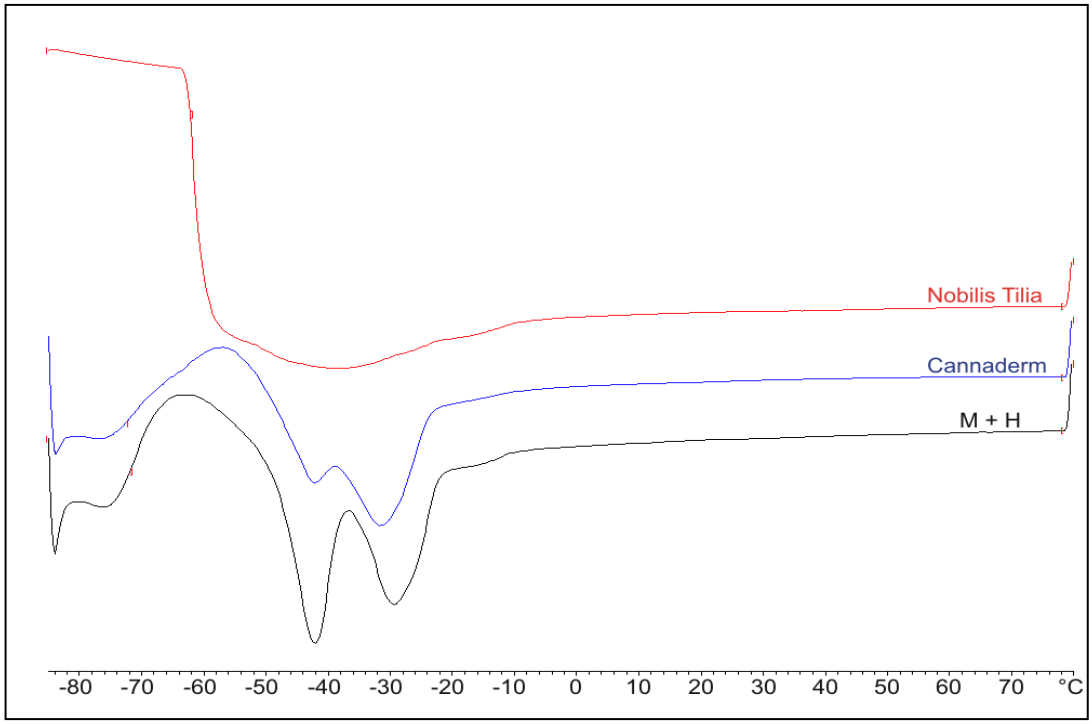
Při dlouhodobém zahřívání vzniká ještě polymer 3. Ve vztahu k tomuto polymeru lze pozorovat obdobné chování u olejů Cannaderm a Nobilis Tilia, ve kterých nastává jeho prudký nárůst desátý den zahřívání. V oleji M+H obsah tohoto polymeru roste již šestý den zahřívání.

6.2.1.5 DSC – stanovení fázových charakteristik

Při termických dějích mohou tuky a oleje podléhat různým procesům: tání, krystalizaci, skelným a polymorfním přechodům. Tyto procesy mohou být buď endotermní, nebo exotermní. Při tání krystalické látky se teplo spotřebovává a na záznamu z DSC se proto tento jev projevuje jako endoterma, která má definované vlastnosti. Šíře píku vypovídá o čistotě a velikosti částic vzorku. Na každém píku se určuje teplota počátku tání (onset temperature T_o), teplota tání píku (peak melting temperature T_m) a entalpie tání, která je úměrná ploše píku (ΔH). Pro termické chování amorfních a semikrystalických látek je charakteristický endotermní skelný přechod, který může být následovaný krystalizací (exoterma), táním a nakonec degradací.

Pomocí DSC byly hodnoceny čerstvé i tepelně namáhané oleje. Bylo porovnáno chování čerstvých olejů a pro každý ze vzorků byl stanoven vliv doby teplotního namáhání na změnu jeho chování při tání a krystalizaci. Obecně platí, že termogramy zaznamenané

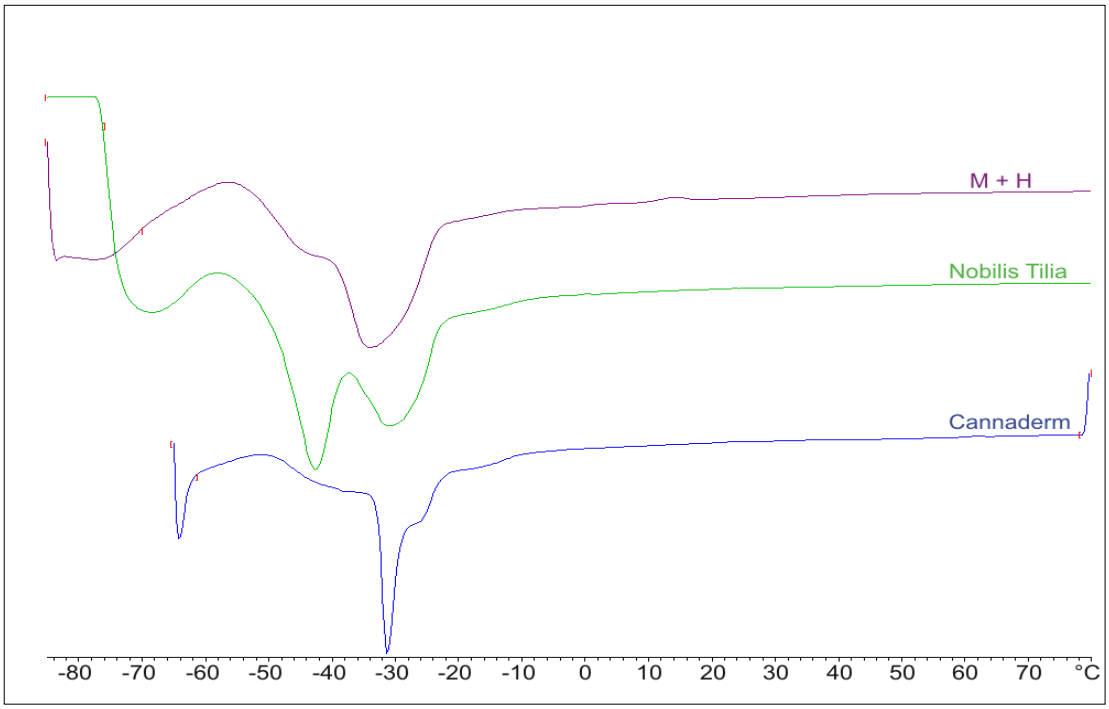
při tání vzorků olejů mají komplexní charakter, který není snadné jednoznačně interpretovat. Chování čerstvých olejů při prvním zahřívání je srovnáno na Obr. 11. Ten ilustruje složitou povahu analyzovaných vzorků, která je důsledkem polymorfismu přírodních olejů. Z obrázku je zřejmé, že teplotní chování vzorků olejů Canaderm a M+H je obdobné a zároveň se liší od vzorku oleje Nobilis Tilia. Na termogramech prvních dvou olejů jsou patrné tři endotermní píky, jejichž body tání T_m mají hodnoty – 75 °C, – 42 °C a – 30 °C. Uvedené tři píky je možno spojovat s přítomností tří krystalických forem α, β, β´ ve sledovaných olejích. Na rozdíl od prvních dvou vzorků není na termogramu oleje Nobilis Tilia patrný žádný z těchto teplotních přechodů a proces tání probíhá najednou, v jediném širokém endotermním procesu. Rovněž hodnoty entalpie vzorků se liší, olej Canaderm má hodnotu ΔH nejvyšší, a to 253 mJ, nižší hodnota byla zaznamenána pro olej M+H (ΔH = 138 mJ) a nejnižší pro olej Nobils Tilia (ΔH = 111 mJ).



Obr. 11. Chování olejů při prvním zahřívání.

Po kontrolované rekrystalizaci, která probíhala ochlazením již jednou zahřátých vzorků z 80 °C na – 85 °C rychlostí 20 K/min, s výdrží při – 85 °C 15 min byly vzorky opakovaně ohřívány rychlostí 20 K/min na 80 °C a termogramy z tohoto druhého ohřevu jsou zaznamenány na Obr. 12. Rovněž tento obrázek dokumentuje, že se teplotní chování olejů liší. Olej Canaderm v tomto případě vykazuje termogram s úzkým píkem s hodnotou Tm = – 31 °C a ramenem v oblasti teplot – 38 °C až – 50 °C. Chování oleje Nobilis Tilia

je při druhém ohřevu podobné chování olejů Canaderm a M+H a na teplotní křivce jsou patrné tři píky s teplotami tání – 69 °C, – 43 °C a – 30 °C. Olej M+H vykazuje při druhém zahřívání obdobné vlastnosti jako při zahřívání prvním a na křivce jsou patrné rovněž tři teplotní přechody Tm = – 75 °C, – 43 °C a – 34 °C. Je zřejmé, že teploty tání tohoto oleje při druhém zahřívání jsou obdobné jako při zahřívání prvním, mění se pouze poměry mezi hodnotami ΔH těchto píků, což lze interpretovat jako změnu v množství jednotlivých zastoupených polymorfních modifikací.

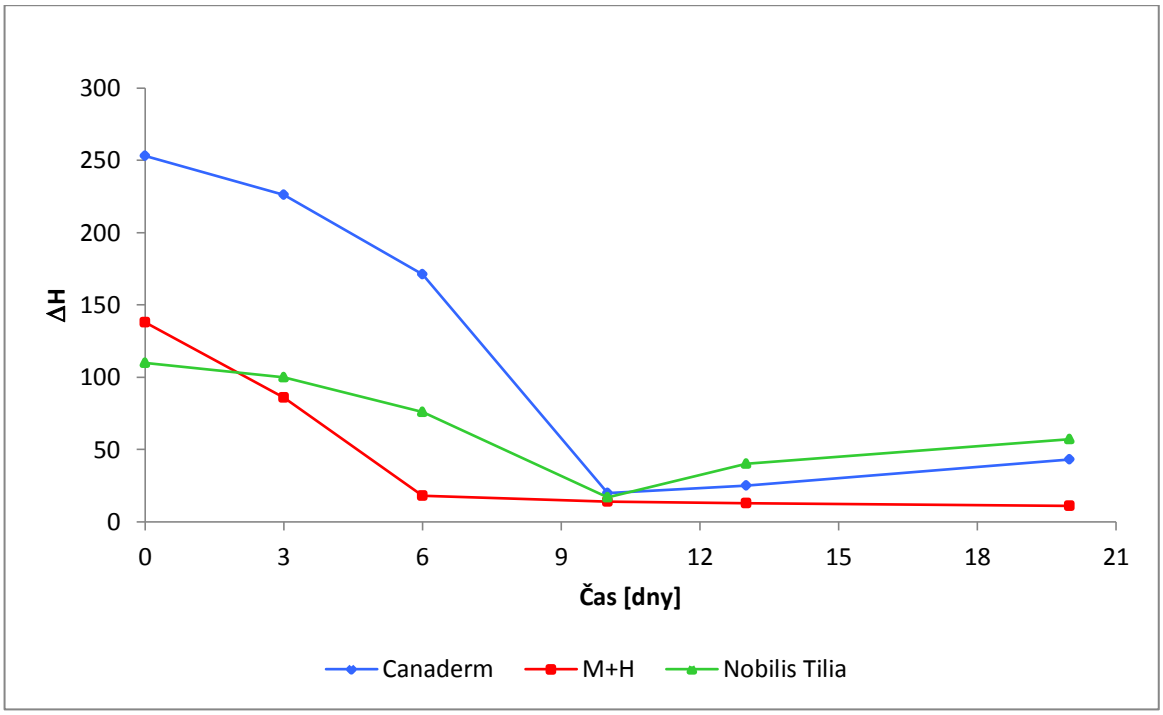


Obr. 12. Chování olejů při druhém zahřívání.

