

# **Změna složení mastných kyselin v netradičních olejích v závislosti na skladování**

Bc. Romana Hájková

---

Diplomová práce  
2014

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2013/2014

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Romana Hájková**  
Osobní číslo: **T12543**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**  
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Změna složení mastných kyselin v netradičních olejích v závislosti na skladování**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Charakterizujte mastné kyseliny a jejich zastoupení v rostlinných olejích.
2. Popište oxidační děje, které mohou probíhat v rostlinných olejích vlivem skladování.
3. Popište metody stanovení mastných kyselin v olejích.
4. Popište metody zjišťující stupeň oxidačních změn v olejích.

### II. Praktická část

1. Metodika stanovení mastných kyselin v rostlinných olejích.
2. Metodika stanovení peroxidového čísla a čísla kyselosti tuků.
3. Stanovení obsahu mastných kyselin ve vzorcích rostlinných olejů v časových periodách.
4. Stanovení peroxidového čísla a čísla kyselosti ve vzorcích rostlinných olejů v časových periodách.
5. Zjistěte případné změny složení mastných kyselin a úroveň oxidace rostlinných olejů v závislosti na délce skladování.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*, OSSIS, Tábor 1999.
2. CABALARO, G. *Encyklopedia of human nutrition, second edition*, Oxford 2005.
3. CHURAČEK, J. a kol. *Analytická separace látek*, 1. vydání, SNTL, Praha 1990.
4. KLOUDA, P. a kol. *Moderní analytické metody*, 1. vydání, Ostrava 2003.
5. MIKEŠ, O. a kol. *Laboratorní chromatografické metody*, 2. vydání, SNTL, Praha 1980.
6. Wertz, P. W. *Essential fatty acids and dietary stress. Toxicology and Industrial Health*. 2009, 25, 279-83.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.**

Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**10. února 2014**

Termín odevzdání diplomové práce:

**2. května 2014**

Ve Zlíně dne 10. února 2014

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.

*děkan*



Ing. Jiří Mlček, Ph.D.

*ředitel ústavu*

# PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> 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 ..... 2.5.2014

.....  
Hajek Roman

<sup>1)</sup> 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 nevydělečně 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.*

<sup>2)</sup> *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).*

<sup>3)</sup> *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**

Rostlinné oleje jsou důležitou součástí lidské stravy a jejich konzumace významně ovlivňuje zdraví člověka. Cílem této práce bylo zjistit kvalitativní a kvantitativní změny mastných kyselin u třinácti vzorků vybraných rostlinných olejů. Vzorky olejů byly v průběhu skladování podrobeny analýze plynovou chromatografií s plamenově-ionizačním detektorem a následně vyhodnoceny. Současně byla stanovena peroxidová čísla a čísla kyselosti vzorků olejů vyjadřující stupeň žluklosti vznikající při dlouhodobém skladování. Kvantitativní změny tukových čísel olejů byly sledovány po dobu čtrnácti měsíců skladování.

**Klíčová slova:** mastné kyseliny, plynová chromatografie, rostlinný olej, skladování, žluknutí

## **ABSTRACT**

Vegetable oils are important part of human nutriment and their consumption influences human health significantly. The goal of this thesis was to find out qualitative and quantitative changes of fatty acids of thirteen chosen vegetable oil samples. During storage the oil samples were analyzed by gas chromatography with flame-ionization detector and afterwards evaluated. At the same time peroxide value and acid value of oil samples were established to express the level of rancidity caused by long-term storage. Quantitative changes of peroxide and acid values were observed for a fourteen month-storage period.

**Keywords:** fatty acids, gas chromatography, vegetable oil, storage, rancidity

Na tomto místě bych ráda poděkovala své vedoucí diplomové práce, Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph.D., za odborné rady, trpělivost a čas, které mi při psaní této práce věnovala. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Mgr. Jarmile Vávra Ambrožové za výpomoc a odborné rady týkající se praktické části této práce.

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



# OBSAH

<b>ÚVOD .....</b>	<b>11</b>
<b>TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>12</b>
<b>1 CHARAKTERISTIKA MASTNÝCH KYSELIN A JEJICH ZASTOUPENÍ V ROSTLINNÝCH OLEJÍCH.....</b>	<b>13</b>
1.1 STRUKTURA A NÁZVOSLOVÍ MASTNÝCH KYSELIN .....	13
1.2 NASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY .....	14
1.3 NENASYCENÉ MASTNÉ KYSELINY .....	15
1.3.1 Monoenové mastné kyseliny .....	16
1.3.2 Polyenové mastné kyseliny.....	17
1.3.2.1 Esenciální mastné kyseliny.....	18
1.4 ROSTLINNÉ ZDROJE MASTNÝCH KYSELIN .....	19
1.4.1 Řepka olejná.....	20
1.4.2 Slunečnice roční .....	20
1.4.3 Podzemnice olejná.....	21
1.4.4 Sezam indický .....	22
1.4.5 Rýže setá.....	23
1.4.6 Konopí seté .....	23
1.4.7 Dýně velkoplodá .....	24
1.4.8 Ostropestřec mariánský .....	25
1.4.9 Réva vinná .....	25
1.4.10 Světllice barvířská .....	26
1.4.11 Pšenice setá .....	27
1.4.12 Kokosovník ořechoplodý.....	27
1.4.13 Mandloň obecná .....	28
<b>2 OXIDAČNÍ ZMĚNY ROSTLINNÝCH OLEJŮ BĚHEM SKLADOVÁNÍ.....</b>	<b>29</b>
2.1 ŽLUKNUTÍ OLEJŮ.....	29
2.1.1 Oxidační žluknutí.....	30
2.1.1.1 Autooxidace .....	31
2.1.1.2 Enzymová oxidace .....	32
2.1.2 Hydrolytické žluknutí.....	33
2.1.3 Parfémové žluknutí .....	33
2.1.4 Chuťová reverze.....	33
2.2 OCHRANA OLEJŮ PŘED OXIDACÍ.....	33
<b>3 METODY STANOVENÍ MASTNÝCH KYSELIN V OLEJÍCH .....</b>	<b>35</b>
3.1 CHROMATOGRAFICKÉ METODY .....	35
3.1.1 Plynová chromatografie.....	37
3.1.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie .....	38
3.1.3 Tenkovrstevná chromatografie .....	39
3.2 SPEKTROSKOPICKÉ METODY.....	39
3.2.1 Infračervená spektroskopie .....	40
3.2.2 Ramanova spektroskopie .....	40
<b>4 METODY ZJIŠTŮJÍCÍ STUPEŇ OXIDAČNÍCH ZMĚN V OLEJÍCH.....</b>	<b>42</b>
4.1 ANALÝZA PRIMÁRNÍCH OXIDAČNÍCH PRODUKTŮ.....	42
4.1.1 Jodometrické stanovení .....	43
4.1.2 Spektrometrické stanovení.....	43

4.2	ANALÝZA SEKUNDÁRNÍCH OXIDAČNÍCH PRODUKTŮ .....	44
4.2.1	Stanovení thiobarbiturového čísla .....	45
4.2.2	Stanovení p-anisidinového čísla.....	45
4.2.3	Chromatografické metody .....	46
<b>PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>		<b>47</b>
<b>5</b>	<b>CÍL PRÁCE .....</b>	<b>48</b>
<b>6</b>	<b>MATERIÁL A METODIKA.....</b>	<b>49</b>
6.1	POUŽITÝ MATERIÁL.....	49
6.2	STANOVENÍ FAS V ROSTLINNÝCH OLEJÍCH.....	49
6.2.1	Použité chemikálie, pomůcky a přístroje.....	49
6.2.2	Příprava methylesterů.....	50
6.2.3	Postup stanovení.....	51
6.2.4	Kvalitativní a kvantitativní analýza FAs .....	52
6.3	STANOVENÍ ČÍSLA KYSELOSTI.....	53
6.3.1	Použité chemikálie a pomůcky .....	53
6.3.2	Vyjádření výsledků .....	55
6.4	STANOVENÍ PEROXIDOVÉHO ČÍSLA .....	55
6.4.1	Použité chemikálie a pomůcky .....	55
6.4.2	Vyjádření výsledků .....	57
6.5	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ .....	57
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>	<b>58</b>
7.1	KVANTITATIVNÍ VYHODNOCENÍ MASTNÝCH KYSELIN .....	58
7.2	ZMĚNY V ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN BĚHEM SKLADOVÁNÍ.....	70
7.3	ZMĚNY TUKOVÝCH ČÍSEL BĚHEM SKLADOVÁNÍ.....	72
<b>ZÁVĚR.....</b>		<b>82</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>		<b>84</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>		<b>92</b>
<b>SEZNAM TABULEK .....</b>		<b>94</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>		<b>95</b>

## ÚVOD

Mastné kyseliny představují nejdůležitější a z hlediska výživy i nejvýznamnější složku lipidů – esterů vyšších mastných kyselin a alkoholů nebo jejich derivátů. Lipidy plní v organismu několik významných funkcí. V organismu jsou zdrojem energie a uhlíku pro syntézu buněk a navíc mají ochrannou a termoregulační funkci. V přírodě se mastné kyseliny převážně vyskytují se sudým počtem atomů uhlíku v molekule a podle struktury uhlovodíkového řetězce se mastné kyseliny rozdělují na nasycené a nenasycené. Nasycené mastné kyseliny, které neobsahují v molekule dvojnou vazbu, jsou příčinou zvýšené hladiny celkového cholesterolu a mohou tak podporovat vznik kardiovaskulárních onemocnění. Nenasycené mastné kyseliny mohou tvořit dvě různé konfigurace, zvané cis a trans. V přírodě značně převažují mastné kyseliny s konfigurací cis, zatímco trans-nenasycené mastné kyseliny vznikají hlavně během katalytické hydrogenace rostlinných olejů. Nenasycené mastné kyseliny jsou přítomny převážně v olejnatých semenech rostlin.

Rostlinné oleje, získávané lisováním nebo extrakcí olejnatých semen rostlin, jsou důležitým zdrojem (n-3) a (n-6) nenasycených mastných kyselin. Rostlinné oleje, zvláště bohaté na nenasycené mastné kyseliny, podléhají v průběhu skladování oxidačním reakcím, které vedou ke vzniku škodlivých oxidačních produktů – peroxidů, hydroperoxidů, aldehydů, uhlovodíků aj. K urychlení oxidace napomáhá řada faktorů, zejména světlo, teplo, kyslík a některé kovy. Výsledkem oxidačních reakcí je žluknutí olejů, které se projevuje změnou barvy a konzistence olejů a typickým zápachem, který se v odborné literatuře nazývá off-flavour. Ze zdravotního hlediska jsou žluklé oleje zcela nevhodné ke konzumaci.

Pro měření oxidace lipidů se běžně využívá řada analytických metod, přesto však dosud neexistuje žádná univerzální metoda, která by identifikovala všechny oxidační změny všech potravinových systémů. Mezi klasické metody popisující stupeň oxidace patří stanovení peroxidového, thiobarbiturového a p-anisidinového čísla. Pro urychlení analýz se stále častěji využívají moderní instrumentální metody, zejména chromatografické a spektroskopické.

Fyzikální a chemické vlastnosti rostlinných olejů jsou do určité míry ovlivněny druhem i podílem jednotlivých FAs. V analýze lipidů se používá řada metod, kterými je možné stanovit celkový obsah lipidů, tukové charakteristiky, jednotlivé složky lipidů včetně jejich průvodních látek. Chromatografické a spektroskopické metody jsou používány nejen ke stanovení stupně oxidace rostlinných olejů, ale i k určení zastoupení jednotlivých mastných kyselin a jejich obsahů v rostlinných olejích. Každý rostlinný olej má své charakteristické složení, které umožňuje identifikovat jeho botanický původ. Díky analýze složení je také možné určit pravost olejů nebo stanovit jejich nutriční hodnotu.

## I. TEORETICKÁ ČÁST

# 1 CHARAKTERISTIKA MASTNÝCH KYSELIN A JEJICH ZASTOUPENÍ V ROSTLINNÝCH OLEJÍCH

Mastné kyseliny – FAs (angl. Fatty Acids) představují nejdůležitější a z hlediska výživy i nejvýznamnější složku lipidů. Po chemické stránce se jedná o karboxylové kyseliny s dlouhým poměrně nereaktivním hydrofóbním alifatickým uhlovodíkovým řetězcem a reaktivní karboxylovou skupinou. FAs jsou molekuly ve vodě nerozpustné a v buňkách se jako volné běžně nevyskytují. Obvykle se FAs nachází ve formě esterifikované jako součást lipidů – esterů vyšších mastných kyselin a alkoholů. Lipidy jsou nejvýznamnějším zdrojem energie a uhlíku pro syntézu buněčných složek. Podkožní tuk slouží jako termoizolační vrstva a také chrání orgány před mechanickým poškozením. Vyšší organismy syntetizují FAs převážně se sudým počtem atomů uhlíku, které jsou často doprovázeny kyselinami s lichým počtem atomů uhlíku v molekule. V živé přírodě se často vyskytují FAs s počtem 4 až 26 atomů uhlíku. Mastné kyseliny, které obsahují více než 10 atomů uhlíku, jsou označovány jako vyšší mastné kyseliny. [1, 2]

V lidském organismu jsou FAs ukládány ve formě triacylglycerolů – TAGs (angl. Triacylglycerols), ve kterých je glycerol esterifikován třemi, většinou různými, FAs. FAs jak volné, tak vázané v lipidech, mají mnoho nezastupitelných úloh v metabolismu, jako jsou přenos a skladování energie, syntéza eikosanoidů, regulace genů aj. V současné době mají FAs uplatnění nejen v potravinářském, ale i farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, kde slouží jako pomocné látky při výrobě léků, tukových preparátů, mýdel aj. [2]

## 1.1 Struktura a názvosloví mastných kyselin

Jak v přírodě, tak v potravinách se mohou v lipidech vyskytovat následující mastné kyseliny:

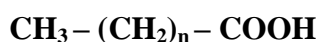
- nasycené mastné kyseliny,
- nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou – monoenové,
- nenasycené mastné kyseliny s více dvojnými vazbami – polyenové. [1]

Mastné kyseliny s trojnými vazbami se v potravinách nevyskytují. FAs mohou být označeny jak systematickými, tak triviálními názvy. Systematický způsob značení se využívá k popisu polohy dvojných vazeb od konce molekuly FA (angl. Fatty Acid). Molekula FA je tvořena uhlíkatým řetězcem s metylovou skupinou  $-CH_3$  na jednom konci molekuly a karboxylovou skupinou  $-COOH$  na opačném konci molekuly. K popisu dvojných vazeb, která se nachází u koncové metylové skupiny, lze použít označení řeckým písmenem  $\omega$ , případně písmenem n. V odborné literatuře je možné se

setkat u FAs se zkrácenou formou zápisu CN:M, kde N je počet atomů uhlíku v molekule a M je počet dvojných vazeb. [2]

## 1.2 Nasycené mastné kyseliny

Většina nasycených mastných kyselin – SFAs (angl. Saturated Fatty Acids) představují přímé uhlovodíkové řetězce se sudým počtem atomů uhlíku v molekule. SFAs neobsahují v molekule dvojně vazby a zůstávají tuhé při pokojové teplotě. Nejběžnější SFAs obsahují v molekule 12 až 22 atomů uhlíku. V potravinách jsou převážně zastoupeny kyseliny palmitová (C16:0) a stearová (C18:0). SFAs slouží především jako důležitý zdroj energie a v potravě jsou většinou doprovázeny cholesterolem. Na druhou stranu SFAs podporují vznik obezity a aterosklerózy, což je skutečnost obecně známá u SFAs se střední délkou řetězce. Nižší SFAs představují hlavní tukovou složku mléčného, palmového a kokosového tuku. SFAs jsou díky vyšším bodům tání za normálních podmínek velmi stabilní, proto dochází k nežádoucím oxidačním reakcím až při působení vyšších teplot. Názvosloví SFAs je uvedeno na Obr. 1. [1, 2]



*Obr. 1. Obecný vzorec nasycené mastné kyseliny. [1]*

Z krevních lipidů mají největší význam cholesterol a triglyceridy. Nadměrný příjem tuků s vyšším obsahem SFAs je spojen se zvýšenou koncentrací nízkodenzitního LDL cholesterolu (z angl. LDL – Low Density Lipoprotein), který obsahuje apolipoprotein B, který je odpovědný za ukládání cholesterolu v krvi. Kyselina myristová (C14:0) má největší vliv na cholesterolémii. Tato FA zvyšuje hladinu jak LDL, tak HDL cholesterolu. Kyselina palmitová (C16:0) zvyšuje hladinu obou lipoproteinových frakcí a tím i hladinu celkového cholesterolu. Na rozdíl od předchozích SFAs má kyselina stearová (C18:0) v organismu odlišné chování. Pomáhá snižovat LDL cholesterol, čímž dochází ke snížení celkové hladiny cholesterolu v krvi, proto je její vliv považován v organismu za příznivý. Přesto existuje málo důkazů, které by potvrdily souvislost mezi nižším příjmem SFAs vedoucího ke sníženému výskytu srdečních chorob. Při snížení příjmu nasycených mastných kyselin pod 9 % z celkového příjmu energie je chybějící zdroj energie nahrazen sacharidy, avšak vyšší podíl rafinovaných cukrů může vést ke vzniku aterogenní dyslipidémie. Tato metabolická porucha souvisí se zvýšenou koncentrací LDL cholesterolu a TAGs na úkor snížené hladiny prospěšného vysokodenzitního cholesterolu HDL (z angl. HDL – High Density Lipoprotein). Z toho důvodu je nadměrný příjem sacharidů, zejména rafinovaných cukrů, považován za daleko nebezpečnější než nadměrný příjem SFAs. V Tab. 1 je uveden přehled nasycených mastných kyselin. [3]

Tab. 1. Přehled nasycených mastných kyselin. [1]

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Triviální název
butanová	4	máselná
hexanová	6	kapronová
oktanová	8	kaprylová
dekanová	10	kaprinová
dodekanová	12	laurová
tetradekanová	14	myristová
hexadekanová	16	palmitová
oktadekanová	18	stearová
eikosanová	20	arachová
dokosanová	22	behenová
tetrakosanová	24	lignocerová
hexakosanová	26	cerotová
oktakosanová	28	montanová
triakontanová	30	melissová
dotriakontanová	32	lakcerová

### 1.3 Nenasycené mastné kyseliny

Nenasycené mastné kyseliny vykazují na rozdíl od tuhých SFAs při pokojové teplotě olejovitou konzistenci. Za tuto vlastnost zodpovídají dvojně vazby, které vytváří nepravidelnost struktury dané molekuly a neumožňují tak její sbalení a vytvoření pevné konzistence. Dvojná vazba se nachází na povrchu molekuly, proto snáze podléhá oxidačním reakcím. Nenasycené FAs mohou tvořit dvě různé konfigurace, označované jako *cis* a *trans*. Tato geometrická izomerie má zásadní vliv na tvar i vlastnosti dané molekuly. V přírodě je možné se setkat hlavně s *cis* konfigurací, zatímco některé *trans*-nenasycené mastné kyseliny se přirozeně vyskytují v tuku přežvýkavců. Dvojně vazby v poloze *cis* obsahují dva atomy vodíku nacházející se na stejné straně molekuly nenasycených FAs, zatímco v *trans* konfiguraci jsou oba atomy vodíku na opačných stranách molekuly. Díky tomu zůstává uhlovodíkový řetězec napřímený jako u nasycených mastných kyselin. Naopak *cis* konfigurace způsobuje ohyb řetězce, proto mají *trans* izomery nižší body tání. [2, 4]

#### *Trans-nenasycené mastné kyseliny*

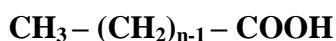
Trans-nenasycené mastné kyseliny – *trans*-FAs (angl. Trans Fatty Acids) jsou mononenasycené nebo polynenasycené mastné kyseliny, které mají alespoň jednu dvojnou vazbu v poloze *trans*. Díky tvaru molekuly v podobě napřímeného řetězce se *trans*-FAs podobají SFAs. *Trans*-FAs vznikají

přirozeně činností mikroorganismů v bacheru hovězího a skopového dobytka a mohou volně přecházet do mléka, mléčných výrobků, masa a masných výrobků, kde představují až 7 % z celkových FAs. Z potravy se pak tyto trans-FAs mohou v lidském organismu dostávat do depotního tuku. Z přírodních trans-FAs převažuje kyselina vakcenová (C18:1, *trans*-11). Trans-FAs se vyskytují v menší míře i v rostlinných zdrojích, např. granátová jablka obsahují kyselinu punikovou (C18:3, *cis, cis, trans*-9, 11, 13). [7, 8]

Trans-FAs vznikají převážně uměle průmyslovou katalytickou hydrogenací SFAs nebo dlouhodobým působením vyšších teplot. Částečná hydrogenace převádí rostlinné oleje na polotuhé tuky, které mají atraktivní vlastnosti pro tepelnou úpravu potravin. Tyto tuky se hojně využívají v potravinářském průmyslu na výrobu sušenek, koláčů a jemného pečiva. Hydrogenovaný olej obvykle obsahuje 15 až 25 % trans-FAs, které jsou možnou příčinou kardiovaskulárních onemocnění. V posledních letech podnikly velké potravinářské řetězce kroky vedoucí ke snížení obsahu trans-FAs. Na druhou stranu mohou vést tyto kroky ke změnám požadovaných technologických vlastností finálních produktů. [7, 8]

### 1.3.1 Monoenové mastné kyseliny

Nenasycené mastné kyseliny – MUFAs (angl. Monounsaturated Fatty Acids) s jednou dvojnou vazbou se v literatuře označují jako monoenové. Vzájemně se tyto molekuly liší počtem atomů uhlíku, polohou dvojných vazeb a její prostorovou konfigurací. Nejběžnější MUFAs mají délku řetězce s 12 až 22 atomy uhlíku s jednou dvojnou vazbou s *cis* konfigurací. Obecný vzorec MUFAs je uveden na Obr. 2.