Uvedené rozdíly není jednoduché vysvětlit. Jelikož je složení mastných kyselin studovaných olejů obdobné, je možno spekulovat, že rozdíly mohou být způsobeny různým zastoupením TAG. Další možností je rozdílná tepelná historie vzorků před analýzou, například při skladování. I když byly oleje Canaderm a Nobilis Tilia zakoupeny v běžné obchodní síti a byly analyzovány v dostatečném předstihu před vypršením expirační doby je možné, že tento faktor ovlivnil jejich krystalickou strukturu. Rozdíly v chování oleje M+H by bylo možno vysvětlit skutečností, že se jedná o nerafinovaný olej.

Změny entalpie teplotně namáhaných olejů s dobou zahřívání jsou znázorněny na Obr. 13. Z grafu je patrné, že s rostoucí dobou tepleného namáhání olejů se zmenšuje plocha endotermy a klesá tedy velikost entalpie. Shodné chování je pozorováno u olejů

Cannaderm a Nobilis Tilia, maximální pokles je detekován 10. den tepleného namáhání. U oleje M+H došlo k maximálnímu poklesu již 6. den tepleného namáhání. Změny v ΔH je možno vysvětlit poklesem krystalinity vzorků. Znamená to tedy, že s prodlužující se dobou degradace olejů klesá uspořádanost řetězců TAG. K tomuto jevu zřejmě dochází díky nárůstu obsahu degradačních produktů, zejména polymerů.



Obr. 13. Změny entalpie tepelně namáhaných olejů během skladování.

6.2.2 Souhrnné srovnání a zhodnocení rozdílů mezi oleji

Obecně lze konstatovat, že se jednotlivé oleje v obsahu mastných kyselin příliš neliší. V ostatních charakteristikách vykazují podobné chování oleje Cannaderm a Nobilis Tilia, které jsou komerčně dostupné na českém trhu. Od těchto dvou olejů se svým chováním odlišuje olej M+H, což je způsobeno tím, že se jedná o olej lisovaný za studena, který nebyl čištěn.

6.3 Emulze

6.3.1 Velikost částic a stabilita emulze

Mezi vlivy ovlivňující stabilitu emulze je řazena především hodnota HLB a koncentrace emulgátoru, poměr O/V, jakož i metody přípravy emulze včetně rychlosti míchání. Emulze byly připravovány rychlostí 1050 ot./min (míchadlo Heildorph) a rychlostí 13400 ot./min

(homogenizátor Ultra-turrax). Emulgátor byl použit v množství 5 % a 10 %. Všechny emulze obsahovaly 5 % olejové fáze. Přehled kombinací použitých emulgátorů je uveden v Tab. 16. Rozsah použitých hodnot HLB byl 6 až 10, což jsou hodnoty HLB doporučené pro emulgaci většiny rostlinných olejů.

Tab. 16. Přehled kombinací použitých emulgátorů.

Emulgátor	Obsah emulgátoru [%]	Rozsah HLB
Span 80 + Tween 80	5; 10	6 – 10
Span 85 + Tween 85	5; 10	7 – 9
Montanov 68	1; 5	–

6.3.1.1 Emulze připravené se směsí emulgátorů Span 80 + Tween 80

V první fázi byly k přípravě emulzí použity emulgátory Span 80 (HLB = 4.3) a Tween 80 (HLB = 15). Velikost částic stanovená ihned po výrobě emulzí v přítomnosti těchto emulgátorů je shrnuta v Tab. 17 a 18. Naměřené výsledky jsou představeny pomocí hodnot z-průměru velikosti částic, který představuje intenzitně váženou střední hodnotu velikosti všech částic přítomných v emulzi. Některé emulze obsahovaly více než jednu populaci částic a v tomto případě tabulky zaznamenávají velikosti částic v jednotlivých přítomných frakcích. Z porovnání naměřených hodnot vyplývá, že emulze připravené rychlostí 1050 ot./min mají větší z-průměr velikosti částic oproti emulzím připraveným rychlostí 13400 ot./min. Velikost částic v emulzi byla také ovlivněna množstvím emulgátoru. V případě použití 5 % emulgátoru (rychlost míchání 1050 ot./min) ležely velikosti částic v intervalu od 389 nm do 945 nm. Při rychlosti míchání 13400 ot./min se velikosti částic pohybovaly v rozmezí od 110 nm do 252 nm. Při použití emulgátoru v množství 10 %, ležely velikosti částic u emulzí míchaných rychlostí 1050 ot./min v rozmezí od 376 nm do 837 nm, při rychlosti míchání 13400 ot./min se velikosti částic pohybovaly v rozmezí od 85 nm do 215 nm.

.

Tab. 17. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při koncentraci emulgátoru 5 % (Span 80, Tween 80).

HLB	otáčky/min	Z-průměr velikosti částic [nm]	Velikost částic v jednotlivých frakcích [nm]		
6	1050	528	1013	157	45
	13400	252	320	4814	0
7	1050	823	995	0	0
	13400	155	198	0	0
8	1050	750	893	0	0
	13400	170	210	4634	0
9	1050	472	569	5174	0
	13400	155	207	26	0
10	1050	402	651	106	0
	13400	110	167	0	0

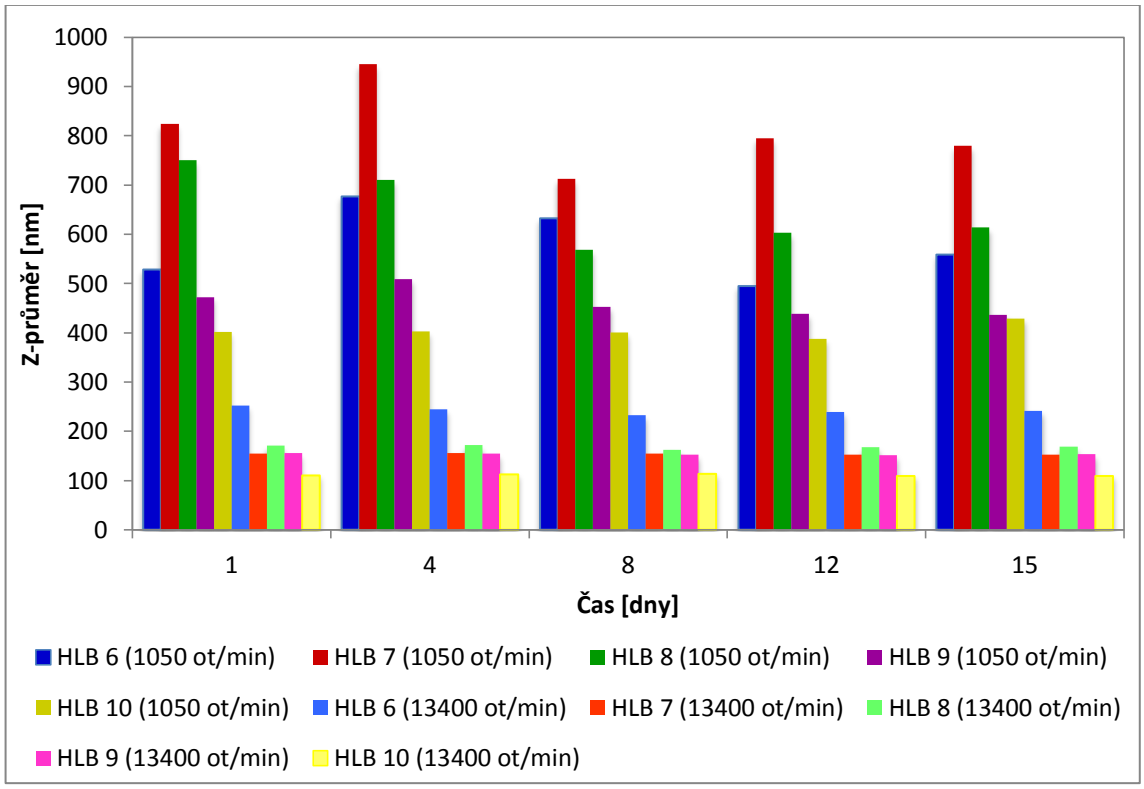
Tab. 18. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při koncentraci emulgátoru 10 % (Span 80, Tween 80).

HLB	otáčky/min	Z-průměr velikosti částic [nm]	Velikost částic v jednotlivých frakcích [nm]		
6	1050	528	504	0	0
	13400	210	313	0	0
7	1050	417	709	75	0
	13400	181	252	61	0
8	1050	484	610	0	0
	13400	126	159	0	0
9	1050	511	743	105	0
	13400	85	110	14	0
10	1050	417	576	54	0
	13400	87	96	48	0

Vliv rychlosti otáček při přípravě emulze na velikost částic v průběhu jejího skladování (obsah emulgátoru 5 %) je vyobrazen na Obr. 14. Z grafického znázornění lze pozorovat, že velikost částic emulzí míchaných menší rychlostí v průběhu skladování kolísá a nemá jednoznačný rostoucí nebo klesající trend. Například u emulze s emulgátory o HLB 7,

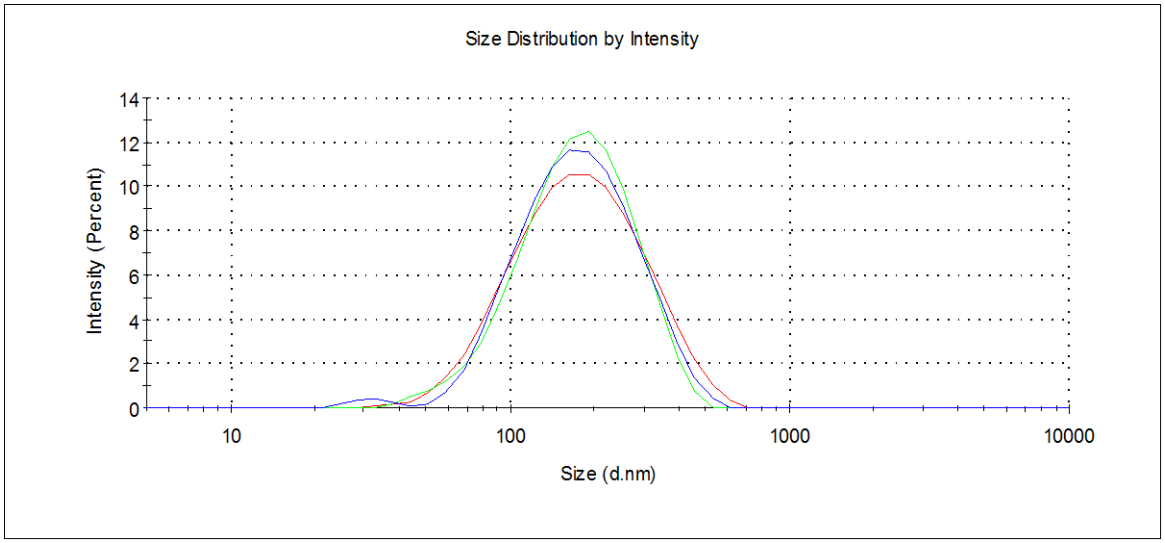
koncentraci emulgátoru 5 %, míchané rychlostí 1050 ot./min kolísá velikost částic během 15 dnů skladování od 712 nm do 945 nm. Pro porovnání, tatáž emulze, míchaná rychlostí 13400 ot./min obsahuje částice v rozmezí velikostí 152 nm – 156 nm (emulze o stejné hodnotě HLB jsou v grafu znázorněny stejnou barvou s tím rozdílem, že emulzím připraveným rychlostí 1050 ot./min je přiřazen tmavší odstín barev, zatímco emulzím míchaným rychlostí 13400 ot./min odstín světlejší). Obecně je možno konstatovat, že u emulzí míchaných Ultra-turraxem se během sledované doby skladování velikost částic podstatně nemění.

Emulze připravené rychlostí 1050 ot./min, s obsahem dvojice emulgátorů Span 80 a Tween 80 v koncentraci jak 5 %, tak i 10 %, byly nestabilní a u všech došlo ke krémování již po přípravě. Při použití emulgátoru v množství 5 % a při rychlosti míchání 13400 ot./min byly emulze s HLB 7, 8 a 9 stabilní po celou dobu pozorování. V emulzi o HLB 6 došlo k mírnému krémování a oddělení olejové fáze třetí den skladování při laboratorní teplotě. U emulze připravené v přítomnosti emulgátoru o HLB 10 bylo pozorováno velmi slabé krémování již v den přípravy, které se však během doby pozorování nezvětšilo.



Obr. 14. Vliv rychlosti míchání emulze na velikost částic v průběhu skladování při koncentraci emulgátoru 5 % (Span 80, Tween 80).

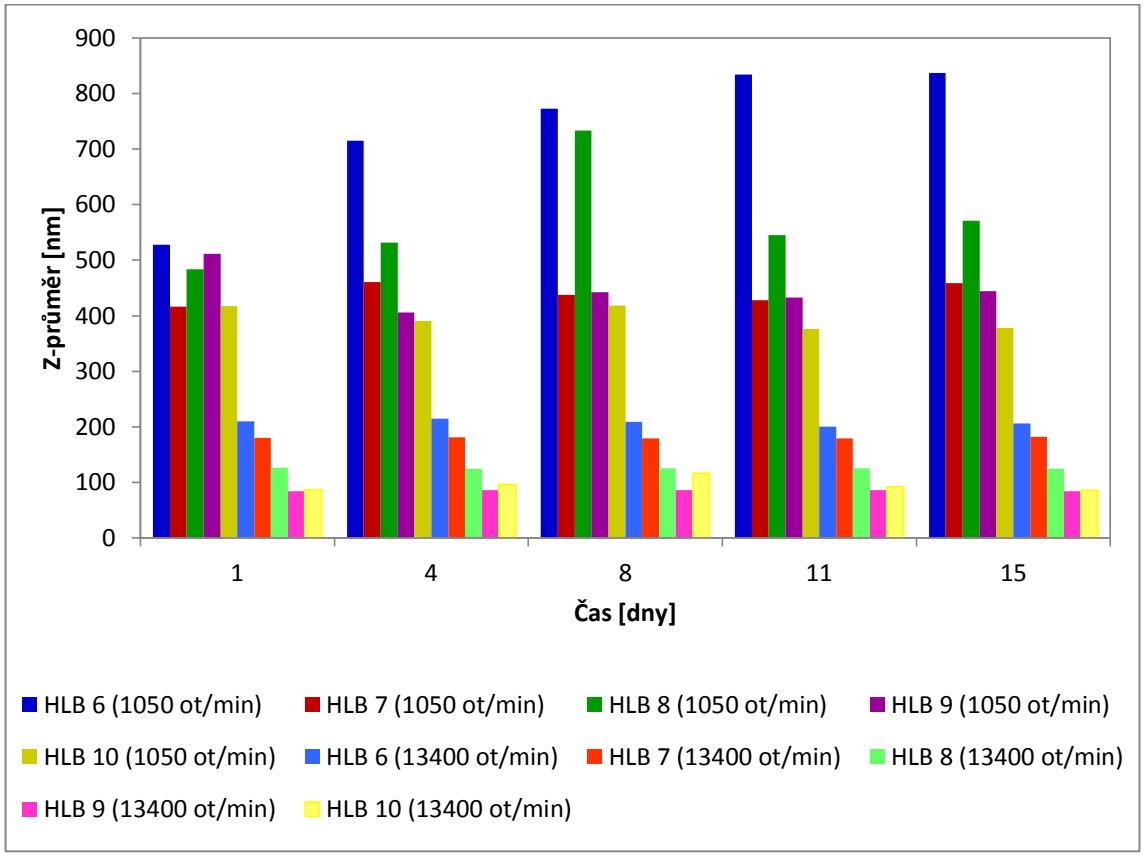
Distribuce částic pro emulze o HLB 7 a 5 % emulgátoru, míchané rychlostí 13400 ot./min je znázorněna na Obr. 15. Z obrázku je patrné, že se velikosti částic v průběhu pozorování téměř nelišily.



Obr. 15. Distribuce velikosti částic pro emulze o HLB 7 s 5 % emulgátoru připravované rychlostí 13400 ot./min (červená křivka – distribuce získaná ihned po přípravě; zelená křivka – 8. den skladování emulze; modrá křivka – 15. den po přípravě).

Vliv rychlosti otáček při přípravě emulze na velikost částic v průběhu jejího skladování (obsah emulgátoru 10 %) je představen na Obr. 16. Při použití emulgátoru v množství 10 % a rychlostí míchání 13400 ot./min byly připraveny stabilní emulze s HLB 8 a 9. Stejně jako v předchozím případě, se u emulzí s HLB 6 a 10 objevilo krémování a došlo také k oddělení olejové fáze.

Kombinací emulgátorů Teen 80 + Span 80 byly připraveny emulze s nejmenší velikostí částic při rychlosti míchání 13400 ot./min s použitím emulgátoru v množství 10 %. Takto připravené emulze s emulgátorem o HLB 9 obsahovaly částice v rozmezí 84 nm – 87 nm. Emulgátory s HLB 10 poskytly systémy s částicemi o velikostech ležících v rozmezí 85 nm – 116 nm.



Obr. 16. Vliv rychlosti míchání emulze na velikost částic v průběhu skladování při koncentraci emulgátoru 10 % (Span 80, Tween 80).

6.3.1.2 Emulze připravené se směsí emulgátorů Span 85 + Tween 85

Ve druhé fázi studie byly k přípravě emulzí použity emulgátory Span 85 (HLB = 1,8) a Tween 85 (HLB = 11), které byly kombinovány tak, aby výsledná hodnota HLB ležela v rozmezí 7 až 9. Vzhledem k tomu, že se v předchozí části ukázaly emulze připravené s HLB 6 a 10 jako méně stabilní, nebyly již dále připravovány. Velikost částic po výrobě emulzí je shrnuta v Tab. 19 a 20. Na velikost částic měla opět zásadní vliv rychlost míchání. Emulze, které byly míchány rychlostí 1050 ot./min obsahovaly částice o větším průměru a v emulzích byla také zjištěna přítomnost více populací částic.

Tab. 19. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při koncentraci emulgátoru 5 % (Span 85, Tween 85).

HLB	otáčky/min	Z-průměr velikosti částic [nm]	Velikost částic v jednotlivých frakcích [nm]		
7	1050	428	1761	219	0
	13400	162	185	0	0
8	1050	340	748	117	4777
	13400	185	230	49	0
9	1050	256	454	102	5194
	13400	160	206	0	0

Tab. 20. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při koncentraci emulgátoru 10 % (Span 85, Tween 85).

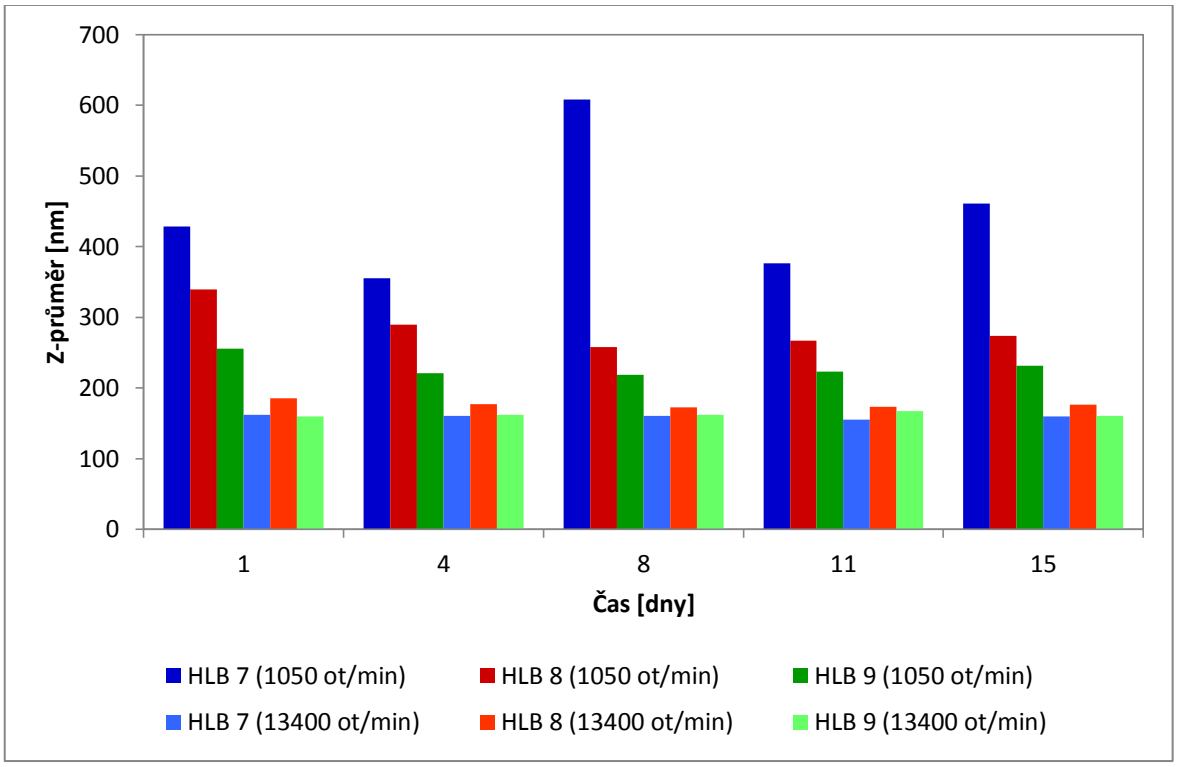
HLB	otáčky/min	Z-průměr velikosti částic [nm]	Velikost částic v jednotlivých frakcích [nm]		
7	1050	417	908	158	0
	13400	193	259	0	0
8	1050	531	583	0	0
	13400	221	261	4682	0
9	1050	533	563	0	0
	13400	313	363	0	0