Obr. 2. Obecný vzorec monoenové mastné kyseliny. [1]

Nejčastější monoenovou mastnou kyselinou rostlin, živočichů i mikroorganismů je kyselina olejová (C18:1, *cis*-9). Obecně je známo, že kyselina olejová a potraviny bohaté na tuto FA mají příznivý vliv na zdravotní stav člověka. Z takových účinků lze jmenovat např. snížení hladiny LDL cholesterolu a navýšení hladiny HDL cholesterolu. Jsou-li částice LDL cholesterolu bohaté na kyselinu olejovou, podléhají pak méně oxidaci. Příjem kyseliny olejové je také spojen s nižším krevním tlakem, proto může strava s vyšším obsahem této FA sloužit preventivně vůči vzniku kardiovaskulárních chorob. Z MUFAs je v přírodě také hojně zastoupena palmitolejová kyselina (C16:1, *cis*-9). Vyšší koncentrace této FA byly nalezeny v makadamiovém a rakytníkovém oleji. Kyselina eruková (C22:1, *cis*-13), která se běžně nachází v řepkovém a hořčičném oleji, je v lidském organismu metabolizována na kyselinu olejovou. V souvislosti s nepříznivými účinky kyseliny erukové podnikly



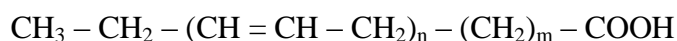
průmyslové společnosti na výrobu řepkového oleje důležité kroky, které vedly ke snížení obsahu této FA v rostlinných produktech. Vyšší koncentrace kyseliny erukové jsou nežádoucí, protože mohou v oleji vyvolat radikálové reakce vedoucí ke vzniku oxidačních produktů. Oleje s vyšší koncentrací volných radikálů mohou být pro organismus toxické. V posledních letech bylo objeveno mnoho dalších MUFAs, často však přítomných jen ve stopových množstvích. Přehled nejvýznamnějších MUFAs je znázorněn v Tab. 2. [1, 5]

Tab. 2. Monoenové mastné kyseliny. [1]

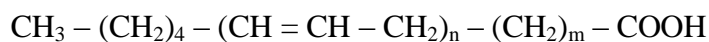
Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Poloha dvojně vazby	Izomer	Triviální název
decenová	10	9	<i>cis</i>	kaprolejová
dodecenová	12	3	<i>cis</i>	linderová
dodecenová	12	9	<i>cis</i>	laurolejová
tetradecenová	14	9	<i>cis</i>	myristolejová
hexadecenová	16	9	<i>cis</i>	palmitolejová
hexadecenová	16	9	<i>trans</i>	palmitelaidová
oktadecenová	18	9	<i>cis</i>	olejová
oktadecenová	18	9	<i>trans</i>	elaidová
oktadecenová	18	11	<i>trans</i>	vakcenová
dokosenová	22	13	<i>cis</i>	eruková
dokosenová	22	13	<i>trans</i>	brassidová

### 1.3.2 Polyenové mastné kyseliny

Nenasycené mastné kyseliny s více než jednou dvojnou vazbou – PUFAs (angl. Polyunsaturated Fatty Acids), jsou označovány jako polyenové. Dvojně vazby jsou v PUFAs vzájemně odděleny methylenovou skupinou. První dvojná vazba směrem od koncové methylové skupiny může ležet mezi 3. a 4. atomem uhlíku polyenové FA, pak se jedná o skupinu tzv. (n-3) PUFAs. V případě, že se první dvojná vazba od koncové methylové skupiny nachází mezi 6. a 7. atomem uhlíku, pak se jedná o skupinu tzv. (n-6) PUFAs. Lidský organismus není schopen si sám vytvářet tyto skupiny PUFAs, které se společně nazývají esenciální mastné kyseliny – EFAs (angl. Essential Fatty Acids). Obecné vzorce (n-3) PUFAs a (n-6) PUFAs jsou uvedeny na Obr. 3 a Obr. 4. [2, 3]



Obr. 3. Obecný vzorec (n-3) PUFAs. [1]



Obr. 4. Obecný vzorec (n-6) PUFAs. [1]

Hlavními prekurzory (n-3) PUFAs a (n-6) PUFAs jsou kyseliny  $\alpha$ -linolenová (C18:3, *all-cis*-9, 12, 15) a linolová (C18:2, *all-cis*-9, 12). Tyto PUFAs jsou tvořeny pomocí specifických enzymů z kyseliny olejové. Vzhledem k tomu, že živočišnému organismu chybí enzymy potřebné k vytvoření  $\alpha$ -linolenové kyseliny, nemůže si jí sám syntetizovat a je odkázán na její příjem potravou. PUFAs, které jsou vytvořené nižšími rostlinami a fytoplanktonem, jsou tedy nezbytné pro všechny vyšší organismy, včetně savců a ryb. V lidském organismu se PUFAs odbourávají nejčastěji mechanismem zvaným  $\beta$ -oxidace, kdy se z molekuly postupně odštěpuje acetyl-CoA a řetězec se zkrátí o dva atomy uhlíku. Mechanismus  $\beta$ -oxidace může probíhat buď v mitochondriích, nebo v peroxizomech. Některé dlouhořetězcové PUFAs, trans-nenasycené FAs a hydroxykyseliny se špatně odbourávají a představují tak pro organismus zátěž. Přehled nejvýznamnějších PUFAs je uveden v Tab. 3. [2, 3]

Tab. 3. Polyenové mastné kyseliny. [1]

Mastná kyselina	Počet atomů uhlíku	Poloha dvojných vazeb	Izomer	Triviální název
<i>dienové</i>				
oktadekadienová	18	9, 12	<i>cis, cis</i>	linolová
oktadekadienová	18	9, 12	<i>trans, trans</i>	linolelaidová
<i>trienové</i>				
oktadekatrienová	18	9, 12, 15	<i>all-cis</i>	$\alpha$ -linolenová
oktadekatrienová	18	6, 9, 12	<i>all-cis</i>	$\gamma$ -linolenová
oktadekatrienová	18	9, 11, 13	<i>cis, cis, trans</i>	puniková
<i>tetraenové</i>				
eikosatetraenová	20	5, 8, 11, 14	<i>all-cis</i>	arachidonová
<i>pentaenové</i>				
eikosapentaenová	20	5, 8, 11, 14, 17	<i>all-cis</i>	EPA
<i>hexaenové</i>				
dokosahexaenová	22	4, 7, 10, 13, 16, 19	<i>all-cis</i>	DHA

### 1.3.2.1 Esenciální mastné kyseliny

Komplex (n-3) a (n-6) PUFAs bývá ve starší literatuře často označován jako vitamin F a náleží mezi esenciální mastné kyseliny. Mnoho vědeckých studií poukázalo na příznivé účinky (n-3) PUFAs, a to zejména na preventivní účinky vůči možnému vzniku kardiovaskulárních chorob a zánětlivých onemocnění. Kromě toho mají tyto esenciální PUFAs pozitivní vliv na koncentraci lipidů a lipoproteinů v plasmě. Není tedy překvapivé, že existuje funkční vztah mezi příjmem (n-3) PUFAs a hladí-

nou TAGs v plasmě. Dále jsou tyto PUFAs tělu prospěšné díky svým neuroprotektivním účinkům, přičemž významnou roli pro činnost centrální nervové soustavy má kyselina DHA. [4, 5]

Zatímco (n-3) PUFAs mají spíše protizánětlivé účinky, (n-6) PUFAs naopak mohou podporovat vznik zánětu. Z tohoto důvodu je ze zdravotního hlediska důležité nejen množství EFAs v potravě, ale také jejich vzájemný poměr. Dle statistických odhadů dosahuje poměr EFAs v západní stravě až 20 : 1 ve prospěch (n-6) PUFAs, přestože je doporučován optimální poměr 1 : 2 až 1 : 4. Tato nerovnováha má za následek vznik mnoha zánětlivých a trombotických onemocnění, např. srdeční ischemické choroby, rakoviny, lupénky aj. Podle posledních studií nepředstavuje vyšší spotřeba SFAs zdaleka takové riziko jako právě nevyvážený poměr těchto EFAs. EFAs se podílejí na udržení normální nálady a jejich nedostatek, případně nadbytek, vede k depresivním stavům. Jedním z odůvodnění je narušení membránových funkcí díky nedostatečné tvorbě fosfolipidů. [5, 6].

Do skupiny (n-6) PUFAs náleží kyselina linolová (C18:2, *all-cis*-9, 12),  $\gamma$ -linolenová (C18:3, *all-cis*-6, 9, 12) a arachidonová (C20:4, *all-cis*-5, 8, 11, 14). Kyselina linolová je hlavní FA rostlinných lipidů a je prekurzorem pro kyselinu arachidonovou. Vyšší koncentrace linolové kyseliny byly zjištěny u slunečnicového a lněného oleje. Dalším zástupcem (n-6) PUFAs je kyselina arachidonová, která je hlavní složkou membránových fosfolipidů všech živočichů. Její nevýhodou je však nízký obsah v běžných potravinách. Kyselinu  $\gamma$ -linolenovou je obsažena převážně v brutnákovém a pupalkovém oleji. [5, 6]

Skupina (n-3) PUFAs se podílí na syntéze eikosanoidů a regulaci krevního oběhu. Tuto skupinu tvoří kyselina  $\alpha$ -linolenová (C18:3, *all-cis*-9, 12, 15), eikosapentaenová (C20:5, *all-cis*-5, 8, 11, 14, 17) a dokosaheptaenová (C22:6, *all-cis*-4, 7, 10, 13, 16, 19). Kyselina  $\alpha$ -linolenová je výchozí FA z (n-3) PUFAs pro syntézu dlouhořetězcových PUFAs – EPA a DHA. Syntéza však nemusí probíhat v dostatečném rozsahu, proto je nutné čerpat tyto PUFAs z dostupných zdrojů, a to zejména z ryb a produktů obohacených o tyto PUFAs. Základním článkem pro jejich syntézu je fytoplankton. [5, 6]

## 1.4 Rostlinné zdroje mastných kyselin

Velké množství rostlinných tuků je získáváno ze semen olejnin. Rostlinné oleje jsou významným zdrojem nepostradatelných esenciálních mastných kyselin a vitaminů rozpustných v tucích. Nejběžnější světové olejninové oleje jsou sója, slunečnice, podzemnice olejná, bavlník, kokosová palma, řepka olejná, olivovník, sezam indický, kukuřičné klíčky a hroznová jádra. Existují však i speciální rostlinné oleje, které se využívají pro dietní účely. Jsou to např. konopný olej, mandlový olej, olej

z pšeničných klíčků, olej ze světlice barviřské, olej z ostropestřece mariánského nebo olej z dýňových semen. Rostlinný olej se získává dvěma hlavními způsoby, a to lisováním nebo extrakcí rozpouštědly. [47]

#### 1.4.1 Řepka olejná

Řepkový olej se tradičně získává ze semen rostliny řepky olejně (*Brassica napus L.*), která patří do čeledi brukvovitých. Předními producenty řepkového oleje jsou Čína, EU, Indie, Kanada a Japonsko. V posledních dvou desetiletích se stala řepka olejná druhou nejvyužívanější surovinou pro výrobu rostlinných olejů. Řepkový olej je v současné době vyráběn jako nízkokerukový a nízkoglukosinolátový, kdy koncentrace kyseliny erukové dosahuje max. 2 % (v praxi obvykle max. 1 %) a množství glukosinolátů do 30  $\mu\text{mol/g}$  oleje. V poslední době byl vyvinut také řepkový olej s vyšším obsahem kyseliny laurové, který se používá do cukrářských krémů, šlehaných hmot nebo jako náhražka smetany do kávy. Dále je vyráběn řepkový olej s obsahem 40 % kyseliny stearové, který slouží jako náhrada hydrogenovaných tuků do pekárenských produktů. Jiný druh řepkového oleje obsahující až 10 % palmitové kyseliny se využívá ke zlepšení krystalizačních vlastností olejů nebo řepkový olej obsahující více než 40 % kyseliny  $\gamma$ -linolenové, který je vysoce cenný díky příznivým zdravotním účinkům. Řepka olejná je uvedena na Obr. 5. [9]



Obr. 5. Řepka olejná. [51]

#### 1.4.2 Slunečnice roční

Slunečnice roční (*Helianthus annuus L.*) je jednoletou rostlinou z čeledi hvězdnicovitých, která byla původně pěstována v Jižní Americe. Dnes jsou hlavními producenty Rusko, EU a Argentina. Slunečnice roční rostou pouze v určitých geografických oblastech, a proto jsou tyto olejniny pod konkurenčním tlakem jiných regionálních plodin. Slunečnicový olej se získává ze semen slunečnice,

která obsahují 35 až 40 % oleje, ve kterém převažuje kyselina linolová. Poptávka po slunečnicovém oleji s vysokým obsahem PUFAs prudce vzrostla v polovině 80. let minulého století. Tradičně je slunečnicový olej bohatý na kyselinu linolovou. Navzdory této skutečnosti je vyráběn slunečnicový olej s obsahem 80 % kyseliny olejové. Nevýhodou slunečnicového oleje je jeho nízká oxidační stabilita, proto je částečně hydrogenován. Řepkový olej s upraveným obsahem kyseliny olejové se dále nehydrogenuje. Na Obr. 6 je uvedena slunečnice roční. [9]



Obr. 6. Slunečnice roční. [52]

### 1.4.3 Podzemnice olejná

Podzemnice olejná (*Arachis hypogaea L.*) je rostlina z čeledi bobovitých, která se pěstuje hlavně v Indii a Číně, kde je soustředěno až 76 % světové produkce. Během extrakce je odstraněno vysoké procento semen kvůli potenciálnímu výskytu aflatoxinu. Aflatoxin je obecně spojován s proteinovým podílem semen, proto se zpravidla nenachází v rafinovaném oleji. Semena obsahují 40 až 50 % oleje, z toho jsou hojně zastoupeny kyseliny olejová a linolová. Jelikož mají plody podzemnice olejně vysoký obsah stravitelných bílkovin, PUFAs a výjimečnou vůni vznikající během pražení, mají tyto plody podstatný význam v potravinářském průmyslu. Podzemnicový olej je dále používán k přípravě shorteningů, margarínů a majonéz. Oxidační stabilita je díky přítomnosti kyseliny olejové vysoká. Odrůdy podzemnice olejně pěstované při nižších teplotách poskytují však nižší zastoupení kyseliny olejové, což může značně zkrátit dobu skladovatelnosti oleje. Podzemnice olejná je uvedena na Obr. 7. [9]



Obr. 7. Podzemnice olejná. [53]

#### 1.4.4 Sezam indický

Sezam indický (*Sesamum indicum L.*) na Obr. 8 patří mezi nejstarší pěstované olejninu a je jediným kultivovaným druhem z rodu *Sesamum*. Hlavními pěstiteli sezamu a zároveň výrobci sezamového oleje jsou Indie, Čína, Súdán a Mexiko. Je zajímavé, že sezam zraje v jednotlivých zemích různou dobu, např. v Súdánu 80 dní, v Indii a Mexiku 80 – 140 dní v závislosti na dané odrůdě. Sezam obsahuje značné množství oleje (42 až 56 %), který poskytuje vysoký obsah minerálních látek, zejména vápníku, fosforu a železa. Díky složení přítomných FAs je sezamový olej poměrně odolný k oxidaci. Hlavními zástupci FAs jsou kyselina olejová a linolová, v menším množství pak kyseliny  $\alpha$ -linolenová, stearová a palmitová. Sezamový olej navíc obsahuje dva důležité antioxidanty, seza-min a sezamolin, podílející se na oxidační stabilitě oleje. [9]



Obr. 8. Sezam indický. [54]

#### 1.4.5 Rýže setá

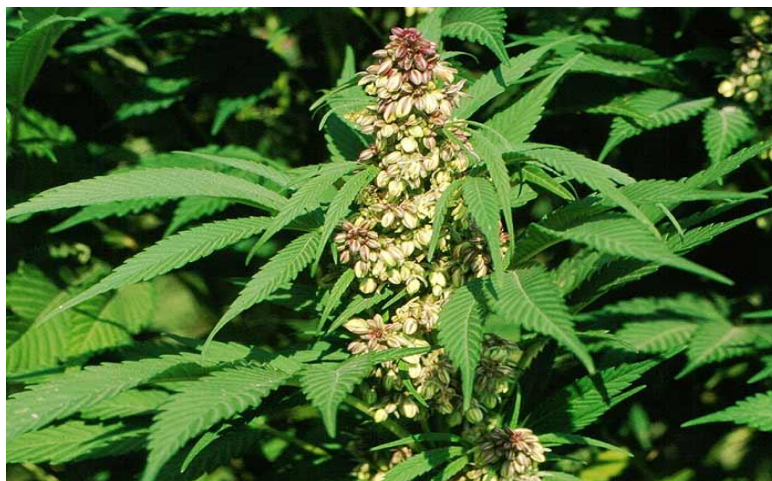
Rýže setá (*Oryzae sativa L.*) je rostlina z čeledi lipnicovitých a je velmi významnou plodinou pro více než polovinu světové populace. Tato plodina je pěstována ve více než 100 zemích světa a je tedy dobře přizpůsobivá na různé klimatické podmínky. Po sklizni, loupání a mletí jsou odděleny klíčky a otruby od endospermu. Pokud není rýže ihned extrahována rozpouštědlem, může dojít k hydrolyze přítomnými lipázami. Rýžový olej je hojně užíván v Japonsku, Koreji, USA a Thajsku a stal se velmi oblíbeným pro své široké využití i v jiných zemích. Rýžový olej obsahuje značné množství nezmýdelněného podílu, kromě toho obsahuje až 20 % SFAs a má vyrovnaný poměr MUFAs a PUFAs (40 : 40). Palmitová, olejová a linolová kyselina tvoří společně kolem 96 % všech přítomných FAs. V dřívějších letech se olej získával i pro jiné zdraví prospěšné látky, jako  $\gamma$ -oryzanol a jiné antioxidační složky, včetně vitamínu E a skvalenu. Na Obr. 9 je znázorněna rýže setá. [9]



Obr. 9. Rýže setá. [55]

#### 1.4.6 Konopí seté

Konopí seté (*Cannabis sativa L.*), uvedená na Obr. 10, je teplomilnou rostlinou původem ze střední Asie. Kulturní druh je využíván jako přadná rostlina i jako olejnina. Konopný olej je ceněn především pro své nutriční vlastnosti, které jsou spojeny s příznivými zdravotními účinky. Konopná semena obsahují až 35 % FAs, vysoký podíl bílkovin (25 %), sacharidů (30 %) a vlákniny (10 %). Konopný olej je bohatý převážně na kyselinu linolovou a  $\alpha$ -linolenovou v optimálním poměru pro výživu. Přítomná  $\gamma$ -linolenová kyselina má zde vyšší nutriční hodnotu oproti jiným olejům. Hlavní výroba konopného oleje je soustředěna v Kanadě, kde díky modernějším postupům se neustále snižuje obsah psychoaktivní látky THC (angl. Tetrahydrocannabinol) v oleji. [10]



Obr. 10. Konopí seté. [56]

#### 1.4.7 Dýně velkoplodá

Dýně velkoplodá (*Cucurbita maxima L.*) z čeledi tykvovitých je uvedena na Obr. 11. Podle dostupné literatury se dýně začala pěstovat v Peru, kde převážná část produkce této plodiny zůstala zachována i dnes. Dýňová semena jsou bohatým zdrojem tuků i bílkovin. Dýňový olej je získáván z dýňových semen a jeho výroba je soustředěna především v Rakousku, Maďarsku a Slovinsku, kde však nemá takové uplatnění jako je tomu v některých afrických státech. K získání jednoho litru tohoto oleje je potřeba přibližně 2,5 kg dýňových semen, které je třeba sklidit z více než třiceti olejnatých dýní. U oleje z dýňových semen byl prokázán vysoký obsah kyseliny linolové,  $\alpha$ -linolenové a olejové, ale také obsah minerálních látek a vitamínu E. Dýňový olej je vhodný jak k tepelné úpravě pokrmů, tak i k ochucení zeleninových salátů, dresinků a majonéz. [11]



Obr. 11. Dýně velkoplodá. [57]



#### 1.4.8 Ostropestřec mariánský

Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum* L.) je jednoletá rostlina z čeledi hvězdnicovitých, která roste především v Africe volně v oblasti řeky Nilu. V afrických zemích je tato rostlina velmi oblíbená a používá se k lékařským účelům a také pro vysoký obsah oleje. Rostlina obsahuje navíc aktivní látku silymarin, která se používá k léčbě jater. Tato aktivní látka se váže na membrány jaterních buněk a zabraňuje tím vniknutí toxických látek do jaterní tkáně. Ostropestřecový olej je také vhodný k léčbě žlučníku a navíc podporuje látkovou výměnu. Ostropestřecový olej se získává ze semen rostliny, která obsahují až 22 % oleje. Tento olej se svým složením příliš neliší od jiných rostlinných olejů. Dle mnoha studií byl zjištěn vysoký obsah linolové kyseliny (54 %) a kyseliny olejové (24 %). Olej je navíc i bohatým zdrojem vitamínu E. Ostropestřec mariánský je zobrazen na Obr. 12. [12]



Obr. 12. Ostropestřec mariánský. [58]

#### 1.4.9 Réva vinná

Réva vinná (*Vitis vinifera* L.), uvedena na Obr. 13, je rostlina z čeledi révovitých, jejíž jádra jsou známá díky vysokému obsahu oleje, a to s podílem kolem 15 %. Olej z hroznových jader je velmi kvalitní pro vyvážené zastoupení MUFAs a PUFAs, kde hlavními kyselinami jsou linolová a olejová. Olej také obsahuje větší množství antioxidantů, z nichž velmi důležitou látkou je polyfenol resveratrol. Olej z hroznových jader je stále více používán ke kulinárním, farmaceutickým, lékařským i kosmetickým účelům. Olej je navíc velmi atraktivní z hlediska jeho snadné dostupnosti jako vedlejšího produktu při výrobě vína. Hrozny poskytují při výrobě vína přibližně 25 % suchých výlisků, z toho dvě třetiny představují semena. Pro velký výtěžek oleje se kombinuje proces lisování s následnou extrakcí n-hexanem. Olej z hroznových jader je oblíbený především v Německu. [13]



Obr. 13. Réva vinná. [59]

#### 1.4.10 Světlice barvířská

Světlice barvířská (*Carthamus tinctorius L.*) pochází z čeledi hvězdnicovitých a je suchomilnou rostlinou pěstovanou hlavně v Asii. Některé odrůdy obsahují 25 až 45 % oleje, kde je převažující FA kyselina linolová. Až 50 % světové produkce oleje, který se získává ze semen rostliny světlice barvířské, je soustředěno v Turecku. Výnos semen je negativně ovlivněn suchem hlavně v období kvetení, nikoliv ve fázi tvorby semene. Světlice barvířská, která se pěstuje již po mnoho let, je používána v lékařství, potravinářství i v jiných odvětvích k výrobě červeného a žlutého barviva kartinu. V současné době se také vyrábí světlicový olej s vyšším obsahem kyseliny olejové. Podnebí značně ovlivňuje složení i kvalitu oleje. Za nižších teplot poskytují rostliny menší množství kyseliny stearové a olejové. Světlice barvířská je uvedena na Obr. 14. [14]



Obr. 14. Světlice barvířská. [60]

#### 1.4.11 Pšenice setá

Pšeničné klíčky jsou vedlejším produktem při mlynářenském zpracování pšenice seté (*Triticum aestivum L.*). Klíček tvoří 2 až 3 % pšeničného zrna a lze ho oddělit v poměrně čisté formě během mletí. Klíček obsahuje přibližně 11 % oleje, který se kromě potravinářství dále využívá ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Olej z pšeničných klíčků má nejvyšší obsah tokoferolů ze všech známých rostlinných olejů, a to až 2 500 mg/kg oleje. Olej je také hodnotný pro vysoký obsah kyseliny linolové a  $\alpha$ -linolenové, které mají významnou roli v lidském metabolismu. Polynenasycené mastné kyseliny a jiné bioaktivní sloučeniny, které jsou značně přítomné v tomto oleji, jsou velmi náchylné k oxidaci během procesů extrakce a rafinace. Klíčky pšenice seté jsou uvedeny na Obr. 15. [15]



Obr. 15. Klíčky pšenice seté. [61]

#### 1.4.12 Kokosovník ořechoplodý

Kokosovník ořechoplodý (*Cocos nucifera L.*) je druh palmy dobře rostoucí ve vlhkých rovníkových oblastech. Kokosový olej je získáván z kopry, což je usušené a rozemleté jádro kokosového ořechu obsahující až 65 % oleje. Výroba kopry zahrnuje odstranění skořápky, drcení a sušení jádra. Tato výroba probíhá přímo na místech, kde rostou kokosové palmy. Olej má přirozeně sladkou chuť a obsahuje až 92 % SFAs. Olej obsahující převážně SFAs s krátkým až středním řetězcem činí kokosový olej tuhým. Převažujícími FAs jsou kyseliny laurová (48 %) a myristová (18 %), přitom žádná jiná FA není přítomna v množství vyšším než 8 %. Díky převažujícímu zastoupením SFAs je kokosový tuk velmi stabilní vůči oxidaci. Příprava kopry je znázorněna na Obr. 16. [16]



Obr. 16. Sušení kokosových ořechů. [62]

#### 1.4.13 Mandloň obecná

Mandloň obecná (*Amygdalus communis L.*) je keřovitá rostlina patřící do čeledi růžovitých, která zdomácněla převážně v západní a střední Asii. Mandlový olej se získává lisováním zralých semen hořkých popř. sladkých mandlí za studena. Liší se pouze obsahem heteroglykosidu amygdalinu, který je zodpovědný za hořkou příchuť. Mandlový olej se využívá po celém světě v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. V mandlovém oleji jsou převážně zastoupeny kyseliny olejová, linolová, a to ve vyrovnaném poměru. Podíl MUFAs k PUFAs je důležitým ukazatelem oxidační stability olejů s vysokým obsahem nenasycených FAs. Vysoký obsah kyseliny olejové, který dosahuje až 60 %, činí tento olej stabilním vůči oxidaci. Na Obr. 17 je znázorněna mandloň obecná. [17]

Obr. 17. Mandloň obecná. [63]



## 2 OXIDAČNÍ ZMĚNY ROSTLINNÝCH OLEJŮ BĚHEM SKLADOVÁNÍ

Skladování rostlinných olejů je velmi důležitým procesem, kdy je nutné předcházet možným ztrátám těchto komodit způsobených převážně mikrobiálním poškozením. Požadavky na skladovací zařízení jsou různé a liší se v závislosti na druhu skladovaného oleje, a to od největších ocelových nádrží pro surové oleje až po nejmenší cisterny z nerezavějícího materiálu pro jedlé oleje. Rostlinné oleje se vzájemně liší bodem tání a tuhnutí, viskozitou, citlivostí ke kyslíku, světlu a dalšími vlastnostmi, proto je nutné k nim jednotlivě přihlížet během skladování. V průběhu skladování olejů může dojít k řadě nežádoucích změn, které se navenek projevují nepříjemnou chutí a vůní, změnou barvy a konzistence. Rozsah těchto změn je závislý na mnoha činitelích. Obecně platí, že čím vyšší je kvalita oleje z hlediska rafinace, tím nižší je jeho oxidační stálost. Oxidační stabilita také významně závisí na obsahu fosforu v oleji, což se týká proměnlivého obsahu fosfolipidů v olejích. Obecně napomáhá k urychlení oxidace řada faktorů – světlo, teplo, kyslík a některé kovy. Z tohoto důvodu je nutné volit skladovací nádoby a pomocná zařízení z vhodného materiálu. Nerezová ocel je nejčastěji používaným materiálem pro výstavbu nádrží a tanků pro skladování a přepravu surových i rafinovaných olejů. Vhodná je měkká ocel potažená inertními materiály na vnitřní straně, mezi které se často řadí epoxidové pryskyřice nebo silikátové nátěry s obsahem zinku. Měď a slitiny mědi se nesmí vůbec používat při konstrukci skladovacích nádob a zařízení zahrnující všechna potrubí, filtry, kohouty, uzávěry, ventily, teploměry atd. Pro zabránění nadměrné krystalizace a tuhnutí olejů je nutné volit optimální skladovací teploty. Rostlinné oleje s vyšším obsahem nenasyčených mastných kyselin je třeba skladovat při nižších teplotách. [18]

### 2.1 Žluknutí olejů

Lipidy podléhají různým reakcím, z nichž jsou nejvýznamnější oxidační reakce. K oxidaci lipidů dochází nejčastěji vzdušným kyslíkem nebo enzymy lipoxygenázami. Přítomnost atmosférického kyslíku může způsobit chemické změny složení mastných kyselin rostlinných olejů, které lze částečně odstranit rafinací. Pokud jsou změny oxidačních reakcí příliš rozsáhlé, nelze je odstranit ani rafinací, ani žádným jiným vhodným způsobem, proto je nutné co nejvíce zamezit přístupu kyslíku k rostlinným olejům. Na druhou stranu existuje řada činitelů, které značně urychlují oxidaci. Jedním z těchto faktorů je působení vyšších teplot. Oxidační změny mohou dále urychlit některé kovy, zejména měď a její slitiny, proto se tyto kovy vyřazují z veškerých procesů, při nichž by mohlo dojít ke kontaminaci s oleji. Železo má také katalytické účinky, ale jeho katalytické působení je pomalejší než u mědi. [19]

Na oxidační stabilitě se během extrakce podílí také volba rozpouštědla. Tradičně používaná rozpouštědla, jako hexan či petrolether, jsou charakteristické pro extrakci nepochárných látek. Při volbě více polárního rozpouštědla, např. isopropanolu, dochází k extrakci i více polárních antioxidantů a pigmentů běžně přítomných v olejnatých semenech. Z tohoto důvodu může být snížena nejen nutriční hodnota rostlinných olejů, ale i doba trvanlivosti vyplývající z jejich přirozené oxidační stability. Při oxidaci je pozměněna struktura samotné mastné kyseliny, která se projeví posunem či změnou polohy dvojně vazby, změnou délky molekuly nebo vznikem různých oxidačních produktů. Mezi nejčastější oxidační reakce rostlinných olejů způsobené skladováním patří autooxidace vzdušným kyslíkem a enzymové reakce. Obě reakce mají za následek štěpení a následný rozklad molekuly mastných kyselin. Během skladování olejů za běžných pokojových teplot dochází k oxidaci jen nenasycených FAs, které v důsledku této reakce snadno podléhají žluknutí. Za vyšších teplot oxidují již všechny přítomné FAs. K oxidaci jsou nejvíce citlivé PUFAs, zejména kyseliny linolová a linolenová. Obecně u těchto kyselin vzniká vyšší počet derivátů než u kyseliny olejové. [19, 20]

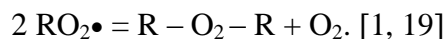
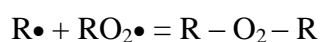
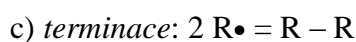
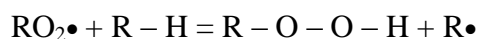
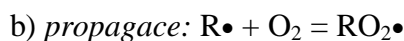
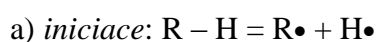
Procesem žluknutí se rozumí zhoršená sensorická jakost rostlinných olejů, která nastává vlivem oxidačních reakcí během skladování. Žluknutí je způsobeno hlavně autooxidací, mohou se však uplatnit i jiné reakce. Primárně vytvořené hydroperoxydy a peroxydy jsou sensoricky nepostřehnutelné, takže se rostlinný olej zdá být čerstvý. Teprve při sekundární přeměně hydroperoxydů na další oxidační produkty (aldehydy, ketony, epoxidy aj.) dochází ke změně organoleptických vlastností v důsledku žluknutí. Podle původu se dělí žluknutí na oxidační, hydrolytické, parfémové a reverzní. [1, 21]

### 2.1.1 Oxidační žluknutí

Nejběžnějším typem žluknutí je oxidační žluknutí, které může být enzymového i neenzymového původu. V obou případech dochází ke snížení nutriční a sensorické hodnoty, vzniku toxických produktů a v konečném důsledku vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Esenciální PUFAs reagují s kyslíkem za vzniku peroxydů, které dále reagují za tvorby komplexní směsi aldehydů, ketonů a jiných těkavých produktů. Uhlovodíky jsou nositeli typické žluklé chuti méně oxidovaných olejů, kdežto aldehydy jsou zodpovědné za žluklou chuť v pokročilejším stádiu oxidace. Mezi obsahem aldehydů a intenzitou žluklé chuti existuje jistá závislost. Alkanyly a 2-alkenaly dodávají olejům typické žluklé aroma, v literatuře často označené jako tzv. off-flavour – aroma charakteristické žluklým pachem při oxidačních reakcích. Žluklé oleje bohaté na kyselinu linolovou mají silnou oříškovou vůni, která je připisována 2,4-alkadienalům. Při oxidaci olejů s převažující kyselinou linolenovou se tvoří konjugované alkatrienaly, které jsou zodpovědné za rybí pach. [1, 21]

### 2.1.1.1 Autooxidace

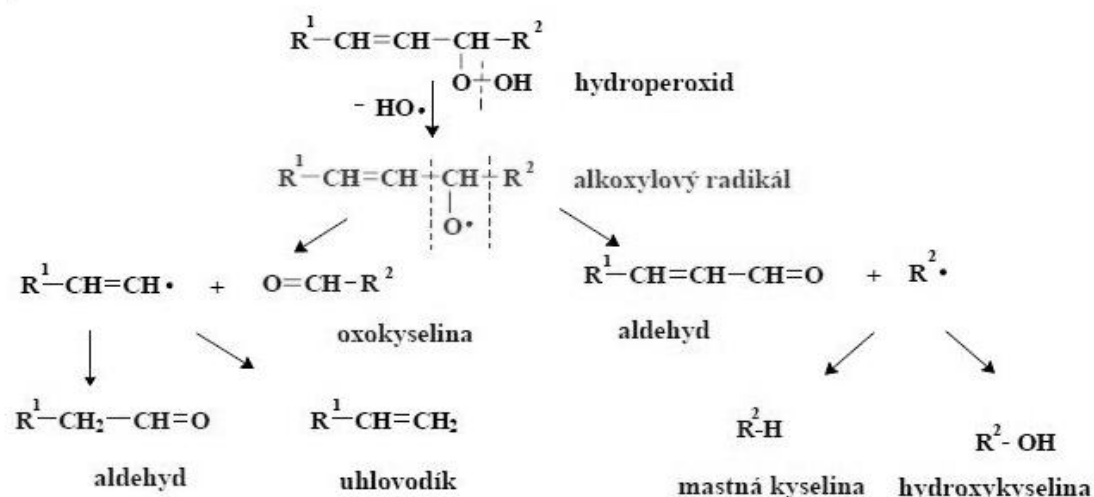
Autooxidace mastných kyselin je nejčastějším typem neenzymové oxidace při skladování rostlinných olejů. Oxidace rostlinných olejů je komplex reakcí radikálového mechanismu, který je závislý na druhu rostlinného oleje a samotných podmínkách oxidace. Úloha volných radikálů, které obsahují ve své struktuře vysoce reaktivní kyslík, je v oxidaci univerzální. Volné radikály jsou v živých organismech zodpovědné za ztrátu biologických funkcí a rozpad struktury zdravých buněk. Volné radikály jsou částice schopné samostatné existence, které mají jeden či více nepárových elektronů. Volné radikály snadno reagují s biologickými molekulami za vzniku dalších volných radikálů a v důsledku toho vyvolávají řetězové reakce. K autooxidaci je nutná přítomnost uhlovodíkového řetězce FAs, přičemž dochází k radikálové řetězové reakci probíhající ve třech stupních:



V první iniciační fázi reakce dochází ke vzniku volného vodíkového radikálu a volného radikálu mastné kyseliny. Tyto radikály vznikají štěpením kovalentní C-H vazby uhlovodíkového řetězce, kdy energii potřebnou k štěpení získává molekula mastné kyseliny z různých zdrojů, např. ozářením viditelným světlem. Tato fáze je nazývána jako iniciace. Ke štěpení může dojít také reakcí s jiným volným radikálem nebo reakcí s kovy. Vzniklý volný radikál mastné kyseliny je velmi reaktivní a může proto dojít ke snadnému sloučení s molekulou kyslíku za vzniku peroxidového radikálu. Ten je opět velmi reaktivní, čímž dojde k odtrhnutí vodíkového atomu z další molekuly nenasyčené mastné kyseliny za vzniku hydroperoxidu, jako primárního produktu autooxidace. Tato fáze je značena jako propagace. [1, 21]

Poslední stupeň autooxidace je označován jako terminace. Obecně lze tvrdit, že rychlost autooxidace závisí na vrstvě tuku, přítomnosti tepla a světla, složení a úpravě oleje, styku s kovy a druhu obalu, který musí být neprůsvitný pro světlo. Oxidované lipidy jsou pro organismus hůře stravitelné, mohou být toxické a zodpovědné za vznik aterosklerotických usazenin. Primárními produkty autooxidace jsou hydroperoxydy, dalšími produkty mohou být aldehydy, uhlovodíky, estery, ketony, laktony, furany, voda a další minoritní produkty. Kromě toho dochází u vznikajících oxidačních pro-

duktů k přesmyku izomerace a konjugaci dvojných vazeb. Rychlost oxidace a rozložení vzniklých produktů oxidace závisí na botanickém původu rostlinného oleje, složení a stupni nasycenosti příp. nenasyčenosti mastných kyselin, přítomnosti kovových iontů, antioxidantů a také podmínkách skladování. Obecný mechanismus vzniku uhlovodíků a aldehydů během oxidačních reakcí je uveden na Obr. 18. [19, 47]



Obr. 18. Mechanismus vzniku uhlovodíků a aldehydů během oxidace. [1]

### 2.1.1.2 Enzymová oxidace

V rostlinných produktech jsou hojně zastoupeny enzymy zvané lipoxygenázy, po chemické stránce jsou to metaloproteiny, které mají v centru molekuly atom železa. Tyto enzymy odpovídají za katalýzu oxidace PUFAs na hydroperoxydy podobně jako tomu dochází u autooxidace. Lipoxygenázy jsou přítomny v celé řadě biologických materiálů, hojně jsou zastoupeny v luskovinách a bramborových hlízách. Olejnatá semena, např. sójové boby, mohou být potenciálním zdrojem hydroperoxidů, jejichž vznik v oleji iniciují enzymy zejména během extrakce. Enzymy se aktivují obvykle v přítomnosti hydroperoxidů, ačkoliv k enzymové oxidaci může dojít i bez jejich přítomnosti. Lipoxygenázy katalyzují oxidaci jen esenciálních PUFAs, na jiné nenasyčené mastné kyseliny katalyticky nepůsobí. Od hydroperoxidů vzniklých autooxidací se hydroperoxydy vzniklé působením lipoxygenáz liší optickou aktivitou. Lipoxygenázy jsou různě specifické, a proto podporují tvorbu hydroperoxidových skupin i na jiných atomech uhlíku. Při těchto reakcích se také uplatňují jiné enzymy. [22, 23]

Kyseliny linolová a linolenová, hlavní PUFAs v rostlinných tkáních, jsou schopné tvořit za určitých podmínek odpovídající 9-hydroperoxydy či 13-hydroperoxydy. Příkladem může být lipoxygenáza-1, která katalyzuje vznik (13S)-hydroperoxidu z kyseliny linolové. Vzniklé hydroperoxydy dále reagují



s jinými citlivými sloučeninami, např. s karoteny nebo aminokyselinami. Enzymy se vyskytují v různých formách, které se často liší optimálním pH a substrátovou specifitou. Lipoxygenázy jsou obvykle klasifikovány jako typ 1, které mají optimální pH v alkalické oblasti, a jsou specifické působením na volné mastné kyseliny. Naopak lipoxygenázy typu 2 mají optimální aktivitu v oblasti neutrálního pH a způsobují oxidaci polárnějších karotenoidů. Při enzymové oxidaci dochází ke zhoršení kvality rostlinných olejů, ztrátě jejich nutriční hodnoty, vzniku žluklého aroma a ztrátě přírodních pigmentů. Těmto změnám lze zabránit vhodným balením s použitím inertního plynu, aby výsledná koncentrace kyslíku byla nižší než 1 %. Průhledné skleněné obaly a tmavé lahve jsou v současné době nahrazovány obaly plastovými. Při výběru plastového materiálu je preferován polyvinylchlorid, jelikož dříve používaný polyetylen byl propustný pro kyslík. [1, 23]

### 2.1.2 Hydrolytické žluknutí

Hydrolytické žluknutí představuje chemickou reakci, při které vznikají volné mastné kyseliny v důsledku hydrolyzy TAGs. Hydrolyza nastává zpravidla smažením tuků, ale může být způsobena i lipázami především u mastných kyselin s krátkým uhlovodíkovým řetězcem. Z toho důvodu se tuky skladují při nízkých teplotách. Enzymy jsou běžně přítomné v rostlinných lipidech, které za zvýšené vlhkosti vzduchu mohou reagovat s vodou, přičemž uvnitř lipidů nastává rozklad. [21]

### 2.1.3 Parfémové žluknutí

Zvláštním typem žluknutí je parfémové žluknutí, které je způsobeno enzymy mikroorganismů. S tímto typem žluknutí je možné se setkat nejčastěji u živočišných tuků. Uvolněné mastné kyseliny podléhají dehydrogenaci a po dekarboxylaci vznikají příslušné ketony, např. pentan-2-on, heptan-2-on, proto se toto žluknutí někdy nazývá ketonické. [21]

### 2.1.4 Chuťová reverze

Chuťová reverze je naopak typem žluknutí, který je charakteristický pro sójový olej a oleje, které mají vyšší obsah kyseliny linolenové. Oxidací vzniká zápach po trávě, který lze odstranit rafinací. Nevýhodou je, že se zápach po čase vrátí – odtud reverze. [1, 21]

## 2.2 Ochrana olejů před oxidací

Přestože jsou rostlinné oleje s vyšším obsahem PUFAs více citlivé k oxidaci, jsou zpravidla stabilnější než většina živočišných tuků, a to z důvodu vyššího obsahu přírodních antioxidantů. Bylo zjištěno, že po zhruba třech měsících skladování rostlinných olejů dochází k výraznému úbytku pří-

tomných antioxidantů. Z toho důvodu klesá přirozená antioxidační ochrana olejů a nastává žluknutí. Není proto vhodné skladovat rostlinné oleje po delší dobu. [19, 21]

Antioxidanty jsou sloučeniny, které brání vzniku toxických forem kyslíku nebo je přímo likvidují. Podle prostředí, ve kterém antioxidanty působí, se dělí na hydrofilní, lipofilní a amfofilní. Dále se antioxidanty dělí dle způsobu účinku, a to na antioxidanty neenzymové povahy např. vitamin E, C, karoteny, flavonoidy a enzymy např. superoxid-dismutáza, glutathion peroxidáza a kataláza. Kromě toho existuje řada antioxidantů vyráběných průmyslově, které se používají jako potravinářská aditiva. Některé z nich se odvozují z látek přírodních. Účinek antioxidačních látek vyplývá z jejich specifické struktury. Látky fenolového typu (tokoferoly a flavonoidy) jsou schopné přerušit radikálovou řetězovou reakci. Jejich antioxidační schopnost závisí na počtu a poloze hydroxylových skupin i typu dalších substituentů. Tyto struktury ovlivňují odštěpení vodíku z molekuly antioxidantu, čímž se inaktivují radikály vzniklé oxidací lipidů. [21, 22]

Nejběžnějšími antioxidanty rostlinných tuků jsou tokoferoly a tokotrienoly, kyselina askorbová,  $\beta$ -karoten, chlorogenové kyseliny a flavonoidy. Tyto látky jsou často izolované z různých rostlinných zdrojů a záměrně přidávané do olejů k prodloužení jejich přirozené trvanlivosti. Nejběžnější přípravky přírodních antioxidantů na trhu jsou směsné tokoferoly, které se získávají při rafinaci rostlinných olejů. Karotenoidy jsou často izolovány z mrkve a následně přidávány do olejů balených do světlých lahví. Z přírodních zdrojů se získávají také antioxidanty z ovesných obilí, zvané avenex. V současné době se výrobci snaží zabránit nežádoucí oxidaci rostlinných olejů přidávkou syntetických antioxidantů. [19, 21]