Vliv rychlosti otáček při přípravě emulze na velikost částic v průběhu jejího skladování (obsah emulgátoru 5 %) je znázorněn na Obr. 17.

Vizuální pozorování ukázalo, že při použití emulgátoru v množství 5 % a rychlosti míchání 1050 ot./min se emulze rozpadly čtvrtý den po přípravě. U emulze s HLB 7 došlo k oddělení olejové fáze, v emulzi s HLB 8 a 9 pak vzniklo krémování. Překvapivě došlo k fázové separaci rovněž u emulze s HLB 7 připravené rychlostí míchání 13400 ot./min. Při HLB 9 byla emulze připravená vyšší rychlostí stabilní po celou dobu pozorování.

Z Obr. 17 je patrné, že nestabilita emulzí pozorovaná vizuálně se projevuje jen částečně na velikosti částic. Například z-průměr velikosti částic emulzí připravených rychlostí

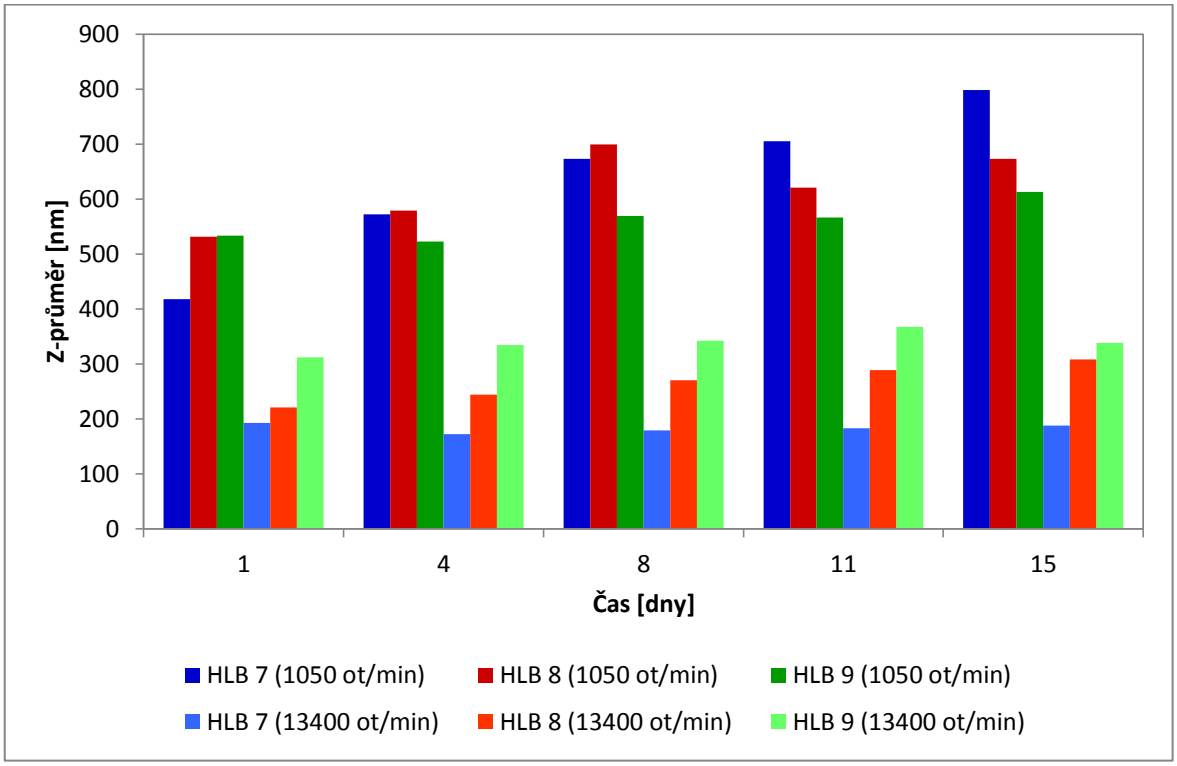
míchání 13400 ot./min nevykazuje v průběhu skladování výrazné změny a leží v intervalu 160 až 169 nm (HLB 9, 5 % emulgátoru).



Obr. 17. Vliv rychlosti míchání emulze na velikost částic v průběhu skladování při koncentraci emulgátoru 5 % (Span 85, Tween 85).

Na Obr. 18 je znázorněn vliv rychlosti otáček při přípravě emulze na velikost částic v průběhu jejího skladování (obsah emulgátoru 10 %). Při míchání oběma rychlostmi byly připraveny stabilní emulze, pouze u emulzí o HLB 7 se v polovině doby skladování oddělily drobné kapičky oleje. Z Obr. 17 je rovněž zřejmé, že velikost částic emulzí připravených nižší rychlostí míchání s HLB 7 se během skladování měnila poměrně významně (z 418 nm na 788 nm). U vzorků připravených vyšší rychlostí míchání pak byly velikosti částic během skladování poměrně stabilní a ležely v intervalu 312 nm až 367 nm (HLB 9).

Nejmenší emulzní částice byly stanoveny ve vzorcích s emulgátory o HLB 9, obsahu 10 % emulgátoru připravené rychlosti míchání 13400 ot./min, jejichž velikost byla 86 nm.



Obr. 18. Vliv rychlosti míchání emulze na velikost částic v průběhu skladování při koncentraci emulgátoru 10 % (Span 85, Tween 85).

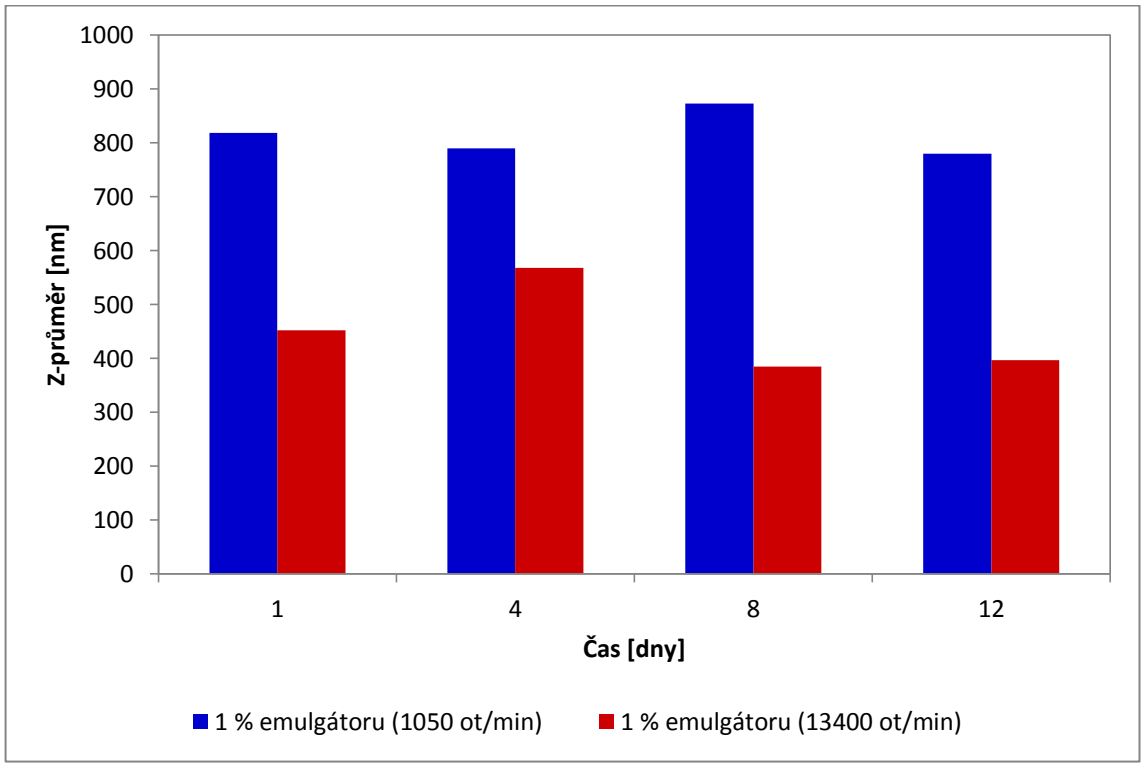
6.3.1.3 Emulze připravené s emulgátorem Montanov

K přípravě emulzí byl také použit komerční emulgátor Montanov, a to v koncentracích 1 % a 5 %, které jsou doporučeny jeho výrobcem. Velikosti částic emulzí připravených v přítomnosti tohoto komerčního emulgátoru jsou znázorněny v Tab. 20. Je zajímavé, že emulze s největší velikostí částic vznikly právě použitím tohoto emulgátoru. Emulgátor o koncentraci 1 % (rychlost míchání 13400 ot./min) poskytl emulze, které byly stabilní po celou dobu sledování stability (20 dnů). Při nižší rychlosti míchání a stejném složení byly naopak připraveny emulze, u kterých došlo k rychlému oddělení oleje a vzniku pěny. V emulzích s obsahem emulgátoru 5 % vznikla při přípravě hustá pěna a vzorek nebylo možné odebrat k dalšímu měření velikosti částic a tyto emulze byly z dalších testů vyřazeny.

Tab. 21. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při použití emulgátoru Montanov.