Oxidační stabilita rostlinných olejů je různá a závisí na chemickém složení oleje. Kokosový tuk je považován za jeden z nejvíce odolných olejů vůči oxidaci z důvodu vysokého obsahu nasycených mastných kyselin. Sezamový olej je také velmi stabilní, a to převážně díky vysokému obsahu lignanů a antioxidantů. Rýžový olej si naopak udržuje oxidační stabilitu vyšším obsahem přítomných antioxidačních sloučenin, např. tokoferolů, tokotrienolů, sterolů a  $\gamma$ -oryzanolu. Oxidační stabilita rostlinných olejů může být zvýšena různými procesy, nejčastěji však hydrogenací, interesterifikací, genetickou modifikací či mísením olejů o různé nasycenosti. [19, 21]

### 3 METODY STANOVENÍ MASTNÝCH KYSELIN V OLEJÍCH

Rostlinné oleje jsou tvořeny až z 98 % TAGs a zbylé složky představují z hlediska struktury komplexní směs různých chemických sloučenin, jako jsou monoacylglyceroly – MAGs (angl. Monoacylglycerols) a diacylglyceroly – DAGs (Diacylglycerols), volné mastné kyseliny, fosfatidy, steroly, proteinové fragmenty, oxidační produkty aj. Tyto minoritní složky mají v olejích proměnlivé zastoupení a během procesů extrakce a rafinace se mohou měnit. Z toho důvodu představují rostlinné oleje velmi heterogenní sloučeniny. V rostlinných olejích je nejčastější výskyt smíšených TAGs, kdy je každá molekula glycerolu esterifikována jinou mastnou kyselinou. Každý rostlinný olej má tedy své charakteristické složení, které umožňuje identifikovat jeho botanický původ. Díky analýze složení je také snadné určit pravost olejů, což má převážně význam z komerčního hlediska. Falšování vysoce hodnotných olejů představuje hospodářský i obchodní problém. Stanovení jednotlivých FAs v olejích je tedy důležité jak pro kontrolu kvality potravin, tak pro stanovení nutriční hodnoty potravin nebo využití v potravinářském průmyslu. [24, 25]

Fyzikální a chemické vlastnosti rostlinných olejů jsou do určité míry ovlivněny druhem i podílem jednotlivých FAs. V analýze lipidů se používá řada metod, kterými je možné stanovit celkový obsah lipidů, tukové charakteristiky, jednotlivé lipidové složky včetně průvodních látek lipidů. Široké zastoupení přírodních FAs může představovat v analýze lipidů potíže. Navzdory prudkému rozvoji instrumentálních metod nebyly zatím v analýze lipidů vyřešeny některé jejich nedostatky. Nejvyužívanějšími metodami při stanovení FAs v rostlinných olejích jsou metody chromatografické. Plynová chromatografie – GC (angl. Gas Chromatography) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie – HPLC (angl. High-Performance Liquid Chromatography) jsou dvě techniky široce používané pro analýzu hlavních a minoritních složek jedlých olejů a tuků. Zvláště u GC je stanovení poněkud zdouhavé a technicky náročné, proto se volí i jiné metody pro stanovení FAs, např. hmotnostní spektrometrie, infračervená a Ramanova spektroskopie. [24, 26]

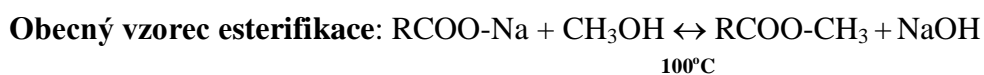
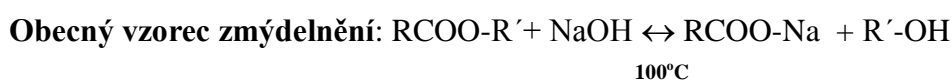
#### 3.1 Chromatografické metody

Pro dělení a stanovení přírodních nízkomolekulárních látek se obecně využívá metod plynové a kapalinové chromatografie, a to jak v plošném, tak i kolonovém uspořádání. Metoda GC je založena na zmýdelnění glyceridů a následné esterifikaci volných FAs v alkalickém prostředí methanolu. Před použitím GC se často provádí derivatizace látek nevyhovujících vlastností na takové deriváty, které mohou být použitelné pro GC. Jelikož jsou tuky a oleje sloučeniny s velmi vysokým bodem varu, jsou pak obtížně analyzovatelné pomocí GC. Na druhou stranu může být ester glycerolu che-

micky rozložen na methylestery matných kyselin – FAMEs (angl. Fatty Acids Methyl Esters). GC je tedy vhodná pro stanovení methylesterů, ale není vhodná pro stanovení MAGs a DAGs. Analýza nederivatizovaných TAGs je obtížná, vyžaduje krátké kapilární kolony a konstantní teploty během separace. FAMEs se po extrakci do heptanu stanovují metodou GC nejčastěji s využitím plameno-vě-ionizačního detektoru-FID (angl. Flame-Ionization Detector). Při stanovení FAs metodou GC se obvykle používají tři základní kroky: zmýdelnění, extrakce kapalinou a chromatografické stanovení. Procentuální zastoupení obsahu jednotlivých mastných kyselin na základě vyhodnocení plochy píku se odečítá přímo z chromatogramu. [27, 28]

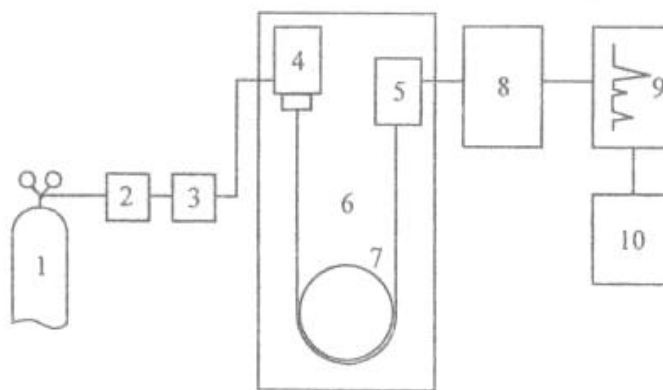
Zmýdelnění olejů představuje reakci TAGs se silnými zásadami KOH nebo NaOH, při které vznikají příslušné alkoholy a karboxylové soli FAs – mýdla. Mýdla obsahují dlouhou alifatickou část molekuly, která je tvořena uhlovodíkovým řetězcem methylenových skupin  $-CH_2-$  a zakončená hydrofóbní methylovou skupinou. Zmýdelněním se přesunou složky glyceridu do polárních mýdel, což umožní extrakci nezmýdelněného podílu hexanem či diethyletherem. Je dobré zredukovat volné FAs na minimum, protože se podílí s alkalickými katalyzátory na tvorbě nežádoucích mýdel ve formě stabilních emulzí, které komplikují dělení fází. Zmýdelnění se provádí za studena, kdy dochází k neutralizaci jen volných FAs, nebo za tepla, přičemž se zmýdelní i vázané FAs. Nicméně, tento postup není vhodný pro vosky, estery sterolů a fosfolipidů, protože jsou během zmýdelnění pozměněny. [28, 46]

Podmínkou extrakce kapalinou je ustanovení fázové rovnováhy mezi výchozím vzorkem s analytem a rozpouštědlem, do kterého má být analyt v co největší míře převeden. Tato metoda je velmi účinná, ale jejím nedostatkem je příliš velké množství kapalného extraktu pro dávkování do chromatografu, proto se často kombinuje extrakce s další technikou, např. s destilací vodní párou. Hlavní výhodou této metody je kromě izolace sledované složky i její zakoncentrování. Tento způsob je použitelný pro izolaci nepolárních i polárních relativně netěkavých organických sloučenin, které destilují s vodní parou. V poslední době se stala oblíbenou nadkritická fluidní extrakce, která umožňuje upravovat rozpustnost produktu prostřednictvím změn tlaku a teploty v extraktoru nebo přidáním modifikátorů nahrazujících širokou škálu rozpouštědel. [29, 30]



### 3.1.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie – GC je analytická a separační metoda, která má výsadní postavení v analýze těkavých látek. Plynová chromatografie se obvykle dělí na chromatografii v systému plyn – pevná látka (GSC) a na chromatografii plyn – kapalina (GLC). Plynovou chromatografií lze použít jak k separaci plynů, tak většiny nedisociovatelných kapalin a pevných organických molekul a mnoha organokovových látek. Pro nutnost přeměny analytů v plyny lze separovat jen takové látky, které mají dostatečný tlak syté páry a jsou tepelně stálé během separace. Kvalitativní a kvantitativní stanovení složek sloučenin nebo jejich derivátů se často provádí kapilární plynovou chromatografií. V posledních letech došlo v oblasti plynové chromatografie k pokroku technologie přípravy kapilárních kolon. Materiály používané k výrobě kolon zahrnují nejčastěji křemen, sklo, nerezovou ocel a polyamidové hmoty. Vnitřní povrch kapilár je smáčen roztokem zvolené stacionární fáze nebo suspenzí sorbentu, přičemž se tvoří uvnitř kapiláry tenký film stacionární fáze. Nanášení stacionární fáze lze provádět metodou dynamickou, statickou a tlakovou statickou. Křemenné kapilární kolony jsou oproti dříve používaným skleněným velmi křehké a citlivé k atmosférické korozi, proto jsou opatřeny polyamidovým povlakem. Kapilární systém spočívá v rozdělení vzorku, aby se v plynové chromatografii předešlo přetížení vzorkem. [29, 30]



Obr. 19. Schéma plynového chromatografu. [31]

Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev (1) obvykle s dusíkem, vodíkem, héliem nebo argonem. Plyn musí unášet vzorek danou kolonou a musí být inertní vůči okolí, nemá tedy přímý vliv na separaci. Důležitá je též netoxicitá plynu, bezpečnost práce a samozřejmě nízká pořizovací cena. Regulační systém (2, 3) má za úkol zajistit stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu. Injektor (4) představuje vyhřívaný blok, kam je vzorek nastříknut, následně odpařen a ve formě par unášen do chromatografické kolony (7). Složky ve vzorku se sorbují na začátku kolony ve stacionární fázi a následně desorbují čerstvým nosným plynem. Nosný plyn unáší složky vzorku ke konci

kolony a dělicí proces se neustále opakuje. Detektor (5) je zařízení, které okamžitě indikuje koncentraci separovaných složek v nosném plynu. Výstupní signál detektoru ve tvaru píku je snímán v určitých časových intervalech a je doprovázen zesilovačem (8). Termostat (6) zajišťuje dostatečně vysokou teplotu dávkovače, kolony a detektoru k tomu, aby byl vzorek udržen v plynném stavu. Vyhodnocovací zařízení (9, 10) zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku a provádí její vyhodnocení. Na Obr. 19 je uvedeno zjednodušené schéma plynového chromatografu. [28, 31]

Každá látka představuje jeden pík, tvar píku je proměnlivý a použití pro kvantitativní analýzu vyžaduje přesné vyhodnocení plochy píku. Účinnost kolony představuje schopnost separovat dané směsi a vyjadřuje se počtem teoretických pater  $n$  nebo pomocí výškového ekvivalentu teoretického patra  $H$ . [28]

### 3.1.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Analýza mastných kyselin stanovených v rostlinných olejích se obvykle provádí pomocí plynové rozdělovací chromatografie – GLC (angl. Gas-liquid Chromatography), ale ve zvláštních případech je nezbytná separace metodou HPLC. Princip HPLC spočívá ve využití mikroparticulárních nosičů, které se vyznačují vyšším koeficientem přenosu hmoty, avšak za cenu použití vysokých tlaků až do 50 MPa. Při použití tlaků nad 50 MPa je nutné použít jinou techniku, zvanou UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography), která pracuje s širokým rozsahem průtoků a výrazně zkracuje dobu analýzy. Vlastní přístroj musí být s ohledem na tyto tlaky konstruován. Kolony představují kovové nebo tlustostěnné kapiláry v kovovém pouzdře, přístroj je vybaven účinnou pumpou, která musí minimálně pulzovat. Vzorek lze zavádět buď po zastavení přístroje tzv. technikou stop-flow, nebo je přístroj vybaven nástřikovou smyčkou s šestičlenným kohoutem. [29, 30]

Metoda HPLC hraje v analýze FAs důležitou roli při separaci geometrických *cis/trans* izomerů. Geometrické izomery je v analytických metodách obtížné oddělit vzhledem k jejich podobné hydrofóbnosti, proto se využívají speciální kolony pro lepší separaci v důsledku vyšší selektivity molekulárního tvaru. Derivatizace FAs není nutná, pokud je použita metoda HPLC na obrácené fázi tzv. RP-HPLC (angl. Reversed-Phased High Performance Liquid Chromatography). Technika RP-HPLC je možná pro analýzu všech methylesterů FAs – TAGs, DAGs, MAGs bez potřeby derivatizace. Separace TAGs lišících se počtem atomů uhlíku může být snáze dosaženo pomocí izokratické nebo gradientové bezvodé RP-HPLC. Největší význam má vysokoúčinná kapalinová chromatografie pro stanovení těkavých složek, především FAs s krátkým řetězcem, dále pro preparativní účely nebo studium izotopicky značených FAs. V HPLC mohou být použity všechny typy detekto-

rů, ale derivatizované FAs jsou nejčastěji sledovány UV spektrometrií či fluorimetrií. RP-HPLC a argentační chromatografie (katex se stříbrnými ionty) je nejčastější metodou separace lipidů lišících se počtem a pozicí dvojných vazeb. [31, 32]

### 3.1.3 Tenkovrstevná chromatografie

Chromatografie na tenké vrstvě – TLC (angl. Thin-Layer Chromatography) je velmi jednoduchá a značně účinná separační technika. Její podstatou je rozdělení jednotlivých složek směsi na základě odlišné interakce složek se stacionární fází, která je nanášena v tenké vrstvě na pevný nosič, v případě papírové chromatografie – PC (angl. Paper Chromatography) na tenkou vrstvu chromatografického papíru. Mobilní fází je organické rozpouštědlo o vhodné polaritě proudící vlivem kapilárních sil. Po dokončení procesu dělení jsou rozpuštěné látky detekovány *in situ* na povrchu tenké vrstvy pomocí vizualizace chemickým činidlem [33, 34]

Při použití planární chromatografické techniky pro rozdělení nižších FAs je limitujícím faktorem nestálost některých FAs a nízká rozpustnost jiných. Nejprve je vzorek oleje podroben alkoholické hydrolyze pod zpětným chladičem a vzniklé mýdlo se po zahuštění rozpustí ve vroucí vodě a promývá silnou kyselinou. Nadále jsou FAs extrahovány rozpouštědlem a zakoncentrovány. Chromatografický papír je impregnován 10 % roztokem olivového nebo parafinového oleje v benzenu a po nanášení vzorku se vyvíjí vzestupně chemickým činidlem. Metoda PC je zdlouhavá a pro kvantitativní účely není příliš přesná, proto se upřednostňuje metoda TLC. Tato metoda se používá k identifikaci organických i anorganických rozpustných látek s následným porovnáním standardů. Kvantitativní analýza je možná, ale není příliš přesná. [27, 34]

## 3.2 Spektroskopické metody

Chromatografické metody mají při stanovení FAs v jedlých olejích několik nevýhod, ke kterým náleží oxidace FAs během derivatizace nebo zdlouhavá příprava methylesterů. Z těchto důvodů se vyvinulo úsilí věnovat se atraktivnějším metodám pro stanovení FAs. Tradiční chromatografické analýzy jsou časově náročné, drahé, náročné na pracovní sílu a také destruktivní, proto bylo cílem vyvinout jednodušší, rychlejší a levnější metody s minimální nebo vůbec žádnou úpravou vzorku. Bylo zjištěno, že spektroskopické metody poskytují velmi podobné výsledky při stanovení FAs jako dosud využívané chromatografické metody. Spektroskopické metody si také zaslouží pozornost i z hlediska nízkého dopadu na životní prostředí, jelikož je v metodě používáno minimální množství rozpouštědel. Infračervená a Ramanova spektroskopie se ukázaly jako velmi vyhovující metody stanovující FAs. [24, 35]

Většina spektroskopických metod je zaměřena na detekci falšování rostlinných olejů, jejich zařazení a stanovení zeměpisného původu. Spektroskopické metody jsou zvláště vhodné pro objasnění struktury *trans* izomerů FAs. Ramanova spektroskopie je také vhodná pro detekci různých hladin falšování olivového oleje lískovým olejem. Vibrační přechody v molekulách způsobují absorpci v infračervené oblasti elektromagnetického spektra. Tyto přechody mohou být také sledovány Ramanovou spektroskopií, kde jsou rozptýleny excitační radiací, což vyvolá posun v jejich vlnové délce. Vibrační spektra dávají informace o funkčních skupinách molekul a pozorované frekvence těchto skupin jsou ovlivněny molekulárními interakcemi, především vodíkovými můstky. [34, 35]

### 3.2.1 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie – IR (angl. Infrared Spectroscopy) je metoda, při které se zkoumají vibrační stavy molekul. Principem metody je absorpce infračerveného záření molekulami látek. Obecně se v infračervených spektrech sleduje závislost transmitance nebo absorbance na vlnočtu absorbovaného záření. Spektra jsou pásová, přičemž jednotlivé pásy odpovídají různým valenčním přechodům. Metoda IR se dělí na blízkou infračervenou oblast ( $12\,800 - 4\,000\text{ cm}^{-1}$ ), střední infračervenou oblast ( $4\,000 - 200\text{ cm}^{-1}$ ) a vzdálenou infračervenou oblast ( $200 - 10\text{ cm}^{-1}$ ). Infračervená spektroskopie v blízké oblasti se využívá pro analýzu chemických i fyzikálních vlastností bez nutné úpravy vzorku. Tato metoda je vhodná jak pro analýzu kvalitativních charakteristik v potravinách, tak zemědělských surovin. [29, 36]

Při stanovení *trans* izomerů FAs se tyto izomery převádějí na methylestery a následně se změří infračervené spektrum vzorku v intervalu  $1\,100 - 910\text{ cm}^{-1}$ . Výška absorbujícího píku je úměrná obsahu dvojných vazeb v konfiguraci *trans*. Metoda IR v podobě spektroskopie s Fourierovou transformací – FTIR (angl. Fourier Transform Infrared) je často používána ke stanovení oxidačních změn rostlinných olejů. Metoda FTIR umožňuje získávat kvalitní spektra pomocí reflexních technik. Analýza olejů touto technikou je rychlá, automatizovatelná a navíc eliminuje použití toxických rozpouštědel. Metodu FTIR je možné využít nejen ke sledování oxidace jedlých olejů, ale i k určení obsahu *cis* a *trans* izomerů FAs nebo obsahu volných FAs. [19, 36]

### 3.2.2 Ramanova spektroskopie

Principem Ramanovy spektroskopie je měření rozptýleného záření, které vzniká interakcí monochromatického záření z viditelné až blízké infračervené oblasti s molekulami vzorku za současné změny jejich vibračních a rotačních stavů. Na rozdíl od infračervené spektroskopie, kde jsou aktivní vibrace, u kterých se mění dipólový moment, jsou v této metodě aktivní vibrace s měnící se polari-



zovatelností. Ramanova spektroskopie je tedy ideální metodou pro analýzu mastných kyselin, jelikož nepolární vazby výrazně absorbují v Ramanově spektru. Jelikož molekuly vydávají charakteristická Ramanova spektra, může být analýza chemických látek provedena velmi rychle. Pokud vzorek obsahuje složité chemické látky, mohou být různé složky identifikovány a kvantifikovány měřením intenzity Ramanových čar nebo pásů, protože mohou souviset s četností ve vzorcích. [19, 37]

## 4 METODY ZJIŠŤUJÍCÍ STUPEŇ OXIDAČNÍCH ZMĚN V OLEJÍCH

Pro měření oxidace lipidů se běžně využívá řada analytických metod, přesto však neexistuje žádná univerzální metoda, která by identifikovala všechny oxidační změny všech potravinových systémů. Z toho důvodu je tedy nutné zvolit správné fyzikální a chemické zkoušky, včetně instrumentálních analýz, ke konkrétnímu stanovení oxidačních parametrů lipidů. Dostupné techniky jsou založeny na sledování absorpce kyslíku, tvorbě volných radikálů nebo tvorbě primárních či sekundárních oxidačních produktů. Mezi nejčastěji využívané techniky patří jodometrická titrace, chromatografické metody, spektrometrické sledování komplexů iontů železa, konjugovaných dienů a trienů, metody thiobarbiturového a *p*-anisidinového čísla, karbonylové hodnoty a mnoho dalších. Nejnovější techniky pak využívají nástroje pro měření oxidační stability – OSI (angl. Oxidative Stability Index) nebo elektronovou spinovou rezonanci – ESR (angl. Electron Spin Resonance) pro stanovení typu a množství volných radikálů. Kromě zmíněných metod se také využívají senzorické testy poskytující subjektivní hodnocení oxidačního poškození. Senzorická analýza je jediná technika, která sleduje off-flavour – charakteristické aroma žluklých olejů. Kromě toho může být senzorická analýza velmi citlivá, protože člověk dokáže detekovat některé aromatické sloučeniny na úrovni nižší nebo v blízké úrovni detekce chemických a instrumentálních analýz. Na druhou stranu se v tucích při oxidaci vytváří nežádoucí látky, které jsou do jisté míry toxické. Tyto nežádoucí látky nelze senzorickými zkouškami zjistit. [38, 39]

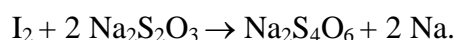
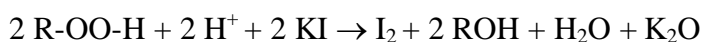
### 4.1 Analýza primárních oxidačních produktů