% emulgátoru	otáčky/min	Z-průměr velikosti částic [nm]	Velikost částic v jednotlivých frakcích [nm]		
1	1050	819	1075	321	5455
	13400	452	555	4823	0
5	1050	1667	1318	259	0
	13400	2028	784	5560	0

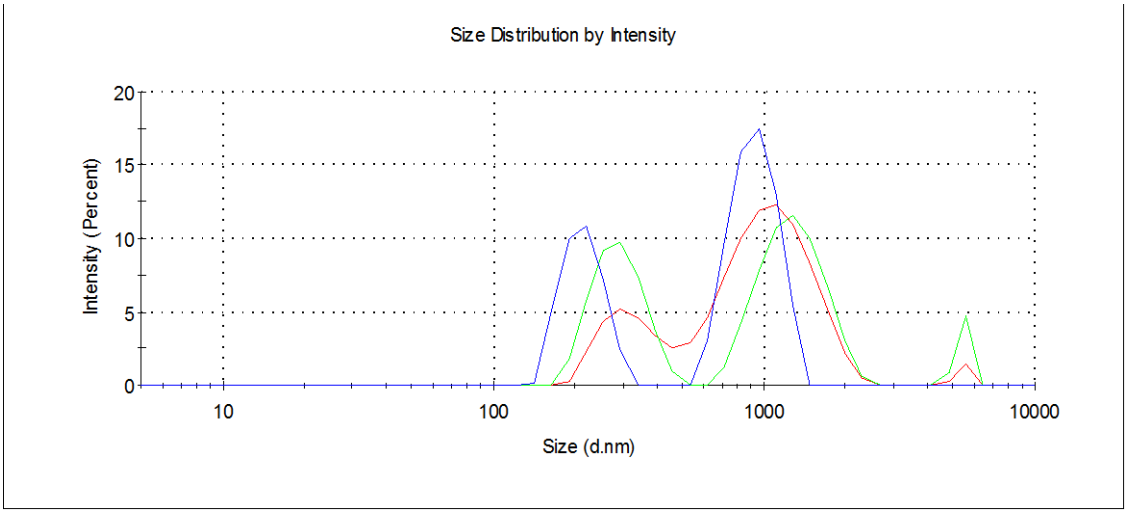
Velikosti částic emulzí připravených při použití emulgátoru Montanov jsou graficky znázorněny na Obr. 19. Stejně jako v předchozích případech bylo potvrzeno, že při rychlosti 13400 ot./min jsou připraveny emulze s menšími částicemi (v průměru 450 nm). Při menší rychlosti míchání byly částice přibližně dvakrát větší.



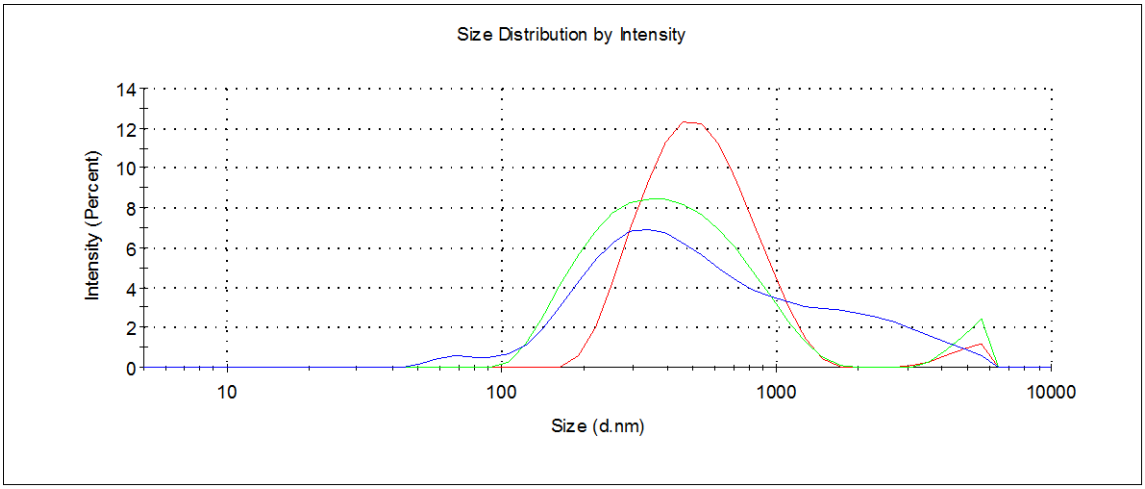
Obr. 19. Vliv rychlosti míchání emulze na velikost částic v průběhu skladování při použití emulgátoru Montanov.

Na Obr. 20 a 21 je znázorněna změna distribuce velikostí částic emulzí v čase, při jejichž přípravě bylo použito 1 % emulgátoru Montanov. Na Obr. 20 jsou emulze připravené rychlostí 1050 ot./min, na Obr. 21 jsou emulze připravené rychlostí míchání 13400 ot./min. Z obrázků je zřejmé, že během skladování dochází ke změnám ve velikosti částic i při použití vyšších otáček míchání. V tomto případě jsou však během sledované doby

distribuce částic monomodální (nebereme-li v úvahu částice nad 5 µm, které leží na hranici měřícího limitu přístroje). Polydispersita vzorku je však velmi široká (Obr. 21).



Obr. 20. Distribuce velikosti částic pro emulze připravované rychlostí 1050 ot./min (červená křivka – distribuce získaná ihned po přípravě; zelená křivka – 4. den skladování emulze; modrá křivka – 8. den po přípravě).



Obr. 21. Distribuce velikosti částic pro emulze připravované rychlostí 13400 ot./min (červená křivka – distribuce získaná ihned po přípravě; zelená křivka – 7. den skladování emulze; modrá křivka – 15. den po přípravě).

6.3.2 Vizuální pozorování

Všechny vyrobené emulze byly pozorovány i vizuálně, a to ihned po přípravě a následně ve stanovených časových intervalech. Byla sledována barva, celkový vzhled a případné známky rozpadu. Obecně lze říci, že emulze připravené ze systému emulgátorů Tween 80,

Span 80 vykazovaly lepší stabilitu, pokud byla použita rychlost míchání 13400 ot./min. Při použití rychlosti míchání 1050 ot./min došlo většinou již v den přípravy vzorku ke krémování, které bylo s prodlužující se dobou sladování stále patrnější. Pokud se objevilo krémování u emulzí připravených v homogenizátoru Ultra-turrax (13400 ot./min), bylo indikováno většinou až 20. den po jejich přípravě a jeho intenzita se nezvyšovala. Výjimkou jsou emulze vyrobené v přítomnosti emulgátorů o HLB 6 a 10, u kterých došlo ke krémování první den po přípravě. Tyto hodnoty HLB emulzí byly určeny jako nevhodné, jak je popsáno výše a proto nebyly dále používány. Všechny vyrobené emulze byly barvy mléčně bílé, s výjimkou emulze s HLB 9 a 10, 10 % emulgátoru připravené při rychlosti míchání 1350 ot./min. Ty byly polotransparentní (nažloutlé), což je dáno malou velikostí částic (80 – 90 nm) a také tím, že samotný olej má žlutozelenou barvu. Na Obr. 22 je zobrazen tento rozdíl ve vzhledu emulzí. Stabilní emulze byly pozorovány použitím 10 % emulgátoru a 13400 ot./min o HLB 8 a 9 (57 dní), a také použitím 5 % emulgátoru o HLB 7, 8 a 9 (57 dní).

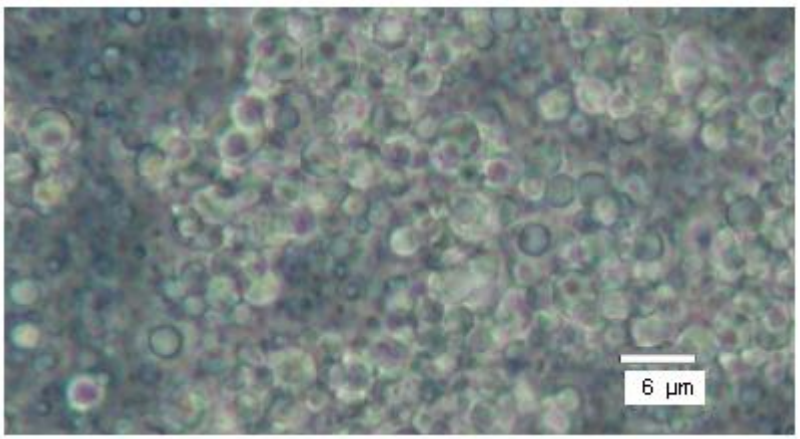
V případě použití systému emulgátorů Tween 85, Span 85 zůstaly po dobu pozorování (47 dní) stabilní ty emulze, kde bylo nastaveno HLB 8 a 9, při obsahu emulgátoru 10 %, míchané rychlostí 1050 ot./min. Použitím vyšších otáček (13400 ot./min) a při obsahu emulgátoru 5 % byla připravena stabilní emulze pouze v případě, kdy HLB emulgátoru bylo 9. Tento vzorek byl stabilní po dobu (45 dní).

Je třeba konstatovat, že vizuální pozorování stability emulzí bylo prováděno delší dobu než měření jejich velikostí částic. Důvodem byl poměrně velký rozsah prováděných experimentů v krátkém časovém období.

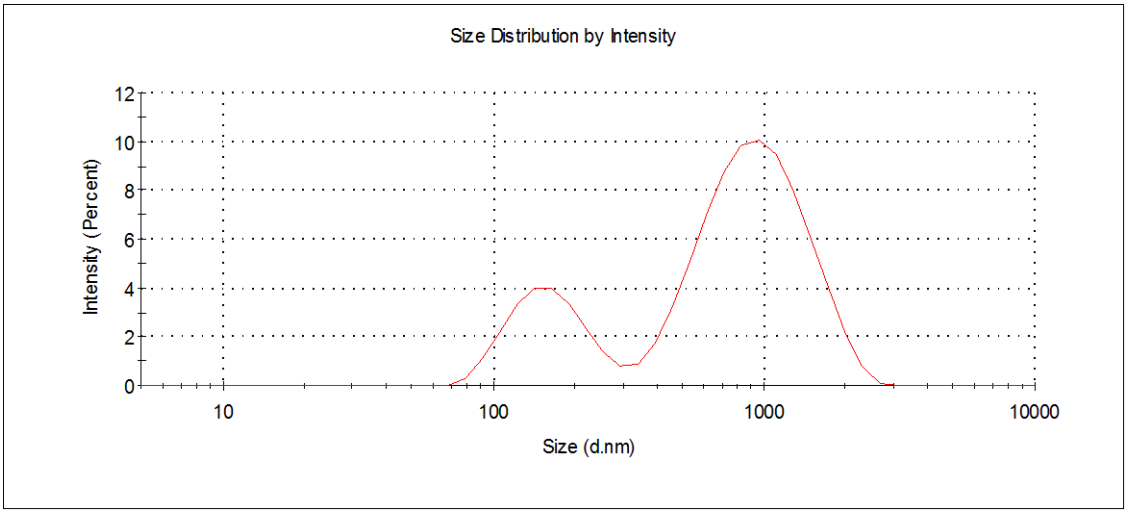
Obr. 22. Pozorování emulzí, zleva: HLB 6, 10 % emulgátoru, 1050 ot./min; HLB 6, 10 % emulgátoru, 13400 ot./min; HLB 9, 10 % emulgátoru, 13400 ot./min; HLB 9, 10 % emulgátoru, 1050 ot./min.