Hydroperoxydy, příp. peroxydy, jsou primární produkty oxidace lipidů, které vznikají během iniciační a propagační fáze. Z jedné FA může vzniknout enormní množství různých oxidačních produktů obsahujících často dvojnásobné vazby a v některých případech neporušené pentadienové systémy. Rychlost rozkladu těchto sloučenin je vysoká a v průběhu poslední oxidační fáze dochází ke snížení koncentrace těchto sloučenin. Nevýhodou stanovení primárních produktů k určení oxidačního stupně je skutečnost, že primární produkty jsou nestabilní a nepřímo přispívají ke vzniku žluklého zápachu. Primární oxidační produkty nemají žádný vliv na kvalitu chuti potravin. Rozsah oxidačních změn rostlinných olejů je závislý na míře nenasycenosti FAs a na struktuře jednotlivých TAGs. Dvojnásobné vazby a methylenové skupiny, které se vyskytují u PUFAs blízko dvojnásobných vazeb, představují aktivní místa pro tvorbu volných radikálů. Koncentrace peroxidů přítomných v rostlinných olejích odráží jeho oxidační stupeň, tedy i sklon ke žluknutí. Rostlinné oleje jsou často baleny do průsvitných plastových obalů a během dlouhodobého skladování a stání u prodejců se zhoršuje jejich kvalita, proto je stanovení koncentrace peroxidů důležitým oxidačním ukazatelem. [40, 42]

#### 4.1.1 Jodometrické stanovení

Jednou z metod stanovující koncentraci peroxidů a hydroperoxidů v počáteční fázi oxidace lipidů je jodometrická titrace. Princip jodometrického stanovení peroxidového čísla rostlinných olejů je založen na reakci peroxidů přítomných v olejích s jodidem draselným a následné titraci uvolněného jódu thiosíranem sodným. Během reakce vzniká ekvivalentní množství jodu, které se titruje thiosíranem sodným za vzniku jodidu, který se měří s indikátorem škrobového mazu. Vzhledem k tomu, že jsou primární oxidační produkty při běžné teplotě velmi nestabilní, je jodometrické stanovení koncentrace peroxidů jen přibližným ukazatelem oxidačního stupně. Detekční limit této metody je přibližně 0,5 mekv.kg. Jodometrická metoda je časově náročná a pracná, přestože je poměrně jednoduchá. Z tohoto důvodu byla zvolena infračervená spektrometrie jako alternativní metoda ke stanovení peroxidů v rostlinných olejích. [41, 43]

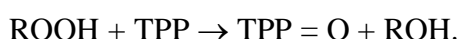
##### Princip metody:



#### 4.1.2 Spektrometrické stanovení

Jednou z metod založenou na spektrometrickém stanovení míry opotřebení rostlinných olejů je infračervená spektroskopie, dnes užívaná výhradně v podobě spektroskopie s Fourierovou transformací – FTIR. Principem metody je stechiometrická reakce trifenyfosfinu (TPP) s hydroperoxydy přítomných ve vzorcích oleje za vzniku trifenyfosfinoxidu (TPPO), který má intenzivní absorpci v oblasti ve střední infračervené oblasti  $542 \text{ cm}^{-1}$ . Metoda FTIR pracuje se střední oblastí elektromagnetického spektra od  $4000$  do  $400 \text{ cm}^{-1}$  a je možné sledovat počáteční i pokročilejší stupeň oxidačních změn. Metoda byla vyvinuta a úspěšně aplikována pro stanovení hodnoty peroxidů rostlinných olejů. Tato metoda umožňuje získávat kvalitní spektra pomocí reflexních technik. FTIR technika je velmi rychlá, během několika minut poskytne výsledek měření a snižuje množství použitých rozpouštědel. Metoda FTIR se neomezuje pouze na stanovení peroxidů, ale má daleko širší užití v potravinářské analýze, např. při stanovení FAs. [39, 45, 46]

##### Princip metody:



Sledování dienové konjugace se ukázalo jako užitečná technika pro studium oxidace lipidů. Oxidace může vést v PUFAs k izomeraci dvojných vazeb na konjugované dieny nebo trieny. Při stanovení oxidačních změn bylo zjištěno, že tvorba konjugovaných dienu v rostlinných olejích vede

k absorpci píků při vlnové délce 230 – 235 nm v UV oblasti. Během tvorby hydroperoxidů se obvykle tvoří v PUFAs konjugované dieny vzhledem k přesmyku dvojných vazeb. Stanovení konjugovaných dienů v UV oblasti je jednoduchá a rychlá metoda, která nevyžaduje chemická činidla a ke stanovení postačí jen malé množství vzorku. Na druhou stranu má tato metoda nižší citlivost než metoda jodometrického stanovení peroxidů. Výsledek může být také ovlivněn přítomností jiných sloučenin se stejnou absorbující oblastí, např. karotenoidů. Konjugované dvojně vazby se rychle tvoří v PUFAs po odstranění vodíku během iniciace. Lze měřit v potravinách i konjugované trieny při vlnové délce 268 nm. Tato technika je užitečná pouze s lipidy, které mají více než tři dvojně vazby, proto je metoda omezena na potraviny s převažujícím obsahem nenasycených FAs, např. lněného oleje nebo rybího tuku. [39, 43]

Metoda založená na oxidaci železa s xylenovou oranží – FOX (Ferrous Oxidation with Xylenol Orange) se řadí mezi jednu z nejvíce užitečných metod pro stanovení primárních oxidačních produktů. Metoda FOX je založena na schopnosti hydroperoxidů oxidovat  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$  za vzniku modrofialového komplexu mezi železitými ionty a xylenolovou oranží. Reakce probíhá v kyselém prostředí a absorpční maximum barevného komplexu se nachází mezi  $\lambda = 560 - 590$  nm. Vytvořený barevný komplex může být snadno spektrofotometricky stanoven vzhledem k jeho vysokému absorpčnímu koeficientu, který se nachází v rozmezí 550 – 600 nm. Způsob metody FOX byl poprvé navržen pro stanovení peroxidu vodíku v ozářených vodných roztocích. Výhodou metody je rychlost a snadná použitelnost. Metoda FOX má však i jisté nevýhody, ke kterým se řadí nízká citlivost na okolní kyslík a světlo a také její relativně nízká reprodukovatelnost. [43, 50]

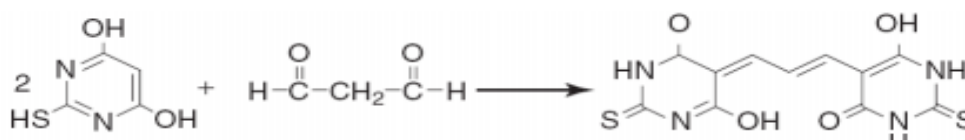
## 4.2 Analýza sekundárních oxidačních produktů

Sekundární produkty oxidace lipidů jsou sloučeniny vznikající přes další reakce (např.  $\beta$ -oxidace FAs) z hydroperoxidů FAs a jejich radikálů, které dále mohou spolu reagovat. Výsledkem dalších reakcí jsou sekundární produkty oxidace – hydroxykyseliny a oxokyseliny. Při štěpení těchto molekul mohou vznikat aldehydy nebo uhlovodíky. Kvůli obrovské rozdílnosti a množství všech těchto sloučenin, je prakticky nemožné měřit všechny tyto vzniklé produkty současně. Z toho důvodu se metody zaměřují na analýzu jen jedné sloučeniny nebo skupiny podobných sloučenin. Nevýhodou některých těchto metod je to, že vedlejší produkty pochází z rozkladu lipidových peroxidů. V některých případech mohou být koncentrace vedlejších produktů velmi nízké, zatímco koncentrace primárních oxidačních produktů příliš vysoké. Kromě toho mohou některé sloučeniny v potravinách, které obsahují aminové a sulfhydrylové skupiny, interagovat se sekundárními produkty, jako jsou aldehydy, což je obtížné při oxidačním měření. Rostlinné oleje obsahující sekun-

dární oxidační produkty jsou nepoživatelné z důvodu vzniklého zápachu a hořké chuti. Uhlovodíky dodávají typickou žluklou chuť i velmi málo oxidovaným olejům, zatímco aldehydy jsou nositeli žluklé chuti spíše v rozsáhlejších stádiu oxidace. [43, 47]

#### 4.2.1 Stanovení thiobarbiturového čísla

Test thiobarbiturového čísla – TBA (angl. Thiobarbituric Acid) je založen na reakci mezi thiobarbiturovou kyselinou a karbonyly za vzniku červených, fluorescenčních produktů v kyselém prostředí. Test TBA je často v analýze využíván ke stanovení sekundárních produktů oxidace lipidů, pomocí kterého je měřena absorbance vzniklého komplexu TBA-MDA v oblasti 532 – 535 nm. Malonaldehyd – MDA (angl. Malondialdehyde) je tříuhlíkatý dialdehyd a je oxidačním meziproduktem polyneenasycených FAs, které obsahují v molekule alespoň tři dvojně vazby. Celkový výtěžek MDA je závislý na struktuře PUFAs, čím více obsahují dvojných vazeb, tím větší množství MDA produkují. Na druhou stranu má TBA test jistou nevýhodu, protože TBA může reagovat i s nelipidovými karbonylovými sloučeninami, např. kyselinou askorbovou, sacharidy, produkty neenzymatického hnědnutí aj. Tyto sloučeniny mohou následně tvořit s TBA adiční produkty, které absorbují v rozsahu 450 – 550 nm. K odstranění nebo alespoň zmenšení tohoto nedostatku se k měření komplexu TBA-MDA využívají fluorescenční nebo HPLC techniky. Na Obr. 20 je uveden princip reakce. [39, 43]

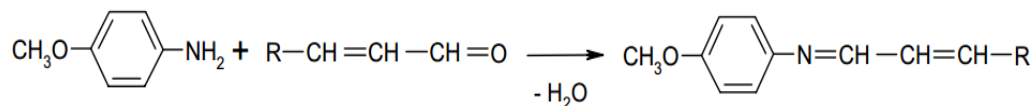


Obr. 20. Princip metody stanovení thiobarbiturového čísla. [43]

#### 4.2.2 Stanovení p-anisidinového čísla

Měření hodnoty p-anisidinového čísla je empirický test pro stanovení pokročilého stádia oxidačního žluknutí rostlinných olejů. Principem testu je kondenzační reakce mezi konjugovanými dienaly nebo 2-alkenaly a p-anisidinu (p-methoxyanilinu) za vzniku barevných produktů. Reakce probíhá v kyselém prostředí, při které vznikají žluté produkty s absorpčním maximem v oblasti 350 nm. Tato rychlá metoda stanovuje obsah aldehydů, zejména konjugovaných dienalů a 2-alkenalů, které představují sekundární produkty oxidace PUFAs. Test p-anisidinového čísla je citlivější na nenasycené aldehydy než na ty nasycené, protože rostlinné oleje obsahující nenasycené aldehydy absorbují silněji tuto vlnovou délku. Aldehydy jsou do značné míry zodpovědné za vznik typického aroma žluklých tuků a olejů. Anisidinový test je zvláště vhodný ke stanovení oxidace olejů, které mají nízký

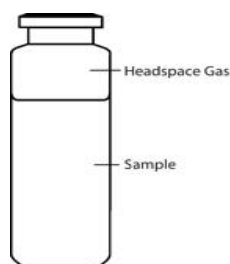
obsah peroxidů a je také vhodný pro posouzení kvality olejů s vysokým obsahem PUFAs. Metoda *p*-anisidinového čísla je často používána ve spojení s jodometrickou titrací k výpočtu tzv. totální hodnoty oxidace lipidů. Na Obr. 21 je znázorněn princip reakce. [39, 48]



Obr. 21. Princip metody stanovení *p*-anisidinového čísla. [48]

### 4.2.3 Chromatografické metody

Během sekundární oxidace lipidů se mohou hydroperoxydy zapojit buď do kondenzačních, nebo degradačních reakcí, které vedou k tvorbě dimerů, polymerů, aldehydů, hydroxydienů nebo epoxyhydroxydienů. Všechny tyto sloučeniny mohou být analyzovány pomocí chromatografických metod, zvláště metodou plynové nebo vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Metoda GC poskytuje informace o základním mechanismu oxidace lipidů. Technika GC má široké použití při stanovení těkavých produktů, zvláště hexanu a pentanu, které vznikají při štěpení hydroperoxidů. Z tohoto důvodu byly vyvinuty metody pro přímé vstříkávání vzorku rostlinných olejů do chromatografické kolony, zvláště za použití tzv. U-trubice pro snazší izolaci těkavých sloučenin. Mezi moderní chromatografické techniky, které zachycují jednotlivé těkavé látky, patří tzv. headspace plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem – HS-GC/FID a plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií – GC-MS. Za použití těchto metod dochází během analýzy k lepší specifčnosti stanovovaných látek. Označení „headspace“ v metodě HS-GC/FID představuje plynový prostor nad vzorkem v chromatografické vialce, který je zobrazen na Obr. 22. Těkavé složky plynu difundují do této plynné fáze. Pokud nejsou ve vzorku přítomny aldehydy nebo jsou hůře detekovatelné, mohou být při sledování stupně oxidace stanoveny nasycené uhlovodíky s krátkým řetězcem, které jsou stejně jako aldehydy odpovědné za žluklý zápach. Chromatografické metody slouží často k určení obsahu pentanů ve vzorcích a jsou tak užitečnými nástroji pro vyhodnocení žluklosti rostlinných olejů. [39, 49]



Obr. 22. Vialka se vzorkem a plynným „headspace“ prostorem. [49]

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍL PRÁCE

Cílem této práce bylo určit kvantitativní změny mastných kyselin u třinácti netradičních vzorků rostlinných olejů v závislosti na době skladování. Tato práce navazuje na výsledky diplomové práce Ing. Lucie Slováčkové a zabývá se analýzou vzorků olejů a jejich kvalitativními změnami v rámci dalšího skladování.

Ke kvantitativnímu určení zastoupení mastných kyselin byla použita metoda plynové chromatografie s plamenově-ionizačním detektorem. Současně byla také stanovena čísla kyselosti a peroxidová čísla olejů pro zachycení kvalitativních změn ve složení olejů během skladování.



## 6 MATERIÁL A METODIKA

### 6.1 Použitý materiál

Analyzované oleje byly zakoupeny v komerční síti. Přehled analyzovaných vzorků olejů je uveden v Tab. 4.

Tab. 4. Přehled analyzovaných olejů.

Název oleje	Výrobce
1. Víta slunečnicový olej, lisovaný za studena, nerafinovaný	P. Brändle, GmbH
2. Víta podzemnicový olej, pro teplou kuchyni	P. Brändle, GmbH
3. Víta olej z hroznových jader, lisovaný za studena	P. Brändle, GmbH
4. Víta řepkový olej – přírodní, lisovaný za studena	P. Brändle, GmbH
5. Kokosový olej 100%	DNM company, s. r. o.
6. Panenský konopný olej, lisovaný za studena	Hemp production, s. r. o.
7. Mandlový olej BIO, lisovaný za studena	Country Life, s. r. o.
8. Olej ze světlice barvířské BIO, lisovaný za studena	Country Life, s. r. o.
9. Olej z pšeničných klíčků, lisovaný za studena	Country Life, s. r. o.
10. Olej sezamový BIO, lisovaný za studena	Country Life, s. r. o.
11. Olej z dýňových semen BIO, lisovaný za studena	Country Life, s. r. o.
12. Olej z ostropestřce mariánského, lisovaný za studena	Natural Jihlava JK, s. r. o.
13. Rýžový olej bez cholesterolu	Basso Fedele & Figli s. r. l.

### 6.2 Stanovení FAs v rostlinných olejích

Ke kvantitativnímu stanovení FAMES byla použita technika GC/FID a metoda vnitřního standardu.

#### 6.2.1 Použité chemikálie, pomůcky a přístroje

- *n*-heptan p. a., Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- síran sodný bezvodý, Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- chlorid sodný p. a., Lach-ner, Neratovice,
- methanol koncentrovaný, p. a., Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- hydroxid sodný p. a., Ing. Petr Švec, Chrudim,
- bortrifluorid-diethylether-Komplex zur Synthese, Merck KGaA, Darmstadt,
- standard U 0220-Methyl-undekanoát, Sigma Aldrich Co LLC, USA,

- standard FAME Mixture C4 – C24, Restek, USA,
- běžné laboratorní sklo,
- topné hnízdo LTHS 250 – Brněnská Drutěva, Česká Republika,
- analytické váhy Explorer EP 214, Švýcarsko,
- plynový chromatograf Shimadzu GC/FID-2010 s kapilární kolonou, Shimadzu Handels GmbH, Japonsko,
- vysoce polární kolona HP 88 Agilent Technologies s rozměry stacionární fáze 100 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies, USA.

### 6.2.2 Příprava methylesterů

Před vlastním chromatografickým vyhodnocením bylo nutné převést všechny vzorky olejů na methylestery příslušných mastných kyselin. Principem metody bylo zmýdelnění vzorků methanolic- kým roztokem NaOH a převedení mastných kyselin na methylestery reakcí s bortrifluorid- methanolovým komplexem. Pro stanovení mastných kyselin s optimální výtěžností methylesterů bylo docíleno použitím heptanu.

#### a) Příprava 0,5 M methanolického roztoku NaOH

Nejprve bylo připraveno 500 ml 0,5 M methanolického roztoku NaOH. Dle vzorce:

$$m = c \cdot V \cdot M,$$

kde  $c$  je koncentrace methanolického roztoku NaOH,  $V$  je objem methanolického roztoku NaOH a  $M$  je molární hmotnost NaOH,

bylo naváženo 9,9993 g hydroxidu sodného, který byl rozpuštěn v malém množství methanolu. Vzniklý roztok byl převeden do 500 ml odměrné baňky a doplněn methanolem po rysku a důkladně protřepán.

#### b) Příprava 15% methanolického roztoku $\text{BF}_3$

Následně byl připraven 15% methanolický roztok fluoridu boritého, který byl v této metodě použit jako katalyzátor. Dle hmotnostního zlomku:

$$w_a = \frac{m_a}{m_s},$$

kde  $m_a$  je hmotnost látky A ve směsi a  $m_s$  je hmotnost celé směsi,

bylo vypočteno množství 37,5 ml bortrifluorid-diethylether komplexu, který byl převeden do 250 ml odměrné baňky s malým množstvím methanolu a doplněn po rysku.

### c) Příprava vnitřního standardu

Pro kvantitativní analýzu byla použita metoda vnitřního standardu – IS (angl. Internal Standard). IS je látka, která nesmí být přítomna ve vzorku, nesmí reagovat se složkami vzorku a musí se eluovat v blízkosti stanovované složky. Výhodou metody je to, že není nutné znát přesný objem nástřiku vzorku a navíc se s použitím IS snižuje vliv změn pracovních podmínek, protože jak stanovovaná složka, tak vnitřní standard jsou těmito změnami stejně ovlivněny. Jako IS se nejčastěji využívají methylestery mastných kyselin s C5, C15 a C17.

V analýze se jako IS použil methylester kyseliny undekanové. Po proběhlé esterifikaci byl ke vzorku přidán IS, který byl připraven odměřením 250  $\mu\text{l}$  methyl-undekanoátu, který byl převeden do 25 ml odměrné baňky a doplněn po rysku heptanem. Odměrná baňka byla důkladně protřepána a před vlastním použitím ponechána v chladničce.

### 6.2.3 Postup stanovení

Do varné baňky s kulatým dnem byl napipetován 1 ml vzorku, ke kterému byly přidány 4 ml připraveného roztoku 0,5 M methanolického NaOH. Poté byl k baňce připojen zpětný chladič a obsah baňky byl zahříván pod zpětným chladičem v inertní atmosféře dusíku po dobu cca 20 minut do vymizení tukových kapiček. Poté bylo přes vrchní konec chladiče přidáno 5 ml 15% roztoku  $\text{BF}_3$  a po cca 2 minutách bylo přidáno 5 ml heptanu. Po minutě varu byla varná baňka odstavena od tepelného zdroje a byl odstraněn i zpětný chladič.

Po částečném zchlazení byly k baňce přidány 2 ml nasyceného roztoku NaCl a vzniklý roztok byl převeden do 250 ml dělicí nálevky, která byla následně promyta 15 ml heptanu. Do dělicí nálevky byl přidán další nasycený NaCl v objemu 40 ml. Obsah nálevky byl důkladně protřepáván a chvíli ponechán v klidu, čímž došlo k rozdělení na dvě fáze. Spodní vodná fáze byla odpuštěna do druhé dělicí nálevky, ke které bylo přidáno dalších 15 ml heptanu, aby došlo k dalšímu oddělení heptanové fáze. Nově oddělená vodná fáze byla odpuštěna a heptanová fáze byla spojena s heptanovou fází z prvního dělení. Následně bylo do dělicí nálevky přidáno 20 ml nasyceného NaCl a nově vytvořená vodná fáze byla opět odpuštěna. Na závěr byla heptanová fáze vysušena bezvodým síranem sodným.

Připravené FAMES byly převedeny do 50 ml odměrných baněk s 1 ml vnitřního standardu a doplněny heptanem po rysku. Odměrné baňky byly důkladně protřepány a alikvotní podíl vzorku (cca

1,5 ml) byl převeden do vialek ke chromatografickému stanovení. Každý vzorek byl celkově dvakrát proměřen a pro potvrzení výsledků byla provedena dvě stanovení pro každý vzorek. Na Obr. 23 a Obr. 24 je znázorněna příprava FAMEs.



Obr. 23 a Obr. 24. Příprava methylesterů mastných kyselin.

#### 6.2.4 Kvalitativní a kvantitativní analýza FAs

Pro stanovení jednotlivých FAs všech 13 vzorků rostlinných olejů byl použit plynový chromatograf Shimadzu GC/FID-2010. Methylestery FAs analyzovaných vzorků a použitý standard byly proměřeny za stejných podmínek metody. Podmínky chromatografického stanovení jsou uvedeny v Tab. 5.

Tab. 5. Podmínky chromatografického stanovení.

Parametr	Hodnota
Plynový chromatograf	Shimadzu GC-2010
Kolona	HP-88 Agilent Technologies (100 m x 0,25 mm, film 0,25 $\mu$ m)
Nosný plyn	dusík
Detektor	FID
Doba analýzy	cca 90 min s lineární rychlostí 17,8 cm/s
Objem nástřiku, dávkování	1 $\mu$ l; split 100,0
Teplotní program	80 °C/5 min, 200 °C/30 min, 250 °C/15 min.

Kvalitativní analýza slouží jako důkaz analyzované látky ve vzorku. Pro identifikaci FAs je podstatné umístění maxima píku v chromatogramu, které je nejčastěji vyjádřeno retenčními časy. Kvalitativní vyhodnocení bylo provedeno na základě analýzy standardní referenční směsi FAME Mixture C4 – C24, která je spolu s retenčními časy uvedena v Příloze I. Tento standard zahrnoval 37 vybraných FAs, čímž bylo dosaženo širokého spektra stanovovaných FAs. Píky methylesterů byly identifikovány na základě jejich retenčních časů, které byly porovnány s retenčními časy píků známých FAs v referenčním standardu. Píky na chromatogramu zkušební vzorku se stejným nebo

přibližně stejným retenčním časem jako píky referenčního standardu byly považovány za píky stejné FA.

V chromatografii je plocha i výška píku přímo úměrná obsahu složky ve vzorku. K určení množství stanovené látky ve vzorku bylo docíleno pomocí kvantitativní analýzy. Nejprve byly určeny plochy jednotlivých píků, které byly znormalizovány na vnitřní standard C11:0. Normalizace souvisí s vnitřním standardem a omezuje chyby při nástřiku vzorku. Následně byly znormalizované plochy píků přepočteny na procentuální zastoupení jednotlivých FAs z celkového množství FAMES. Bylo nutné, aby součet všech ploch píků dal hodnotu 100 %, přitom plochy jednotlivých píků tvořily procentuální zastoupení. Molární zlomek složky *i* vyjádřený v procentech byl vypočten dle vzorce:

$$x_i = \frac{A_i}{\sum_i A_i} * 100,$$

kde  $A_i$  je plocha normalizovaného píku konkrétní FA a  $\sum A_i$  je součet ploch normalizovaných píků všech přítomných FAs.

### 6.3 Stanovení čísla kyselosti

Kvalita tuků se obvykle zjišťuje zkouškami, které se nazývají tukové charakteristiky nebo tuková čísla. Tuková čísla se používají k popisu vlastností a jakosti tuků nebo olejů. V současné době jsou tyto metody častěji nahrazovány modernějšími a objektivnějšími metodami (GC, HPLC). Číslo kyselosti se používá ke stanovení obsahu volných FAs v tucích a olejích. Tento parametr je definován jako hmotnost hydroxidu draselného v mg, který je potřebný k neutralizaci kyselin v 1 g tuku/oleje. Číslo kyselosti tuku stanoví stupeň hydrolytického štěpení tuku – uvolnění mastných kyselin, k čemuž dochází při stárnutí rostlinného oleje.

Metoda stanovení čísla kyselosti je založena na rozpuštění vzorku rostlinného oleje ve směsi rozpouštědel diethylether-ethanol v poměru 1 : 1 a následné titraci volných FAs obsažených v oleji alkoholickým roztokem hydroxidu draselného do růžového zbarvení na indikátor fenolftalein.

#### 6.3.1 Použité chemikálie a pomůcky

- hydroxid draselný p. a. – Ing. Petr Švec, Chrudim,
- diethylether stabilizovaný p. a. – Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- ethylalkohol absolutní – Ing. Petr Švec, Chrudim,
- fenolftalein – roztok v 95% ethanolu,

- kyselina šťavelová dihydrát – Ing. Petr Švec, Chrudim,
- běžné laboratorní sklo,
- analytické váhy Explorer EP 214, Švýcarsko.

#### a) Příprava 1000 ml 0,1 M KOH

Pro přípravu 1000 ml 0,1 M KOH dle vzorce:

$$m = c \cdot V \cdot M,$$

kde  $c$  je požadovaná koncentrace KOH,  $V$  je objem KOH a  $M$  je molární hmotnost KOH,

bylo naváženo 5,676 g hydroxidu draselného. Navážka byla rozpuštěna v ethanolu a doplněna po rysku. Roztok 0,1 M KOH byl připraven cca 5 dní před vlastní analýzou a uchován na temném místě.

#### b) Standardizace 0,1 M KOH

Přesná koncentrace odměrného roztoku 0,1 M KOH byla zjištěna pomocí standardizace na dihydrát kyseliny šťavelové. Dle vzorce:

$$m = c \cdot V \cdot M \cdot F,$$

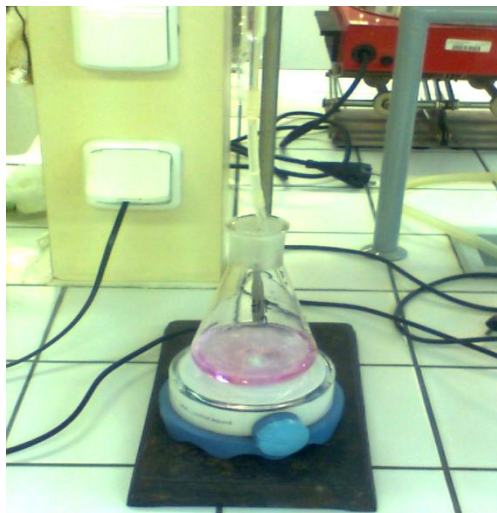
kde  $c$  je koncentrace KOH,  $V$  je spotřeba KOH,  $M$  je molární hmotnost kyseliny šťavelové a  $F$  je stechiometrický faktor,

byla vypočtena navážka kyseliny šťavelové tj. 0,1261 g. Navážka byla převedena do titrační baňky, do které bylo dále přidáno 50 ml destilované vody, 5 kapek indikátoru fenolftaleinu a vzniklý roztok byl titrován odměrným roztokem KOH do slabě růžového zbarvení. Stanovení bylo provedeno celkem 3x. Výpočet titru 0,1 M KOH je uveden v Příloze II.

#### c) Titrace vzorků

Do 250 ml Erlenmayerovy baňky byl navážen 1 g vzorku rostlinného oleje, ke kterému bylo přidáno 50 ml zneutralizované alkohol-etherové směsi a uzavřená baňka byla dobře protřepána. Následně bylo přidáno 5 kapek fenolftaleinu a vzniklý roztok byl za stálého míchání titrován odměrným roztokem 0,1 M KOH do růžového zbarvení, které vydrželo minimálně po dobu 15 sekund.

Současně byl s titrací vzorků proveden slepý pokus, jehož stanovení bylo obdobné, avšak bez přidání rostlinného oleje. Na Obr. 25 je znázorněna titrace vzorků olejů odměrným roztokem 0,1 M KOH.



Obr. 25. Titrace vzorků olejů odměrným roztokem 0,1 M KOH.

### 6.3.2 Vyjádření výsledků

Číslo kyselosti bylo vypočteno ze vztahu:

$$\check{C}K = \frac{(a-b) \cdot c \cdot M}{m} \text{ [mg KOH/g]},$$

kde  $a$  je spotřeba 0,1 M KOH na vlastní stanovení,  $b$  je spotřeba 0,1 M KOH na slepý pokus,  $c$  je koncentrace 0,1 KOH,  $M$  je molární hmotnost KOH a  $m$  je navážka vzorku.

Vypočtená hodnota udává množství KOH v mg potřebné k neutralizaci volných FAs v 1 g oleje. Výsledek je uveden jako aritmetický průměr ze tří stanovení.

## 6.4 Stanovení peroxidového čísla

Peroxidové číslo je ukazatelem obsahu primárních produktů oxidace tuků a olejů – peroxidů a hydroxidů, což je nežádoucí jev snižující jejich senzoryckou i nutriční hodnotu. Peroxidové číslo udává množství kyslíku schopného oxidovat jodid na jód za podmínek metody a vyjadřuje se v miliekvivalentech aktivního kyslíku vázaného v 1 kg tuku/oleje.

Jodometrické stanovení peroxidového čísla je založeno na reakci chloroformového extraktu vzorku s jodidem draselným v roztoku s kyselinou octovou a následnou titrací uvolněného jódu odměrným roztokem thiosíranu sodného do odbarvení za použití škrobového mazu jako indikátoru.

### 6.4.1 Použité chemikálie a pomůcky

- chloroform koncentrovaný p. a. – Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,

- kyselina octová (ledová) – Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- dichroman draselný – Lachema, a. s., Brno,
- kyselina chlorovodíková 35% – Ing. Petr Švec, Chrudim,
- thiosíran sodný pentahydrát p. a. – Lachema, a. s., Brno,
- 1% škrobový maz v nasyceném NaCl – Lachema, a. s., Brno,
- 10% jodid draselný – Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod,
- běžné laboratorní sklo,
- analytické váhy Explorer EP 214, Švýcarsko.

#### **a) Příprava 1000 ml 0,01 M thiosíranu sodného**

Pro přípravu zásobního odměrného roztoku dle vzorce:

$$m = c \cdot V \cdot M,$$

kde  $c$  je koncentrace  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,  $V$  je objem  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  a  $M$  je molární hmotnost  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,

bylo naváženo 2,481 g thiosíranu sodného. Navážka thiosíranu sodného byla rozpuštěna v destilované vodě, převedena do 1000 ml odměrné baňky a doplněna po rysku. Obsah baňky byl poté důkladně protřepán. Odměrný roztok thiosíranu sodného byl připraven cca 2 dny před vlastním stanovením.

#### **b) Standardizace 0,01 M thiosíranu sodného**

Standardizace byla provedena na dichroman draselný. Navážka pro přípravu 1000 ml 0,017 M zásobního roztoku dichromanu byla vypočtena dle vzorce:

$$m = c \cdot V \cdot M,$$

kde  $c$  je koncentrace  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $V$  je objem  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  a  $M$  je molární hmotnost  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .

Navážené množství dichromanu draselného tj. 5,007 g bylo rozpuštěno v přiměřeném objemu destilované vody, převedeno do 1000 ml zásobní baňky a doplněno po rysku. Ze zásobního roztoku  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  bylo odpipetováno 10 ml do titrační baňky, do které bylo dále přidáno 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné destilovanou vodou v poměru 1 : 1 a 10 ml 10% jodidu draselného. Baňka byla uzavřena, promíchána a ponechána 5 minut na tmavém místě. Po uplynulé době byla zátka opláchnuta destilovanou vodou a obsah byl titrován roztokem  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  do žlutého zbarvení. Poté bylo přidáno 5 kapek škrobového mazu a obsah baňky byl dotitrován z modrofialového zbarvení do světle-



zeleného zbarvení. Z odečtené spotřeby thiosíranu byla vypočtena přesná koncentrace odměrného roztoku, která je uvedena v Příloze III. Stanovení titru bylo provedeno celkem třikrát.

### c) Titrace vzorků

Do 250 ml Erlenmayerovy baňky byl navážen 1 g vzorku rostlinného oleje, ke kterému bylo přidáno 10 ml chloroformu, 15 ml kyseliny chlorovodíkové a 1 ml 10% KI. Baňka byla uzavřena, promíchána a ponechána 5 minut na tmavém místě. Po uplynutí doby bylo k roztoku přidáno 50 ml destilované vody a 5 kapek škrobového mazu. Baňka byla opět dobře promíchána. Vyloučený jód byl následně titrován standardizovaným roztokem 0,01 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> do odbarvení indikátoru škrobového mazu. Souběžně byl s titrací proveden slepý pokus obdobným způsobem, avšak bez přidání navážky rostlinného oleje. Z odečtené spotřeby odměrného roztoku bylo vypočteno peroxidové číslo.

### 6.4.2 Vyjádření výsledků

Peroxidové číslo bylo vypočteno ze vztahu:

$$P\check{C} = \frac{(a-b)}{m} * c * 1000 \text{ [mekv. aktivního O}_2\text{/1 kg]},$$

kde  $a$  je spotřeba 0,01 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> na vlastní stanovení,  $b$  je spotřeba 0,01 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> na slepý pokus,  $c$  je koncentrace 0,1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> a  $m$  je navážka vzorku.

Peroxidové číslo udává množství aktivního kyslíku v mekv. vázaného v 1 kg tuku/oleje. Peroxidové číslo bylo vyjádřeno jako aritmetický průměr ze tří stanovení.

### 6.5 Statistické vyhodnocení výsledků

Při statistickém zhodnocení výsledků kvantitativních změn obsahů mastných kyselin byl použit párový  $t$  – test v programu QC – Expert (TriloByte Statistical Software, s.r.o., Pardubice, Česká republika) na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Analýzy každého vzorku rostlinného oleje byly provedeny celkem 4x. Po každém měření byl vypočten aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

## 7 VÝSLEDKY A DISKUSE

Rostlinné oleje byly skladovány při běžné pokojové teplotě na temném místě. Datum minimální trvanlivosti olejů se pohyboval v rozmezí 10 – 18 měsíců. Kvantitativní změny mastných kyselin u jednotlivých vzorků olejů byly zjišťovány po 6 a 10 měsících skladování pomocí GC/FID. Publikované údaje o složení FAs vybraných druhů olejů jsou uvedeny v Příloze IV.

### 7.1 Kvantitativní vyhodnocení mastných kyselin

#### Olej z dýňových semen BIO

Olej získaný z dýňových semen je charakteristický vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin, zejména linolové a  $\alpha$ -linolenové, dále vitamínu E a minerálních látek. Ze zdravotního hlediska je olej výhodný pro své utišující a revitalizační účinky. Navíc olej příznivě působí proti lámavosti nehtů a pomáhá při příznacích demineralizace. [11] Výrobce uvádí, že je olej vhodný k přípravě zeleninových salátů nebo se může kombinovat s jinými oleji při vaření.

Zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji je uvedeno v Tab. 6.

Tab. 6. Zastoupení mastných kyselin v oleji z dýňových semen.

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C8:0	0,01	-
C10:0	0,01	-
C12:0	0,08	-
C14:0	0,19 <sup>a</sup>	0,15 <sup>b</sup>
C15:0	0,02	-
C16:0	13,28 <sup>a</sup>	13,25 <sup>a</sup>
C16:1(cis-9)	0,13 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>
C17:0	0,15 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>
C18:0	5,71 <sup>a</sup>	5,52 <sup>a</sup>
C18:1(cis-9)	24,71 <sup>a</sup>	24,81 <sup>a</sup>
C18:2(all-cis-9,12)	55,61 <sup>a</sup>	56,06 <sup>b</sup>
C20:1(cis-11)	0,10	-

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Výsledky naznačují, že kyselina linolová C18:2 (*all-cis-9,12*) byla převažující FA v dýňovém oleji, a to s obsahem 56,06 % po 10 měsících skladování. Dle publikovaných údajů činí obsah této FA v dýňovém oleji také kolem 56 %. [11] Vyšší obsah byl stanoven i u kyseliny olejové C18:1(cis-9), který činil ke konci skladovacího pokusu 24,81 %, přitom se běžně tato FA vyskytuje v oleji

v množství kolem 18 % [11]. Kyselina palmitová C16:0 se v dýňovém oleji přirozeně nachází v množství kolem 16 %. [11] Ke konci skladování činil její obsah 13,25 %. Kyselina stearová C18:0 se běžně nachází v tomto oleji v množství kolem 11 % z celkového obsahu FAs. Po 10 měsících skladování byl obsah této FA jen 5,52 %. V 10. měsíci byly stanoveny další FAs, jejichž obsah nepřekročil hodnotu 1 %, a to kyseliny myristová C14:0, heptadekanová C17:0 a palmitolejová C16:1(*cis*-9).

Ze statistického vyhodnocení vyplývá, že změny v obsahu FAs mezi 6. a 10. měsícem skladování nebyly velkého rozsahu. U obsahů kyselin myristové, palmitolejové, heptadekanové a linolové byl zjištěn statisticky významný rozdíl. U ostatních obsahů FAs nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly s použitím t – testu na hladině významnosti 5 %.

### **Olej z hroznových jader VITA**

Olej z hroznových jader je velmi kvalitní díky vyváženému obsahu MUFAs a PUFAs, kde hlavními kyselinami jsou linolová a olejová. Olej má také vysoký obsah antioxidantů. Co se týká jeho použití, je olej vhodný do teplé i studené kuchyně na přípravu dresinků, salátů a majonéz. Olej je charakteristický svou intenzivní hroznovou vůní a jemnou chutí [13]. Dle výrobce snižuje pravidelná konzumace oleje riziko vzniku trombózy.

Zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji je uveden v Tab. 7.

*Tab. 7. Zastoupení mastných kyselin v oleji z hroznových jader.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C8:0	0,01 <sup>a</sup>	0,01 <sup>a</sup>
C12:0	0,01 <sup>a</sup>	0,05 <sup>b</sup>
C14:0	0,04 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>
C15:0	0,01	-
C16:0	6,43 <sup>a</sup>	6,42 <sup>a</sup>
C16:1( <i>cis</i> -9)	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>
C17:0	0,06	-
C18:0	3,58 <sup>a</sup>	3,39 <sup>a</sup>
C18:1( <i>cis</i> -9)	14,39 <sup>a</sup>	13,74 <sup>b</sup>
C18:2(all- <i>cis</i> -9,12)	75,38 <sup>a</sup>	75,89 <sup>a</sup>
C20:1( <i>cis</i> -11)	-	0,30

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Kyselina linolová C18:2(*all-cis*-9,12) byla hlavní FA stanovenou v oleji z hroznových jader a její obsah činil po 10 měsících skladování 75,89 % [65]. Dle publikovaných údajů je kyselina linolová také hlavní mastnou kyselinou tohoto oleje, kde běžně tvoří až 77 %. [71] Vyšší obsah byl dále zaznamenán u kyseliny olejové C18:1(*cis*-9), který představoval 13,74 %. Po 10 měsících skladování byly dále stanoveny kyselina palmitová C16:0 s obsahem 6,42 % a kyselina stearová C18:0, jejíž obsah činil 3,39 %. Dle publikovaných údajů se kyselina palmitová C16:0, stearová C18:0 a olejová C18:1(*cis*-9) běžně nachází v tomto oleji v rozmezí 2 – 16 %. [71] V množství, které nepřevýšilo hodnotu 1 %, byly ke konci skladování stanoveny kyseliny kaprylová C8:0, laurová C12:0, myristová C14:0, palmitolejová C16:1(*cis*-9) a eikosenová C20:1(*cis*-11).

V oleji z hroznových jader byla při statistickém vyhodnocení zjištěna změna obsahu některých FAs během skladovacího pokusu. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u kyseliny laurové, myristové a olejové. Nicméně, hodnoty u kyseliny laurové a myristové byly příliš nízké a mohly vzniknout chybou stanovení.

### **Panenský konopný olej**

Panenský konopný olej má vysoký obsah nenasycených mastných kyselin, a proto není vhodný ke smažení. Díky šetrné technologii si ponechává všechny nutričně významné látky a navíc neobsahuje psychoaktivní látku THC, která se běžně nachází v konopí. Po sensorické stránce má konopný olej lehce oříškovou vůni a světle zelenou barvu. Pravidelné užívání konopného oleje podporuje buněčný metabolismus a imunitní systém. [10]

V Tab. 8 je zobrazeno zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

*Tab. 8. Zastoupení mastných kyselin v konopném oleji.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C12:0	0,03	-
C14:0	0,06 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>
C15:0	0,02	-
C16:0	8,12 <sup>a</sup>	7,55 <sup>b</sup>
C16:1( <i>cis</i> -9)	0,20 <sup>a</sup>	0,12 <sup>b</sup>
C17:0	0,07	-
C18:0	3,29 <sup>a</sup>	3,07 <sup>b</sup>
C18:1( <i>cis</i> -9)	13,50 <sup>a</sup>	13,47 <sup>a</sup>
C18:2( <i>all-cis</i> -9,12)	73,72 <sup>a</sup>	72,02 <sup>b</sup>
C20:0	-	3,38
C20:1( <i>cis</i> -11)	1,00	0,36

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Hlavní mastnou kyselinu v konopném oleji zastupovala kyselina linolová C18:2(*all-cis*-9,12), jejíž obsah činil po 10 měsících skladování 72,02 %. Podle publikovaných údajů je uveden její přirozený obsah v tomto oleji kolem 55 %. [71] Kyselina olejová C18:1(*cis*-9) byla další stanovenou FA v oleji a tvořila 13,47 % ze všech přítomných FAs. Dalšími zaznamenanými FAs po 10-ti měsíčním skladování byly kyselina palmitová C16:0 s obsahem 7,55 % a kyselina stearová C18:0 s obsahem 3,07 %. V porovnání s publikovanými hodnotami se kyselina palmitová C16:0, stearová C18:0 a olejová C18:1(*cis*-9) běžně vyskytují v konopném oleji v množství 2 – 16 % [71]. Po 10 měsících skladování byla v analyzovaném oleji zastoupena i kyselina arachová C20:0 s obsahem 3,38 %. Dalšími stanovenými FAs, jejichž obsah nedosahoval hodnot vyšších než 1 %, byly kyseliny myristová C14:0, palmitolejová C16:1(*cis*-9) a eikosenová C20:1(*cis*-11).

Ze statistického vyhodnocení vyplývá, že změny obsahu FAs mezi 6. a 10. měsícem skladování nebyly příliš výrazné. S výjimkou kyseliny olejové, byly u ostatních FAs zjištěny statisticky významné rozdíly provedené t – testem na hladině významnosti 5 %.

### **Kokosový olej**

Kokosový olej má přirozeně sladkou chuť a běžně obsahuje až 92 % SFAs s převažujícími kyselinami laurovou a myristovou. Díky svému složení je tento olej přirozeně sladký a lehce mazlavý. Co se týká použití oleje, je vhodný nejen na smažení, ale také na masáže a kosmetické účely. Pro své jedinečné vlastnosti je kokosový olej vyhledávanou alternativou běžně užívaných potravinových tuků. [16]

V Tab. 9 je uvedeno zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

*Tab. 9. Zastoupení mastných kyselin v kokosovém oleji.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C6:0	0,54 <sup>a</sup>	0,56 <sup>a</sup>
C8:0	7,29 <sup>a</sup>	7,45 <sup>b</sup>
C10:0	5,26 <sup>a</sup>	5,31 <sup>a</sup>
C12:0	47,04 <sup>a</sup>	47,99 <sup>b</sup>
C14:0	19,95 <sup>a</sup>	20,42 <sup>b</sup>
C16:0	8,37 <sup>a</sup>	8,30 <sup>a</sup>
C18:0	2,73 <sup>a</sup>	2,62 <sup>a</sup>
C18:1( <i>cis</i> -9)	6,97 <sup>a</sup>	5,83 <sup>b</sup>
C18:2( <i>all-cis</i> -9,12)	1,79 <sup>a</sup>	1,51 <sup>b</sup>
C20:1( <i>cis</i> -11)	0,07	-

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Z výsledků v Tab. 9 je patrné, že v kokosovém oleji značně převažovala kyselina laurová C12:0 s obsahem 47,99 % po 10 měsících skladování. Dle publikovaných údajů činí přirozený obsah této FA přibližně 45 % [65]. Další stanovenou FA byla kyselina myristová C14:0 v zastoupení 20,42 % ke konci skladování. Dle literárních zdrojů činí její běžný obsah přibližně 18 % [65]. Kyselina palmitová C16:0 tvořila 8,30 % z celkových FAs a kyselina kaprylová C8:0 zastupovala 7,45 %. Dle publikovaných údajů je obsah kyseliny palmitové C16:0 a kaprylové C8:0 v kokosovém oleji přibližně stejný [65]. Ve shodě s publikovanými údaji byla i kyselina kaprinová C10:0 s obsahem 5,31 % stanoveným ke konci skladovacího pokusu. O něco nižší hodnoty zastoupení byly stanoveny u kyseliny olejové C18:1(*cis*-9), linolové C18:2(*all-cis*-9, 12) a stearové C18:0, které společně tvořily téměř 10 % z celkových FAs. Jednotlivé obsahy těchto FAs jsou ve shodě s publikovanými údaji. [65]

U kokosového oleje byl na základě statistického vyhodnocení pomocí *t* – testu na hladině významnosti 5 %, zjištěn statisticky významný rozdíl u kyseliny kaprylové, laurové, myristové, olejové a linolové.