6.3.3 Mikroskopie

Dále byly emulze charakterizovány prostřednictvím mikroskopického pozorování. Na Obr. 23 je emulze (HLB 10), připravená při 1050 ot./min a obsahující 5 % emulgátoru Span 80 a Tween 80. Tato emulze obsahuje, podle údajů z měření velikosti částic fotonovou korelační spektroskopií, dvě populace částic s různými velikosti, což je patrné také z Obr. 24. Dle PCS, mají nejmenší částice velikost 82 nm a u největších částic byla naměřena velikost 4988 nm.



Obr. 23. Emulze míchaná rychlostí 1050 ot./min, HLB 10, 5 % emulgátoru Tween 80 a Span 80.



Obr. 24. Velikost částic emulze o HLB 10 s 5 % emulgátoru Span 80 a Tween 80, míchaná rychlostí 1050 ot./min.

ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá charakterizací konopného oleje a jeho využitím v emulzích typu O/V. Ke studii byly použity tři konopné oleje, z nichž dva byly zakoupeny v obchodní síti (Cannaderm a Nobilis Tilia) a jeden byl laskavě poskytnut firmou M+H (Míča a Harašta s r.o.). V prvních dvou případech se jednalo o rafinované oleje, olej M+H byl nerafinovaný.

Experimentální část práce byla rozdělena do dvou oddílů. První z nich byl věnován konopnému oleji. Po provedení základní charakteristiky čerstvých olejů byly zjištěny následující skutečnosti:

- Hodnoty čísla kyselosti, udávající obsah volných mastných kyselin v oleji odpovídaly hodnotám v certifikátech dodavatele.
- Čísla zmýdelnění se do jisté míry lišila od rozmezí hodnot definovaných výrobci, pokud je uvádí.
- Hodnoty jodového čísla rovněž odpovídají údajům poskytovaným výrobci. Nejvyšší jodové číslo (167.4 g I_2/100 g), a tedy nejvyšší obsah nenasycených mastných kyselin byl zjištěn v oleji M+H, což je v souladu se skutečností, že se jedná o nerafinovaný olej.
- Kvalitativní a kvantitativní analýza obsahu a zastoupení mastných kyselin provedená metodou plynové chromatografie potvrdila, že všechny oleje obsahují nejvíce kyseliny linolové (55 – 57 %) a α–linolenové (16 – 20 %).

Po vyhodnocení základní charakteristiky čerstvých olejů je možno tvrdit, že vzorek M+H se mírně liší od ostatních dvou olejů, avšak rozdíly mezi analyzovanými oleji nejsou velké.

Všechny vzorky byly podrobeny Shallovu testu, tedy tepelnému namáhání po dobu dvaceti dnů při 60 °C. U tepelně namáhaných olejů byly zjištěny následující skutečnosti:

- Pomocí peroxidového čísla byl stanoven obsah primárních oxidačních produktů. Nejnižší koncentrace peroxidů byla stanovena v oleji Cannaderm. Nejvíce primárních oxidačních produktů obsahoval olej M+H. U všech olejů bylo pozorováno nejprve rostoucí peroxidové číslo, tedy růst primárních oxidačních produktů. Po určité době došlo k jejich přeměně na sekundární produkty a peroxidové číslo klesalo.
- Index lomu všech olejů rostl s prodlužující se dobou jejich tepelného namáhání.

- Oxidací polyenových mastných kyselin vznikají konjugované vazby. Oleje Cannaderm a Nobilis Tilia vykazovaly obdobné chování. Obsah konjugovaných dienů a trienů v nich nejprve rostl a po rozkladu těchto oxidačních produktů opět klesal. Chování oleje M+H bylo opět odlišné, protože obsahoval vysokou koncentraci konjugovaných dienů a trienů již jako čerstvý.
- Obsah terciárních produktů oxidace byl stanoven gelovou permeační chromatografií. Na chromatogramu byly detekovány volné mastné kyseliny, triacylglyceroly a u tepelně namáhaných olejů i polymery. Bylo zjištěno, že s rostoucí dobou namáhání roste v olejích také obsah polymerů. V oleji M+H vznikly polymery nejdříve.
- Pomocí diferenční skenovací kalorimetrie byly zaznamenány termogramy jednotlivých olejů. Při prvním zahřívání čerstvých olejů bylo zjištěno, že chování vzorků Cannaderm a M+H je podobné. U obou byly zjištěny tři endotermní píky, které je možno spojovat s přítomností krystalických forem α, β a β‘. U oleje Nobilis Tilia probíhalo tání najednou a na termogramu nebyl patrný žádný z těchto přechodů.

Jak vyplývá z předchozího textu, vlastnosti olejů podrobených tepelnému namáhání se liší. Za povšimnutí stojí olej M+H, který se od ostatních odlišuje téměř ve všech charakteristikách. Tuto skutečnost je možno vysvětlit tím, že se jedná o nerafinovaný olej.

Druhý oddíl experimentální části práce se zabývá emulzemi. Byly připraveny emulze O/V s 5% obsahem olejové fáze, tvořené konopným olejem. Emulgátor byl použit v množství 5 % a 10 % v rozsahu hodnot HLB 7 až 9. Emulze byly připravovány rychlostí míchání 1050 ot./min a 13400 ot./min. Pomocí fotonové korelační spektroskopie a vizuálním pozorováním byly zjištěny závěry, které jsou uvedeny níže:

- Při použití směsi emulgátorů Span 80 (HLB = 4.3), Tween 80 (HLB = 15) byly připraveny emulze s nejmenší velikostí částic při rychlosti míchání 13400 ot./min a použitím 10 % emulgátoru. Takto připravené emulze obsahovaly částice v rozmezí 84 nm – 87 nm (HLB 9), částice o velikostech ležících v rozmezí 85 nm – 116 nm (HLB 10).
- Směs emulgátorů Span 85 (HLB = 1.8), Tween 85 (HLB = 11) poskytla nejmenší částice (86 nm) při HLB 9, obsahu emulgátorů 10 % a rychlosti míchání 13400 ot./min.

- Hodnocení stability připravených vzorků, skladovaných při 25 °C ukázalo, že nejstabilnější emulze byly připraveny použitím směsi emulgátorů Span 80 a Tween 80 (5 %) při HLB 7, 8, 9. U těchto emulzí nebyly vizuálně pozorovány známky destabilizace po dobu 57 dnů. Stejnou stabilitu měly i vzorky připravené při vyšším množství emulgátoru (10 %) s HLB 8 a 9. Všechny emulze byly připraveny rychlostí míchání 13400 ot./min. Při rychlosti míchání byly 1050 ot./min byly nejstabilnější emulze připravené se směsí Span 85 a Tween 85, 10 % emulgátoru a HLB 8 a 9. Jejich stabilita byla 47 dnů.
- V práci byl jako emulgátor použit i komerčně dostupný Montanov, v jehož přítomnosti vznikla emulze, která byla stabilní po 20 dní (rychlostí míchání 13400 ot./min 1 % emulgátoru). Částice olejové fáze však byly velké a ležely v rozmezí velikostí 450 nm až 2 μm.

Výsledky diplomové práce prokázaly, že pomocí směsi emulgátorů lze připravit i z obtížně emulgovatelného konopného oleje emulze s velikostí olejových kapek v nano oblasti a stabilitou delší než jeden měsíc při skladování za běžné laboratorní teploty. Této skutečnosti lze využít dále například ve formulačních studiích při přípravě kosmetických prostředků nebo potravinářských výrobků.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] MATTHÄUS, Bertrand a Ludger BRÜHL. Virgin hemp seed oil: An interesting niche product. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2008, **110**(7), 655 - 661. ISSN 14387697. DOI: 10.1002/ejlt.200700311.

[2] POUSTKOVÁ, Ivana et al. Quality of hemp seed oil depending on its obtaining. *Potravinárstvo*. 2010, **4**(3), 53 - 57. ISSN 1337-0960. DOI: 10.5219/32.

[3] BOSY, T. Z. a K. A. COLE. Consumption and quantitation of Delta(9)-tetrahydrocannabinol in commercially available hemp seed oil products. *Journal of Analytical Toxicology*. 2000, **24**(7), 562 - 566.

[4] *Potravinářská Revue: odborný časopis pro výživu, výrobu potravin a obchod*. Praha: AGRAL s.r.o. 2008, č. 2, s. 31 - 34. ISSN 1801-9102.

[5] KADLEC, P. et al. *Technologie potravin II*, Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 236 s. ISBN 80-7080-510-2.

[6] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie potravin.* Ostrava: KEY Publishing, 2009, 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.

[7] HRABĚ, Jan, František BUŇKA a Ignác HOZA. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: pro kombinované studium*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007, 189 s. ISBN 978-80-7318-520-6.

[8] HENDRIKS, H., MALINGRE, T., BATTERMAN, S., BOS, R. The essential oil of Cannabis sativa. *In Pharmaceutisch Weekblad*, 1978, vol. 113, p. 413 - 424.

[9] ZAJÍC, J., BAREŠ, M. *Chemie a technologie tuků*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1988. 245 s.

[10] ČEPIČKA, Jaroslav. *Obecná potravinářská technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995, 246 s. ISBN 80-7080-239-1.

[11] OPEKAR, František. *Základní analytická chemie: pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. Praha: Karolinum, 2003, 201 s. ISBN 80-246-0553-8.

[12] DA PORTO, C., D. DECORTI a F. TUBARO. Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa L.*) seed oil extracted by supercritical

carbon dioxide. *Industrial Crops and Products*, 2012, **36**(1), 401 - 404. ISSN 09266690. DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.09.015.

[13] LATIF, Sajid a Farooq ANWAR. Physicochemical studies of hemp (*Cannabis sativa*) seed oil using enzyme-assisted cold-pressing. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2009, **111**(10), 1042 - 1048. ISSN 14387697. DOI: 10.1002/ejlt.200900008.

[14] ALANDER, J. et al. Handbook: *vegetable oils and fats*. 2nd ed., Karlshamn: AarhusKarlshamn. 2007, 252 s. ISBN 978-91-633-1420-9.

[15] PELIKÁN, Miloš: *Zpracování obilovin a olejnin*. 2. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2001. 148 s. ISBN 80-7157-525-9.

[16] GARDONOVÁ, Lenka. *Vliv vybraných aktivních látek na vlastnosti gelových a emulzních kosmetických základů* [online]. Brno, 2009 [cit. 2012-11-03]. Dostupné z: http://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=13602. Diplomová práce. Vysoké učení technické, fakulta chemická.

[17] LEIZER, Cary et al. The composition of hemp seed oil and its potential as an important source of nutrition. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods*. 2000, vol. **2**(4), 35 - 52.

[18] PLESS, Petra a Gero LESON. Guide to Hemp seed oil. *Leson enviromental consulting*. 1998. p. 2 - 11.

[19] PEČ, J., DUŠEK, J. Složení a využití konopného oleje se zaměřením na terapeutické účinky esenciálních mastných kyselin. *Praktické lékárenství.* [Olomouc]: Solen s.r.o., 2008. č. 2, s. 86 - 89. ISSN 1803-5329.

[20] *Obsah mastných kyselin v rostlinných olejích* [online]. [cit. 2012-11-03]. Dostupné z: http://www.nimbinwave.com/wordpress/wp-content/uploads/2009/09/hempstats.gif.

[21] GROTENHERMEN, Franjo. *Konopí jako lék: praktický rádce k využívání konopí a dronabinolu v medicíně*. Olomouc: Fontána, 2009, 231 s. ISBN 978-80-7336-552-3.

[22] CALLAWAY, James et al. Efficacy of dietary hemp seed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment*. [2005], **16**(2), 87 - 94. DOI: 10.1080/09546630510035832.

[23] SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2002, **56**(8), 365 - 379. DOI 10.1016/S0753-3322(02)00253-6.

[24] MATTHÄUS, Bertrand et al. Hempseed oil – Influence of genotype on the composition in a two-year study. *Journal of Industrial Hemp*. 2005, **10**(2), 45 - 65. ISSN 1537-7881. DOI: 10.1300/J237v10n02_05.

[25] OOMAH, B. Dave, Muriel BUSSON, David V. GODFREY a John C. G. DROVER. Characteristic of hemp (*Cannabis sativa*) seed oil. *Food Chemistry*. 2002, **76**(1), 33 - 43. ISSN 03088146. DOI: 10.1016/S0308-8146(01)00245-X.

[26] VECKA, M., A. ŽÁK a E. TVRZICKÁ. Rostlinné steroly jako funkční potraviny. *Časopis lékařů českých*. Praha: Nakladatelství Olympia, 2007, **146**(4). DOI: 0008-7335.

[27] CALLAWAY, J. C. Hempseed as nutritional resource: An overview. *Euphytica*. 2004, **140**(1-2), 65 - 72. ISSN 0014-2336. DOI: 10.1007/s10681-004-4811-6.

[28] *Funkce konopí* [online]. Teplice: CANNABIS Pharma-derm, ©2006 - 2011. [cit. 2012-08-17]. Dostupné z: http://www.cannaderm.cz/cs/clanek/26/jak-funguje-konopi-v-kosmetice.htm.

[29] ŠMIDRKAL J. et al. *Aktivní složky v kosmetických přípravcích VI*. Ústav technologie mléka a tuků. VŠCHT Praha. 1. Lékařská fakulta UK. Praha. Přednáška

[30] HRABÁLEK A. a K. VÁVROVÁ: Role ceramidů v kůži. *Praktické lékárenství*. [Olomouc]: Solen s.r.o., 2006, č. 2, s. 55 - 58. ISSN 1803-5329.

[31] MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR, *Český lékopis 2009, doplněk 2010*. Grada Publishing a.s., 2010, 1424 s. ISBN 978-80-247-3436-1.

[32] DAVÍDEK, Jiří a Jan VELÍŠEK. *Analýza potravin*. Praha: VŠCHT, 1988, 122 s.

[33] NIELSEN, S. *Food analysis*. 3rd ed. PIKE OSCAR. New York: Springer, 2003, 557 p. ISBN 0-306-47495-6.

[34] POMERANZ, Yeshajahu a Clifton E. MELOAN. *Food analysis: theory and practice*. 3rd ed. Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000, 778 p. ISBN 0-8342-1826-7.

[35] *Chemie a technologie tenzidů a detergentů*. [online]. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007 [cit. 2012-07-21]. Dostupné z: http://utb-

files.cepac.cz/moduly/M0006_chemie_a_technologie_tuku_a_detergentu/distancni_text_II/M0006_chemie_a_technologie_tuku_a_detergentu_distancni_text_ii.pdf.

[36] O'BRIEN, Richard D. *Fats and oils: formulating and processing for applications*. 2nd ed. BocaRaton, Fla.: CRC Press, 2004, 592 p. ISBN 0849315999.

[37] VELÍŠEK Jan. *Chemie potravin I*. 3. přeprac. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 580 s. ISBN 978-80-86659-15-2.

[38] DAVÍDEK, Jiří. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981, 718 s.

[39] PĚNČÍKOVÁ, Hana. *Analytická chemie a chemická laboratorní cvičení: Učební text pro 4. ročník*. Brno: Ediční středisko MZLU, 2003. Učební texty. 116 s.

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

[41] HUBÁČEK, Jaromír et al. *Chemie pro vysoké školy zemědělské*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1988, 767 s.

[42] ZÝKA, Jaroslav. *Analytická příručka*. 4., upravené vyd. Praha: SNTL, 1988, II. díl. 831 s.

[43] KAŠPÁRKOVÁ V. *Chemie a technologie tuků I*. Přednáška. Zlín, Univerzita Tomáše Bati, fakulta technologická.

[44] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004, 264 s. ISBN 80-246-0852-9.

[45] CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1990, 394 s. ISBN 80-03-00569-8.

[46] CHRISTIE, William W. Gaschromatography and lipids. *The Lipid Library – Lipid Chemistry, Biology, Technology and Analysis* [online]. The American Oil Chemists' Society, [1989]. [cit. 2012-7-25]. Dostupné z: http://lipidlibrary.aocs.org/gc_lipid/gc_lip.html.

[47] ZÝKA, Jaroslav. *Analytická příručka*. 4., upravené vyd. Praha: SNTL, 1988, I. díl. 678 s.

[48] ROUESSAC, Francis a Annick ROUESSAC. *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*. 2nd ed. Chichester: John Wiley, 2007, 574 s. ISBN 978-0-470-85903-2.

[49] ZACHAŘ, P. a D. SÝKORA. *Plynová chromatografie*. [online]. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2009. [cit. 2012-07-25]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf. Učební texty.

[50] *One – Step triglyceride separation by reversed phase HPLC without argentation.* SULPECO, Bulletin 787D, 1997, Sigma-Aldrich. Firemní literatura.

[51] BLAŽEK, A. *Termická analýza*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1972, 294 s.

[52] EHRENSTEIN, Gottfried W, Gabriela RIEDEL a Pia TRAWIEL. *Thermal Analysis of Plastic: Theory and Practice*. Munich: Hanser Gardner Publications, 2004, 368 s. ISBN: 1-56990-362-X.

[53] BILIADERIS, C. Differential scanning calorimetry in food research - A review. *Food Chemistry*, 1983, **10**(4), 239 - 265, ISSN 0308-8146. DOI: 10.1016/0308-8146(83)90081-X.

[54] OOMAH, B. Dave, Muriel BUSSON, David V. GODFREY a John C. G. DROVER. Characteristics of hemp (Cannabis sativa L.) seed oil. *Food Chemistry*, 2002, **76**(1), 33 - 43. ISSN 03088146. DOI: 10.1016/S0308-8146(01)00245-X.

[55] TAN, C. P. a Y. B. CHE MAN. Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: Comparison of thermal properties and chemical composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2000, **77**(2), 143 - 155. ISSN 0003-021x. DOI: 10.1007/s11746-000-0024-6.

[56] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchu a koloidních soustav*. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN: 80-7080-579-X.

[57] MCCLEMENTS, D. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. 2nd ed. BocaRaton: CRC Press, 2005, 609 s. ISBN 0-8493-2023-2.

[58] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Co je co v povrchové a koloidní chemii: výkladový slovník* [online]. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005 [cit. 2012-07-15]. Dostupné z: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/ebook.help.htm>.

[59] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. Olomouc: Univerzita Palackého, katedra fyzikální chemie, přírodovědecká fakulta, 2007, 52 s.

[60] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999, 304 s. ISBN: 80-902391-4-5.

[61] RHEIN, Linda D. et al. *Surfactants in personal care products and decorative cosmetics*. 3rd ed. BocaRaton: CRC Press, 2007, 480 s. ISBN 1-57444-531-6.

[62] TADROS, Tharwat, P. IZQUIERDO, J. ESQUENA a C. SOLANS. Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2004, vol. 108 - 109, p. 303 - 318. ISSN 00018686. DOI: 10.1016/j.cis.2003.10.023.

[63] KUBELKA, Václav. *Tuky, oleje a emulse v koželužství*. Bratislava: Slovenská akadémia vied, 1954, 264 s.

[64] BINKS, Edited by Bernard P. *Modern aspects of emulsion science*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 1998, 430 s. ISBN 0854044396.

[65] JANICKI, T., FIEBIG, A., SZNITOWSKA, M. *Farmacja Stosowana.* 4. vyd. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZVL, 2002. 719 s. ISBN 83-200-2717-9.

[66] VACLAVIK, Vickie a Elizabeth W. CHRISTIAN. *Essentials of food science*. 3rd ed. New York, NY: Springer, 2008, 571 s. ISBN 978-038-7699-394.

[67] ROMANOWSKI, Perry a Randy SCHUELLER. *Beginning cosmetic chemistry: practical knowledge for the cosmetic industry*. 3rd ed. Carol Stream: Allured books, 2009, 531 s. ISBN 19-326-3353-7.

[68] TADROS, Th. *Emulsion science and technology*. Weinheim: Wiley-VCH, 2009, 326 s. ISBN 35-273-2525-5.

[69] SAPINO, S. et al. Hemp-seed and olive oils: their stability against oxidation and use in O/V emulsions. *Journal of cosmetics science*, 2005, vol. 56, p. 227 - 251.

[70] CHUNG, Hesson, Tae Woo KIM, Ick Chan KWON a Seo Young JEONG. Stability of the oil-in-water type triacylglycerol emulsions. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2001, **6**(4), 284 - 288. ISSN 1226-8372. DOI: 10.1007/BF02931991.