### **Mandlový olej BIO**

Mandlový olej patří díky vysokému obsahu esenciálních mastných kyselin, vitaminů A a E mezi nejcennější rostlinné oleje. Navíc je tento olej bohatým zdrojem draslíku a vápníku. Po sensorické stránce má mandlový olej lehce nažloutlou barvu a neutrální vůni. Pro své příznivé účinky se mandlový olej používá při léčbě kožních onemocnění. V potravinářství je mandlový olej vhodnou surovinou do studené kuchyně. [17]

Tab. 10 zobrazuje zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

*Tab. 10. Zastoupení mastných kyselin v mandlovém oleji.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C12:0	0,06	-
C14:0	0,05 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>
C16:0	6,86 <sup>a</sup>	6,76 <sup>b</sup>
C16:1( <i>cis</i> -9)	0,55 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>
C18:0	2,31 <sup>a</sup>	2,21 <sup>a</sup>
C18:1( <i>cis</i> -9)	67,86 <sup>a</sup>	67,98 <sup>a</sup>
C18:2( <i>all-cis</i> -9,12)	22,56 <sup>a</sup>	22,51 <sup>a</sup>

Z výsledků v Tab. 10 je zřejmé, že nejvíce zastoupenou FA byla kyselina olejová C18:1(*cis*-9) s obsahem 67,98 % v 10. měsíci skladování. Ve srovnání s publikovanými údaji tvoří běžně tato FA v mandlovém oleji až 76 % [67]. Obsah kyseliny linolové C18:2 (*all-cis*-9, 12) představoval po 10 měsících skladování 22,51 %. Dle literárních zdrojů je obsah této FA ve shodě s publikovanými údaji [67]. V mandlovém oleji dále byla zaznamenána kyselina palmitová C16:0 v zastoupení 6,76 % ke konci skladovacího pokusu. Podle publikovaných údajů je tato FA v mandlovém oleji v přibližně stejném zastoupení [67]. Obsah kyseliny stearové C18:0 dosahoval v průběhu skladování hodnot 2,21 %, přitom podobnou hodnotu lze nalézt i v literárním zdroji [67]. Dalšími FAs, jejichž obsah nepřevyšoval hodnotu 1 %, byly kyseliny laurová C14:0 a palmitolejová C16:1(*cis*-9).

Ze statistického vyhodnocení vyplývá, že změny obsahu FAs v mandlovém oleji nebyly velkého rozsahu. Statisticky významný rozdíl zjištěný pomocí *t* – testu na hladině významnosti 5 % byl určen pouze u kyseliny palmitové a myristové.

### **Olej z ostropestřece mariánského**

Olej z ostropestřece mariánského je bohatým zdrojem polynenasycených mastných kyselin a vitamínu E. Díky aktivní látce sylimarinu je olej používán k léčbě jater a žlučníku. Po sensorické stránce má světle hnědou barvu a jemně hořkou chuť. Z hlediska použití je tento olej možné použít jen do tepelně neupravených pokrmů. [12]

V Tab. 11 je zobrazeno zastoupení mastných kyselin v ostropestřecovém oleji.

*Tab. 11. Zastoupení mastných kyselin v oleji z ostropestřece mariánského.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C14:0	0,09 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>
C16:0	8,46 <sup>a</sup>	8,03 <sup>b</sup>
C16:1( <i>cis</i> -9)	0,06 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>
C18:0	4,75 <sup>a</sup>	4,51 <sup>b</sup>
C18:1( <i>cis</i> -9)	20,88 <sup>a</sup>	20,85 <sup>a</sup>
C18:2( <i>all-cis</i> -9,12)	65,10 <sup>a</sup>	65,65 <sup>a</sup>
C20:1( <i>cis</i> -11)	0,92 <sup>a</sup>	0,84 <sup>a</sup>

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

V analyzovaném oleji převažovala kyselina linolová C18:2(*all-cis*-9, 12), jejíž obsah představoval v 10. měsíci skladování 65,65 %. Dle publikovaných údajů tvoří kyselina linolová v ostropestřecovém oleji přibližně 53 % [12]. S obsahem 20,85 % byla stanovena kyselina olejová

C18:1(*cis*-9). Tato hodnota je ve shodě s publikovanými údaji. [12] Kyselina palmitová C16:0 zastupovala z celkových FAs 8,03 % v 10. měsíci skladovacího pokusu, přitom podobnou hodnotu lze nalézt i v literárním zdroji [12]. Kyselina stearová C18:0 tvořila na konci skladování 4,51 % z celkových FAs. Dále byly stanoveny FAs s obsahem, který nepřevyšoval hodnotu 1 %, a to kyseliny myristová C14:0, palmitolejová C16:1(*cis*-9) a eikosenová C20:1(*cis*-11).

V oleji z ostropestřece mariánského byla zjištěna změna obsahu některých FAs na základě statistického vyhodnocení pomocí *t* – testu na hladině významnosti 5 %. Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán u kyseliny myristové, palmitové a stearové.

### **Podzemnicový olej VITA**

V podzemnicovém oleji lze nalézt vysoký obsah nenasycených mastných kyselin s převažujícím zastoupením linolové a olejové kyseliny, vitamínu E a stravitelných bílkovin. Z hlediska použití je podzemnicový olej vhodný jak do studené kuchyně, tak ke smažení. Podzemnicový olej nalezl uplatnění při výrobě arašídového másla a jiných pokrmových tuků. [9]

V Tab. 12 je uvedeno zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

*Tab. 12. Zastoupení mastných kyselin v oleji z podzemnice olejné.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C14:0	0,02 <sup>a</sup>	0,02 <sup>a</sup>
C16:0	7,26 <sup>a</sup>	7,16 <sup>a</sup>
C18:0	1,96 <sup>a</sup>	1,95 <sup>a</sup>
C18:1( <i>cis</i> -9)	71,32 <sup>a</sup>	70,35 <sup>b</sup>
C18:2( <i>all-cis</i> -9,12)	17,55 <sup>a</sup>	17,89 <sup>b</sup>
C20:1( <i>cis</i> -11)	1,89 <sup>a</sup>	2,36 <sup>b</sup>
C22:1( <i>cis</i> -13)	-	0,27

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Převažující FA stanovenou v tomto oleji po 10 měsících skladování byla kyselina olejová C18:1(*cis*-9), která zastupovala 70,35 % z celkových FAs. Podle publikovaných údajů je kyselina olejová také hlavní FA podzemnicového oleje, kde běžně tvoří kolem 41 % [66]. Obsah kyseliny linolové C18:2(*all-cis*-9, 12) dosahoval po 10-ti měsíčním skladování hodnoty 17,89 %. Ve srovnání s publikovanými údaji tvoří tato FA v oleji až 35 %. [66] Ke konci skladování byly přítomny v oleji FAs s obsahem nepřevyšujícím 10 %, a to kyselina palmitová C16:0 a kyselina eikosenová C20:1(*cis*-11). Dle literárního zdroje jsou tyto hodnoty ve shodě s publikovanými údaji. [66] Stan-



venými FAs, jejichž obsah nepřevyšoval hodnotu 1 %, byly kyseliny myristová C14:0, stearová C18:0 a eruková C22:1(cis-13).

U podzemnicového oleje byla ze statistického vyhodnocení zjištěna změna u některých obsahů FAs během skladovacího pokusu. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u kyseliny olejové, linolové a eikosenové na hladině významnosti 5 %.

### **Olej z pšeničných klíčků**

Olej z pšeničných klíčků je bohatým zdrojem nenasycených mastných kyselin – zejména kyseliny  $\alpha$ -linolenové a olejové a také vitaminů A, D, E a K. Vitamin E, který slouží jako přírodní antioxidant, chrání olej před oxidací a navíc činí tento olej intenzivně oranžovým. Olej se často využívá k léčbě suché kůže, akné, lupénky a také zabraňuje padání vlasů. Co se týká použití, není olej vhodný ke smažení. [15]

Tab. 13 zobrazuje zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

*Tab. 13. Zastoupení mastných kyselin v oleji z pšeničných klíčků.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C12:0	0,02	-
C14:0	0,10 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>
C15:0	0,04	-
C16:0	18,99 <sup>a</sup>	19,37 <sup>a</sup>
C16:1(cis-9)	0,18 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>
C18:0	0,71 <sup>a</sup>	0,71 <sup>a</sup>
C18:1(cis-9)	13,69 <sup>a</sup>	13,35 <sup>a</sup>
C18:2(all-cis-9,12)	66,19 <sup>a</sup>	66,38 <sup>a</sup>
C24:0	0,10	-

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

V analyzovaném oleji byla stanovena jako hlavní FA kyselina linolová C18:2(*all-cis-9, 12*), jejíž obsah činil po 10 měsících skladování 66,38 %. Ve srovnání s publikovanými údaji tvoří v tomto oleji kyselina linolová běžně 55 % [15]. Vyšší obsah byl zaznamenán i u kyseliny palmitové C16:0, která v tomto oleji zastupovala 19,37 % ke konci skladování. Dle literárního zdroje je tato FA ve shodě s publikovanými údaji. [15] Kyselina olejová C18:1(*cis-9*) dle publikovaných údajů představuje v tomto oleji až 16 % z celkových FAs. [15] V průběhu skladování byl zaznamenán obsah této FA kolem 13 %. Dále byly stanoveny FAs, jejichž obsah nepřevyšoval hodnotu 1 %, a to kyseliny stearová C18:0 a palmitolejová C16:1(*cis-9*).

Na základě statistického vyhodnocení provedeného t – testem byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi 6. a 10. měsícem skladování u kyseliny myristové a palmitolejové. U ostatních FAs nebyly zjištěny statistické rozdíly určené tímto testem na hladině významnosti 5 %.

### Řepkový olej VITA

Řepkový olej je běžně známý jako rafinovaný. V posledních letech se však častěji používá šetrnější způsob výroby, a to lisování za studena. Řepkový olej lisovaný za studena běžně obsahuje vysoký podíl olejové, linolové a  $\alpha$ -linolenové kyseliny. Podle odborníků je tento olej svými vlastnostmi podobný olivovému oleji. Nezanedbatelný je také vysoký obsah vitaminů E, A a K. V kuchyni je vhodný k použití do zeleninových salátů, studených omáček nebo k nakládání zeleniny. Řepkový olej má světle žlutou barvu a neutrální vůni. [9]

V Tab. 14 je znázorněno zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

Tab. 14. Zastoupení mastných kyselin v řepkovém oleji.

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C12:0	0,01	-
C14:0	0,06 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>
C16:0	5,26 <sup>a</sup>	5,11 <sup>b</sup>
C16:1(cis-9)	0,23 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>
C18:0	1,90 <sup>a</sup>	1,79 <sup>b</sup>
C18:1(trans-9)	0,13 <sup>a</sup>	0,12 <sup>a</sup>
C18:1(cis-9)	70,03 <sup>a</sup>	69,57 <sup>b</sup>
C18:2(all-cis-9,12)	22,35 <sup>a</sup>	21,94 <sup>b</sup>
C20:1(cis-11)	4,00 <sup>a</sup>	1,19 <sup>b</sup>

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Z Tab. 14 vyplývá, že převažující FA v řepkovém oleji byla kyselina olejová C18:1(cis-9), jejíž obsah činil po 10 měsících skladování 69,57 %. Podle publikovaných údajů tvoří přirozeně tato FA v řepkovém oleji přibližně 54 %. [64] Po 10-ti měsíčním skladování se kyselina linolová C18:2(cis-9, 12) vyskytovala v řepkovém oleji v množství 21,94 %, což je hodnota, která je ve shodě s publikovanými údaji. [64] Kyselina palmitová C16:0 a kyselina stearová C18:0 byly na konci skladování stanoveny s obsahem 5,11 % a 1,79 %. Přirozený obsah těchto dvou FAs je v řepkovém oleji dle literárního zdroje shodný. [64] Dále byly zaznamenány FAs s obsahem nepřevyšujícím hodnotu 1 %, a to kyseliny laurová C12:0, palmitolejová C16:1(cis-9), eikosenová C20:1(cis-11) a elaidová C18:1(trans-9), která je izomerem kyseliny olejové.

V řepkovém oleji byla ze statistického vyhodnocení zjištěna změna obsahu některých FAs během skladovacího pokusu. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u kyseliny palmitové, stearové, olejové, linolové a eikosenové. U ostatních FAs nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly pomocí t – testu na hladině významnosti 5 %.

### **Rýžový olej Basso**

Rýžový olej obsahuje až 20 % SFAs a vyrovnaný poměr MUFAs a PUFAs. Palmitová, olejová a linolová kyselina tvoří společně až 96 % všech přítomných FAs. Olej je bohatým zdrojem přírodních antioxidantů –  $\gamma$ -oryzanolu a tokoferolů, které ho činí stabilním vůči oxidaci. V oleji se nachází i triterpen skvalen, který představuje meziprodukt cholesterolu a zpomaluje tvorbu vrásek. Co se týká použití, je rýžový olej vhodný nejen na smažení, ale i k přípravě salátových dresinků. [9]

V Tab. 15 je uvedeno zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

*Tab. 15. Zastoupení mastných kyselin v rýžovém oleji.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C14:0	0,38 <sup>a</sup>	0,38 <sup>a</sup>
C16:0	20,52 <sup>a</sup>	20,35 <sup>b</sup>
C16:1(cis-9)	0,21 <sup>a</sup>	0,17 <sup>a</sup>
C18:0	2,09 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>
C18:1(cis-9)	43,35 <sup>a</sup>	43,14 <sup>a</sup>
C18:2(all-cis-9,12)	33,44 <sup>a</sup>	33,52 <sup>a</sup>
C20:1(cis-11)	-	0,43

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Jako převažující FA byla po 10 měsících skladování stanovena kyselina olejová C18:1(cis-9) v množství 43,14 %. Dle literárního zdroje je obsah této FA shodný s publikovanými údaji. [65] Kyselina linolová C18:2(all-cis-9, 12) byla další stanovenou FA, jejíž obsah činil na konci skladování 33,52 %, což odpovídá hodnotě v literárním zdroji. [65] Kyselina palmitová C16:0, která tvoří běžně 15 % z celkových FAs, byla po 10 měsících skladování stanovena v množství 20,35 %. [65] Obsah kyseliny stearové C18:0 činil v tomto skladovacím období 2,02 %, přitom dle publikovaných údajů se tato FA přirozeně vyskytuje v rýžovém oleji v množství 2 – 3 %. [65] FAs, jejichž obsah nepřevýšil ke konci skladování hodnotu 1 %, byly kyseliny eikosenová C20:1(cis-11), palmitolejová C16:1(cis-9) a myristová C14:0.

Ze statistického vyhodnocení vyplývá, že změny obsahu FAs nebyly velkého rozsahu. Na základě statistického zhodnocení pomocí t – testu na hladině významnosti 5 % byl zjištěn statisticky významný rozdíl jen u kyseliny palmitové. U ostatních FAs nebyly rozdíly obsahů mezi 6. a 10. měsícem skladování z hlediska statistického vyhodnocení významné.

### **Olej sezamový BIO**

Sezamový olej obsahuje nenasycené mastné kyseliny a přírodní antioxidant sezamol, který chrání olej před oxidací. Navíc lecitin přítomný v tomto oleji povzbuzuje paměť a snižuje depresivní stavy. Co se týká použití, je možné olej použít jako surovinu do tepelně neupravených pokrmů, ale i na smažení, jelikož snáší teploty až kolem 180 °C. Sezamový olej není vhodný pro osoby alergické na sezam. [9]

V Tab. 16 je uvedeno zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

*Tab. 16. Zastoupení mastných kyselin v sezamovém oleji.*

<b>FAs</b>	<b>po 6 měsících</b>	<b>po 10 měsících</b>
C14:0	-	0,02
C16:0	9,43 <sup>a</sup>	9,43 <sup>a</sup>
C16:1(cis-9)	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>
C18:0	6,30 <sup>a</sup>	6,22 <sup>b</sup>
C18:1(trans-9)	0,04 <sup>a</sup>	0,03 <sup>b</sup>
C18:1(cis-9)	42,12 <sup>a</sup>	42,19 <sup>a</sup>
C18:2(all-cis-9,12)	42,00 <sup>a</sup>	41,88 <sup>a</sup>
C20:1(cis-11)	-	0,13

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Z Tab. 16 je zřejmé, že převažující FA v sezamovém oleji byla kyselina olejová C18:1(cis-9) v množství 42,19 % po 10 měsících skladování. Ve srovnání s publikovanými údaji představuje přirozený obsah této FA přibližně 39 %. [64] V sezamovém oleji byla v tomto období dále stanovena linolová C18:2(cis-9, 12) s obsahem 41,88 %, což odpovídá publikovaným údajům. [64] Kyselina palmitová C16:0 tvořila 9,43 % a kyselina stearová 6,22 %. Obě hodnoty jsou ve shodě s publikovanými údaji. [64] Dále byly stanoveny FAs, jejichž obsah nepřesahoval hodnotu 1 %, a to kyseliny myristová C14:0, palmitolejová C16:1(cis-9), eikosenová C20:1(cis-11) a elaidová C18:1(trans-9).

Dle statistického vyhodnocení pomocí t – testu byl zjištěn statisticky významný rozdíl u kyseliny stearové a elaidové. U ostatních obsahů FAs nebyly během skladovacího pokusu zjištěny rozdíly statisticky významné při vyhodnocení t – testem na hladině významnosti 5 %.

**Slunečnicový olej VITA**

Slunečnicový olej, běžně používaný jako rafinovaný, je v posledních letech získáván šetrnějším způsobem, tedy lisováním za studena. Tento způsob výroby dodává slunečnicovému oleji typickou oříškovou vůni a chuť. Zastoupení mastných kyselin v oleji se liší v závislosti na dané odrůdě. Slunečnicový olej lisovaný za studena je vhodný i k masážím, jelikož pomáhá zvláčňovat pokožku. Díky vyššímu obsahu nenasycených mastných kyselin není tento olej vhodný ke smažení. [9]

V Tab. 17 je uvedeno zastoupení mastných kyselin ve slunečnicovém oleji.

*Tab. 17. Zastoupení mastných kyselin ve slunečnicovém oleji.*

<b>FAs</b>	<b>po 6 měsících</b>	<b>po 10 měsících</b>
C14:0	0,07 <sup>a</sup>	0,08 <sup>b</sup>
C16:0	6,36 <sup>a</sup>	6,32 <sup>a</sup>
C16:1(cis-9)	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>
C18:0	2,83 <sup>a</sup>	2,90 <sup>a</sup>
C18:1(trans-9)	-	0,03
C18:1(cis-9)	27,97 <sup>a</sup>	28,20 <sup>a</sup>
C18:2(all-cis-9,12)	62,66 <sup>a</sup>	63,21 <sup>a</sup>
C20:1(cis-11)	-	0,19

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Z Tab. 17 vyplývá, že po 10 měsících skladování převažovala ve slunečnicovém oleji kyselina linolová C18:2(cis-9, 12) s obsahem 63,21 %. Ve srovnání s publikovanými údaji je přirozený výskyt této FA ve slunečnicovém oleji kolem 60 %. [64] Další stanovenou FA byla kyselina olejová C18:1(cis-9) s obsahem 28,20 %, což odpovídá publikovaným údajům. [64] Kyselina palmitová C16:0 tvořila po 10-ti měsíčním skladování 6,32 % z celkových FAs. O něco menší obsah měla kyselina stearová C18:0 – 2,9 %. Dalšími FAs stanovenými po 10 měsících skladování byly kyseliny myristová C14:0, palmitolejová C16:1(cis-9) a elaidová C18:1(trans-9), jejichž obsah nepřevyšoval hodnotu 1 %.

Ve slunečnicovém oleji byla dle statistického vyhodnocení zjištěna statisticky významná změna mezi 6. a 10. měsícem skladování jen u kyseliny myristové. U ostatních obsahů FAs nebyly na hladině významnosti 5 % zjištěny statisticky významné rozdíly.

**Olej ze světlice barviřské BIO**

Olej ze světlice barviřské vyniká vysokým obsahem nenasycených mastných kyselin. Z hlediska použití je olej vhodnou surovinou do pomazánek a zeleninových salátů. Ze zdravotního hlediska má pravidelná konzumace oleje příznivé účinky při odbourávání přebytečného cholesterolu. [14]

V Tab. 18 je uvedeno zastoupení mastných kyselin v analyzovaném oleji.