[71] ANWAR, Farooq, Sajid LATIF a Muhammad ASHRAF. Analytical characterization of hemp (Cannabis sativa) seed oil from different agro-ecological zones of Pakistan. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2006, **83**(4), 323 - 329. ISSN 0003-021x. DOI: 10.1007/s11746-006-1207-x.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	Absorbance.
CD	Konjugované dieny.
CO_2	Oxid uhličitý.
CT	Konjugované trieny.
DSC	Diferenční skenovací kalorimetrie.
ΔH	Entalpie tání.
GC	Plynová chromatografie.
HCl	Kyselina chlorovodíková.
HLB	Hydrofilně-lipofilní rovnováha.
HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie.
$K_2Cr_2O_7$	Dichroman draselný.
KI	Jodid draselný.
KOH	Hydroxid draselný.
LDL	Low-density lipoprotein.
MK	Mastná kyselina.
NaCl	Chlorid sodný.
NaOH	Hydroxid sodný.
$Na_2S_2O_3$	Thiosíran sodný.
O/V	Emulze typu olej ve vodě.
THC	Tetrahydrocannabinol.
T_o	Teplota počátku tání.
T_m	Teplota tání píku.
V/O	Emulze typu voda v oleji.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Schéma technologie procesů výroby rostlinných olejů [5]. 13

Obr. 2. Obsah mastných kyselin v rostlinných olejích [20]. 18

Obr. 3: Různé mechanismy rozpadu emulze [57, s. 6]. 37

Obr. 4. Závislost peroxidového čísla olejů v závislosti na době tepelného namáhání. 62

Obr. 5. Závislost indexu lomu olejů na čase tepelného namáhání při Shallově testu. 63

Obr. 6. Obsah konjugovaných dienův tepelně namáhaných olejích. 64

Obr. 7. Obsah konjugovaných trienů. 64

Obr. 8. GPC chromatogram konopného oleje Nobilis Tilia. 65

Obr. 9. Obsah polymeru 1 v tepelně namáhaných olejích. 66

Obr. 10. Obsah polymeru 2 v tepelně namáhaných olejích. 67

Obr. 11. Chování olejů při prvním zahřívání. 68

Obr. 12. Chování olejů při druhém zahřívání. 69

Obr. 13. Změny entalpie tepelně namáhaných olejů během skladování. 70

Obr. 14. Vliv rychlosti míchání emulze na velkost částic v průběhu skladování při koncentraci emulgátoru 5 % (Span 80, Tween 80). 73

Obr. 15. Distribuce velikosti částic pro emulze o HLB 7 s 5 % emulgátoru připravované rychlostí 13400 ot./min (červená křivka – distribuce získaná ihned po přípravě; zelená křivka – 8. den skladování emulze; modrá křivka – 15. den po přípravě). 74

Obr. 16. Vliv rychlosti míchání emulze na velkost částic v průběhu skladování při koncentraci emulgátoru 10 % (Span 80, Tween 80). 75

Obr. 17. Vliv rychlosti míchání emulze na velkost částic v průběhu skladování při koncentraci emulgátoru 5 % (Span 85, Tween 85). 77

Obr. 18. Vliv rychlosti míchání emulze na velkost částic v průběhu skladování při koncentraci emulgátoru 10 % (Span 85, Tween 85). 78

Obr. 19. Vliv rychlosti míchání emulze na velkost částic v průběhu skladování při použití emulgátoru Montanov. 79

Obr. 20. Distribuce velikosti částic pro emulze připravované rychlostí 1050 ot./min (červená křivka – distribuce získaná ihned po přípravě; zelená křivka – 4. den skladování emulze; modrá křivka – 8. den po přípravě)..... 80

Obr. 21. Distribuce velikosti částic pro emulze připravované rychlostí 13400 ot./min (červená křivka – distribuce získaná ihned po přípravě; zelená křivka – 7. den skladování emulze; modrá křivka – 15. den po přípravě)..... 80

Obr. 22. Pozorování emulzí, zleva: HLB 6, 10 % emulgátoru, 1050 ot./min; HLB 6, 10 % emulgátoru, 13400 ot./min; HLB 9, 10 % emulgátoru, 13400 ot./min; HLB 9, 10 % emulgátoru, 1050 ot./min 82

Obr. 23. Emulze míchaná rychlostí 1050 ot./min, HLB 10, 5 % emulgátoru Tween 80 a Span 80..... 82

Obr. 24. Velikost částic emulze o HLB 10 s 5 % emulgátoru Span 80 a Tween 80, míchaná rychlostí 1050 ot./min. 83

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Zisk, celková výnosnost a oxidační stabilita konopného oleje extrahovaného superkritickým CO_2 a n-hexanem dle Soxhleta [12, s. 403] ... 15

Tab. 2. Složení mastných kyselin v konopném oleji získaném lisováním za studena s enzymatickou předúpravou [13, s. 1046] 16

Tab. 3. Obsah mastných kyselin získaných superkritickou extrakcí a extrakcí n-hexanem dle Soxhlet [12, s. 403] 19

Tab. 4. Obsah MK v konopném oleji stanovený metodou GC [4, s. 32] 20

Tab. 5. Kvalitativní charakteristika konopného oleje lisovaného a extrahovaného [2] 20

Tab. 6. Rozsah HLB a jejich aplikace [68, s. 25] 39

Tab. 7. Vypočtená množství vodné, olejové fáze a emulgátorů Span 80, Tween 80 (vztaženo na 50 g emulze) 54

Tab. 8. Vypočtená množství vodné, olejové fáze a emulgátorů Span 85, Tween 85(vztaženo na 50 g emulze) 54

Tab. 9. Vypočtená množství vodné, olejové fáze a emulgátoru Montanov 68 (vztaženo na 50 g emulze) 54

Tab. 10. Hodnoty čísla kyselosti 57

Tab. 11. Hodnoty čísla zmýdelnění 58

Tab. 12. Hodnoty jodového čísla 59

Tab. 13. Stanovené množství mastných kyselin v olejích 60

Tab. 14. Množství mastných kyselin v olejích dle certifikátu výrobců 60

Tab. 15. Hodnoty peroxidového čísla tepelně namáhaných olejů 62

Tab. 16. Přehled kombinací použitých emulgátorů 71

Tab. 17. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při koncentraci emulgátoru 5 % (Span 80, Tween 80) 72

Tab. 18. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při koncentraci emulgátoru 10 % (Span 80, Tween 80) 72

Tab. 19. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při koncentraci emulgátoru 5 % (Span 85, Tween 85) 76

Tab. 20. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při koncentraci emulgátoru 10 % (Span 85, Tween 85) 76

Tab. 21. Velikost částic stanovená po přípravě emulzí při použití emulgátoru Montanov 79

SEZNAM PŘÍLOH

P I Analytický certifikát oleje M+H.

P II Analytický certifikát oleje Nobilis Tilia.

PŘÍLOHA P I: ANALYTICKÝ CERTIFIKÁT OLEJE M+H

Product - Specification

gustavheess
group of companies since 1897

Reg-No.: Sp305020c
Rev-No.: c

Printing Date: 27. December 2011
Page: 1

Product / Trading-Name: **Hemp oil cold pressed**

Description: Hemp oil is obtained by cold expression from low THC Cannabis sativa seeds.
Product No.: 305020
CAS No.: 89958-21-4
EINECS No.: 289-644-3
INCI Name: Cannabis Sativa Seed Oil
Properties: Dark green oil with typical odour and taste. Insoluble in water, miscible with ether and petreoleum spirit.

Parameter	Method	Unit	Value
Physical and Chemical Characteristics			
acid value	Ph. Eur. [2.5.1]	mg KOH/g	max. 4,0
peroxide value	Ph. Eur. [2.5.5]	meq O2/kg	max. 10,0
refractive index (20 °C)	Ph. Eur. [2.2.6]		ca. 1,479
iodine value	Ph. Eur. [2.5.4]	g I2/100g	145,0 - 170,0
THC (for Germany)		ppm	max. 5,0
THC (for Export)		ppm	max. 10,0
Fatty Acid Composition (GC of FAMEs)			
16:0 palmitic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	4,5 - 12,5
16:1 palmitoleic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	max. 1,0
18:0 stearic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	0,5 - 4,5
18:1 oleic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	5,5 - 20,5
18:2 linoleic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	44,5 - 65,5
18:3 gamma linolenic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	min. 1,0
18:3 alpha linolenic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	13,5 - 30,5
20:0 arachidic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	max. 2,0
20:1 eicosenoic aicd	Ph. Eur. [2.4.22]	%	max. 1,0
22:0 behenic acid	Ph. Eur. [2.4.22]	%	max. 1,0

Storage:
Keep in well closed, well filled containers or under inert gas, protect from light, cool and dry.
Residual Solvents:
It complies with the guideline CPMP/ICH/283/95 and CPMP/ICH/1940/00 corr. (residual solvents)

Created:	OF	Checked:	LL	Released:	Schw
Date:	21.12.11	Date:	21.12.11	Date:	21.12.11

DNV Certified Company

PŘÍLOHA P II: ANALYTICKÝ CERTIFIKÁT OLEJE NOBILIS TILIA

ANALYTICKÝ CERTIFIKÁT

Název produktu: Konopný olej za studena lisovaný

Název dle INCI/*CTFA:* *Cannabis Sativa Seed Oil*

Kód NT: R1086

Šarže: 0118608

Datum expirace: **1.1.2013**

Parametr	Jednotka	Specifikace	Výsledek
Číslo kyselosti	mg KOH/g tuku	<2	2,2
Peroxidové číslo	miliekv./kg vzorku	<5	odpovídá
Refrakce (20°C)		1,45 - 1,49	1,48
Relativní hustota (20°C)	$g.cm^{-3}$	0,92 - 0,94	0,92
Číslo zmýdelnění	mg KOH / g	195 - 199	191
Iodové číslo	g I_2 / 100g	145 - 165	158

Spektrum mastných kyselin (%)					
Název kyseliny	**Specifikace**	**%**	**Název kyseliny**	**Specifikace**	**%**
14:0 Myristová			18:2 Linolová	*45 - 65*	*56,12*
16:0 Palmitová	5 - 12	6,79	18:3 Linolenová (alfa)	14 - 30	15,5
16:1 Palmitoolejová	<1	0,11	18:3 Linolenová (gamma)	>1	2,31
17:0 Heptadekanová		<0,05	20:0 Arachidonová	0 - 2	0,92
17:1 Heptadecenová		<0,05	20:1 Eikosenová	<1	0,43
18:0 Stearová	1 - 4,5	3,02	22:0 Behenová		0,34
18:1 Olejová	*10 - 16*	*13,6*	24:0 Lignocerová		0,14

Vypracoval: Radiměřský

Nobilis Tilia, s.r.o.
Vlci Hora 147, 407 46 Krasna Lipa
Tel.: +420 412 383 421
Fax: +420 412 383 899
E-mail: nobilis@nobilis.cz
Web: www.nobilis.cz