*Tab. 18. Zastoupení mastných kyselin v oleji ze světlice barviřské.*

FAs	Obsah FAs (%)	
	po 6 měsících	po 10 měsících
C14:0	0,19 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>
C16:0	6,57 <sup>a</sup>	6,51 <sup>a</sup>
C16:1(cis-9)	0,07 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>
C18:0	2,34 <sup>a</sup>	2,28 <sup>b</sup>
C18:1(cis-9)	11,28 <sup>a</sup>	11,27 <sup>a</sup>
C18:2(all-cis-9,12)	79,33 <sup>a</sup>	79,61 <sup>b</sup>
C20:1(cis-11)	-	0,14

a, b – hodnoty s různým indexem v řádku jsou statisticky významné ( $p > 0,05$ )

Z Tab. 18 je zřejmé, že značně nejvyšší obsah ve v oleji ze světlice barviřské měla kyselina linolová C18:2(cis-9, 12), který po 10 měsících skladování dosahoval hodnoty 79,61 %. Dle publikovaných údajů je obsah této FA shodný. [72] Kyselina olejová C18:1(cis-9) tvořila 11,27 % z celkových FAs, dle publikovaných údajů zastupuje kyselina olejová v tomto oleji až 16 % z celkových FAs. [72] Po 10-ti měsíčním skladování byly zaznamenány SFAs kyselina palmitová C16:0 s obsahem 6,51 % a kyselina stearová C18:0 byla s obsahem 2,28 %. FAs, jejichž obsah nepřevyšoval hodnotu 1 %, byly kyseliny myristová C14:0, eikosenová C20:1(cis-11) a palmitolejová C16:1(cis-9).

V oleji ze světlice barviřské byla ze statistického vyhodnocení zjištěna změna obsahu u některých FAs během skladovacího pokusu. Statisticky významný rozdíl na hladině významnosti 5 % byl zjištěn u kyseliny stearové a linolové. U ostatních obsahů FAs nebyly statisticky významné změny zjištěny.

## **7.2 Změny v zastoupení mastných kyselin během skladování**

Během skladovacího pokusu, který trval 10 měsíců, bylo zjištěno, že ve skladbě FAs vybraných olejů skladovaných za běžných podmínek nedošlo k výrazným změnám. V Tab. 19 jsou znázorněny kvantitativní změny SFAs, MUFAs, PUFAs, TFAs – trans-nenasycených FAs, které byly zachyceny na počátku a na konci skladování vzorků olejů, přičemž počáteční hodnoty v prvním měsíci

skladování byly použity z diplomové práce Ing. Lucie Slováčkové, která se zabývala analýzou olejů během prvních dvou měsíců skladování [71].

Z Tab. 19 je patrné, že po 10-ti měsíčním skladování nenastaly až na výjimky výrazné změny v obsahu nasycených, tak nenasyčených mastných kyselin u vybraných vzorků olejů. Větší změny proběhly u konopného oleje a oleje z pšeničných klíčků, u nichž došlo k poklesu obsahu MUFAs a ke zvýšení obsahu SFAs a PUFAs.

U všech rostlinných olejů byla kyselina linolová C18:2(*all-cis*-9, 12) jedinou přítomnou FA ze skupiny PUFAs. Téměř všechny rostlinné oleje obsahovaly na počátku skladování esenciální (n-3) PUFAs, kde hlavní FA byla kyselina  $\alpha$ -linolenová C18:3(*all-cis*-9, 12, 15). Po 10-ti měsíčním skladování však nebyly (n-3) PUFAs u žádného rostlinného oleje zaznamenány.

Převažujícími FAs byly kyseliny linolová C18:2(*all-cis*-9, 12), a to u oleje z dýňových semen, oleje z hroznových jader, konopného oleje, oleje z ostropestřece mariánského, oleje z pšeničných klíčků, slunečnicového oleje a oleje ze světlice barvířské. Naopak kyselina olejová C18:1(*cis*-9) byla hlavní FA u mandlového, podzemnicového, sezamového, rýžového a slunečnicového oleje. Kyselina laurová C12:0 byla dominantní FA v kokosovém oleji.

Co se týká obsahu trans-FAs, byly tyto FAs zaznamenány až po 10 měsících skladování, a to u řepkového, sezamového a slunečnicového oleje. V řepkovém oleji byly trans-FAs zachyceny již na počátku skladování.

Tab. 19. Kvantitativní změny FAs v závislosti na době skladování.

Druh oleje	Měření	SFA	MUFA	PUFA	TFA	n-3	n-6	převažující FA
<i>olej z dýňových semen</i>	1. měsíc	19,60	26,11	54,29	-	0,12	54,17	linolová
	10. měsíc	19,03	24,91	56,06	-	-	56,06	linolová
<i>olej z hroznových jader</i>	1. měsíc	10,39	14,75	74,86	-	0,15	74,71	linolová
	10. měsíc	9,99	14,12	75,89	-	-	75,89	linolová
<i>konopný olej</i>	1. měsíc	12,53	28,07	59,40	-	0,12	59,28	linolová
	10. měsíc	14,03	13,95	72,02	-	-	72,02	linolová
<i>kokosový olej</i>	1. měsíc	92,14	6,24	1,62	-	-	1,62	laurová
	10. měsíc	92,65	5,83	1,52	-	-	1,52	laurová
<i>mandlový olej</i>	1. měsíc	9,30	67,90	22,80	-	-	22,80	olejová
	10. měsíc	9,00	68,49	22,51	-	-	22,51	olejová
<i>olej z ostropestřece</i>	1. měsíc	15,11	20,68	64,21	-	0,88	63,33	linolová
	10. měsíc	12,62	21,73	65,65	-	-	65,65	linolová
<i>podzemnicový olej</i>	1. měsíc	10,62	71,16	18,22	-	-	18,22	olejová
	10. měsíc	9,40	72,71	17,89	-	-	17,89	olejová
<i>olej z pš. klíčků</i>	1. měsíc	18,17	20,85	60,98	-	1,24	59,74	linolová
	10. měsíc	20,17	13,45	66,38	-	-	66,38	linolová
<i>řepkový olej</i>	1. měsíc	6,56	72,56	20,88	0,12	1,24	19,64	olejová
	10. měsíc	6,95	71,11	21,94	0,12	-	21,94	olejová
<i>rýžový olej</i>	1. měsíc	22,46	43,98	33,56	-	0,45	33,11	olejová
	10. měsíc	22,74	43,74	33,52	-	-	33,52	olejová
<i>sezamový olej</i>	1. měsíc	16,87	41,97	41,15	-	0,21	40,94	olejová
	10. měsíc	15,67	42,45	41,88	0,03	-	41,88	olejová
<i>slunečnicový olej</i>	1. měsíc	9,20	28,30	62,40	-	0,16	62,24	linolová
	10. měsíc	8,27	28,52	63,21	0,03	-	63,21	linolová
<i>světlicový olej</i>	1. měsíc	9,29	11,58	79,13	-	0,13	79,00	linolová
	10. měsíc	8,91	11,48	79,61	-	-	79,61	linolová

Výsledky 1. měření byly použity z diplomové práce Ing. Lucie Slováčkové. [71]

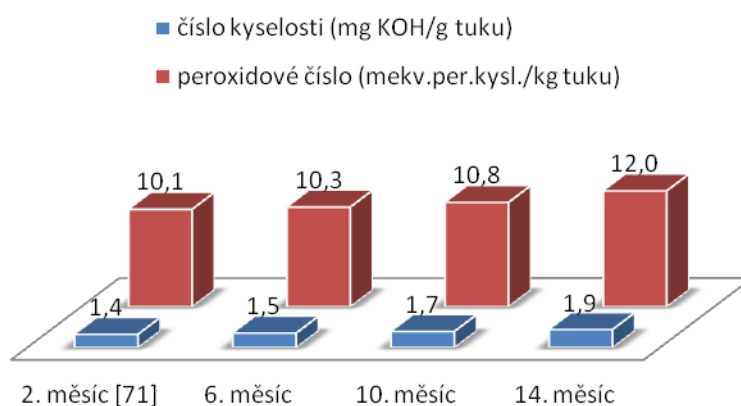
### 7.3 Změny tukových čísel během skladování

Peroxidové číslo a číslo kyselosti patří mezi běžné ukazatele určující kvalitu tuků. Peroxidové číslo značí stupeň oxidačního zluknutí – obsah peroxidů, zatímco číslo kyselosti udává stupeň hydrolytického štěpení – obsah volných mastných kyselin. S těmito rostoucími čísly klesá kvalita olejů. Vyhláška č. 328/1997 Sb. [70] stanovuje hodnoty těchto čísel obecně pro všechny rostlinné tuky a oleje a jejich směsi. Tyto hodnoty jsou uvedeny v Příloze V. Pro kontrolu správnosti bylo každé



měření provedeno celkem třikrát a konečným výsledkem byl průměr naměřených hodnot. Pro zachycení oxidačních změn během skladování bylo zvoleno časové rozvržení po 4 měsících. Jako výchozí hodnoty měření byla použita data z diplomové práce Ing. Lucie Slováčkové [71], která se zabývala analýzou stejných vzorků olejů v prvních dvou měsících skladování. Vlastní stanovení peroxidových čísel a čísel kyselosti probíhalo v rozmezí 6 až 14 měsíců skladování. Hodnoty čísel kyselosti a peroxidových čísel analyzovaných olejů jsou graficky znázorněny na Obr. 27 – 39.

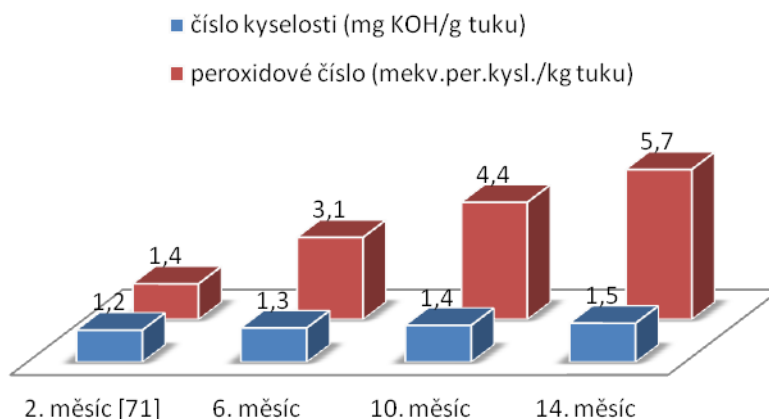
### Olej z dýňových semen BIO



Obr. 26. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti oleje z dýňových semen.

Olej z dýňových semen je výrobcem uváděn jako rostlinný olej lisovaný za studena s minimální dobou trvanlivosti 10 měsíců. Dle Vyhl. č. 328/1997 Sb. činí hodnota čísla kyselosti pro rostlinné oleje lisované za studena max. 4,0 mg KOH/g oleje [70]. Po 14 měsících skladování dosahovala hodnota čísla kyselosti 1,9 mg KOH/g oleje, čímž nedošlo k překročení maximální přípustné hodnoty stanovené vyhláškou. Od 6. měsíce skladování se hodnota postupně zvyšovala každé 4 měsíce o 0,2 mg KOH/g oleje.

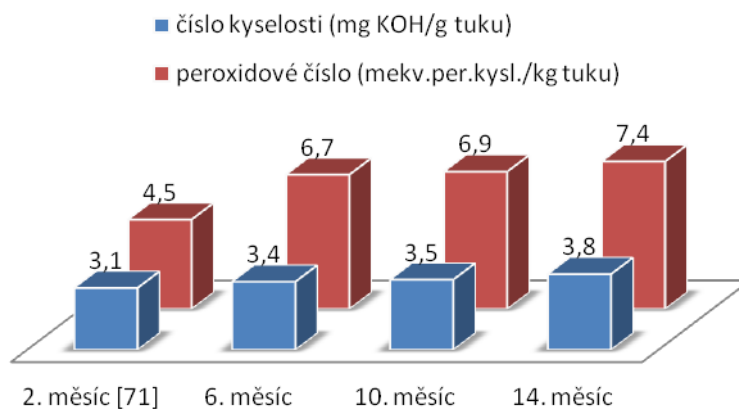
Vyhl. č. 328/1997 Sb. dále stanovuje hodnotu peroxidového čísla pro oleje deklarované jako lisované za studena, která činí max. 15,0 mekv. per. kysl./kg [70]. Hodnota peroxidového čísla byla vysoká již po dvou měsících skladování. Po 14 měsících skladování činila hodnota peroxidového čísla 12,0 mekv. per. kysl./kg a celkové navýšení představovalo 18,8 %. K nejvyšší změně došlo mezi 10. a 14. měsícem skladování. U oleje z dýňových semen nedošlo k překročení maximální přípustné hodnoty dané legislativou.

**Olej z hroznových jader VITA**

Obr. 27. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti oleje z hroznových jader.

Olej z hroznových jader je výrobcem deklarován jako rostlinný olej lisovaný za studena s minimální dobou trvanlivosti 18 měsíců. V průběhu 2 – 14 měsíců skladování tohoto oleje došlo k navýšení hodnoty čísla kyselosti z 1,2 mg KOH/g na 1,5 mg KOH/g oleje, což představovalo každé 4 měsíce navýšení o 0,1 mg KOH/g oleje. U tohoto oleje nedošlo k překročení maximální přípustné hodnoty čísla kyselosti pro oleje lisované za studena stanovenou legislativou.

Hodnota peroxidového čísla byla po dvou měsících skladování velmi nízká a činila 1,4 mekv. per. kysl./kg. Ke konci 14. měsíce skladování se zvýšila hodnota parametru na 5,7 mekv. per. kysl./kg, což značí celkové navýšení o 307 %. K největší změně došlo mezi 2. a 6. měsícem skladování. U oleje z hroznových jader nedošlo k překročení max. přípustné hodnoty peroxidového čísla pro oleje lisované za studena danou Vyhl. 328/1997 Sb., která je max. 15,0 mekv. per. kysl./kg. [70]

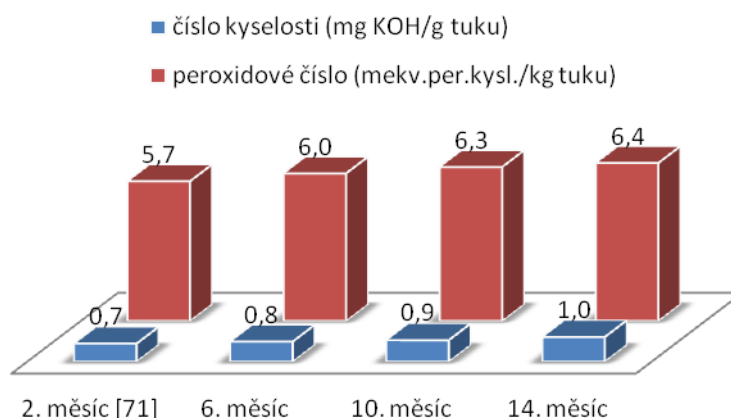
**Panenský konopný olej**

Obr. 28. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti konopného oleje.

Panenský konopný olej je výrobcem uváděn jako jednodruhový olej lisovaný za studena s minimální dobou trvanlivosti 12 měsíců. Již po dvou měsících skladování byla hodnota čísla kyselosti tohoto oleje o něco vyšší než u většiny olejů a činila 3,1 mg KOH/g. K výraznějšímu navýšení hodnoty parametru došlo mezi 2. a 6. měsícem skladování. Ke konci skladování činila hodnota čísla kyselosti 3,8 mg KOH/g oleje a nepřekročila tím max. přípustnou hodnotu čísla kyselosti pro lisované oleje za studena tj. 4,0 mg KOH/g stanovenou vyhláškou Ministerstva zemědělství. [70]

Větší změna hodnoty peroxidového čísla u konopného oleje nastala v průběhu 2 – 6 měsíců skladování, podobně jako u čísla kyselosti. Po 14 měsících skladování činila hodnota peroxidového čísla 7,4 mekv.per.kysl./kg, což představovalo od dvou měsíců skladování celkové navýšení o 64,4 %. Konečná hodnota peroxidového čísla konopného oleje nepřekročila max. přípustnou hodnotu danou legislativou, která činí 15,0 mekv.per.kysl./kg pro oleje deklarované jako lisované za studena. [70]

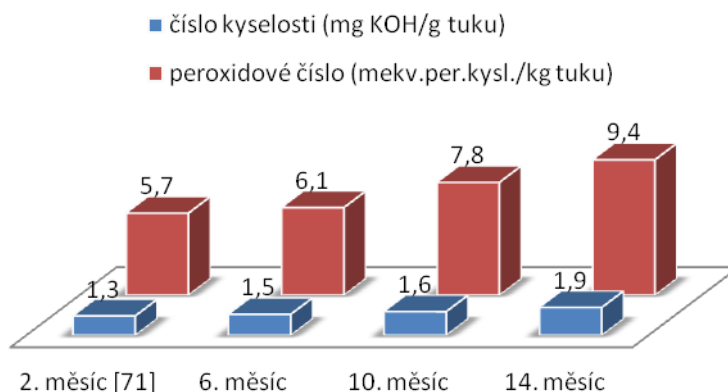
### Kokosový olej



Obr. 29. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti v kokosovém oleji.

Kokosový olej je oproti běžným rostlinným olejům typický vysokým obsahem nasycených mastných kyselin, které ho činí stabilním vůči oxidaci. Číslo kyselosti u kokosového oleje dosahovalo v celém průběhu skladování velmi nízkých hodnot tj. 0,7 – 1,0 mg KOH/g, přičemž k nejvýraznější změně parametru došlo až ke konci skladování, tedy mezi 10. a 14. měsícem. Výrobce na obalu neuvedl dobu trvanlivosti ani způsob výroby kokosového oleje.

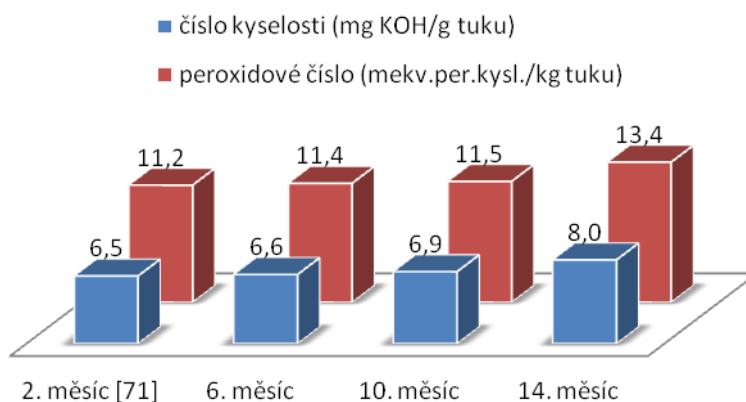
Z Obr. 30 lze dále vyčíst změny hodnot peroxidových čísel u kokosového oleje v závislosti na době skladování. Hodnota tohoto parametru činila po dvou měsících skladování 5,7 mekv. per. kysl./kg a na konci skladování, tedy po 14 měsících, došlo k navýšení této hodnoty na 6,4 mekv. per. kysl./kg. Celkové navýšení během 2 – 14 měsíců skladování činilo 12,3 %. K výraznější změně peroxidového čísla nedošlo za celou dobu skladování tohoto oleje.

**Olej mandlový BIO**

*Obr. 30. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti v mandlovém oleji.*

Mandlový olej BIO uvádí výrobce jako rostlinný jednodruhový olej, který byl získán z prvního lisování za studena. Dále uvádí výrobce trvanlivost tohoto oleje 10 měsíců. Hodnota čísla kyselosti u mandlového oleje byla po dvou měsících skladování 1,3 mg KOH/g a po více než ročním skladování se tato hodnota navýšila na 1,9 mg KOH/g. K nejzřetelnější změně parametru došlo mezi 10. a 14. měsícem skladování. Konečná hodnota čísla kyselosti nepřekročila max. přípustnou hodnotu danou legislativou, která činí max. 4,0 mg KOH/g pro oleje deklarované jako lisované za studena. [70]

Vyšší hodnota peroxidového čísla byla patrná až ke konci skladování a činila 9,4 mekv. per. kysl./kg oleje. Celkové navýšení od 2. do 14. měsíce skladování představovalo 64,9 %. Největší změna peroxidového čísla byla zaznamenána mezi 6. a 10. měsícem skladování. Po 14 měsících skladování nedošlo u mandlového oleje k překročení max. přípustné hodnoty danou legislativou.

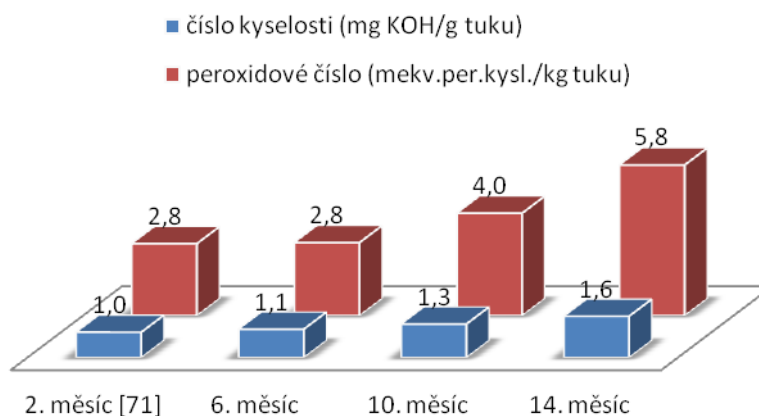
**Panenský olej z ostropestřece mariánského**

*Obr. 31. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti ostropestřecového oleje.*

Ostropestřecový olej je výrobcem deklarován jako rostlinný olej lisovaný za studena s vysokým obsahem vitamínu E. Na obalu je minimální doba trvanlivosti oleje 12 měsíců. Již po dvou měsících skladování byla hodnota čísla kyselosti vysoká a činila 6,5 mg KOH/g. K nejvýraznější změně došlo mezi 10. a 14. měsícem skladování, přičemž konečná hodnota čísla kyselosti dosáhla 8,0 mg KOH/g oleje. Dle Vyhl. 328/1997 Sb. je max. přípustná hodnota čísla kyselosti pro oleje lisované za studena 4,0 mg KOH/g [70], čímž došlo ke konci skladování k dvojnásobnému překročení této maximální hodnoty u analyzovaného oleje.

Peroxidová čísla dosahovala v průběhu skladování také vysokých hodnot, přičemž konečná hodnota peroxidového čísla značila 13,4 mekv. per. kysl./kg. Nejzřetelnější změna parametru nastala mezi 10. a 14. měsícem skladování. Max. přípustná hodnota parametru představuje pro oleje lisované za studena 15,0 mekv. per. kysl./kg. [70] Po 14. měsících skladování nedošlo u ostropestřecového oleje k překročení této hodnoty. Celkové navýšení od 2 do 14 měsíců skladování značilo 19,6 %.

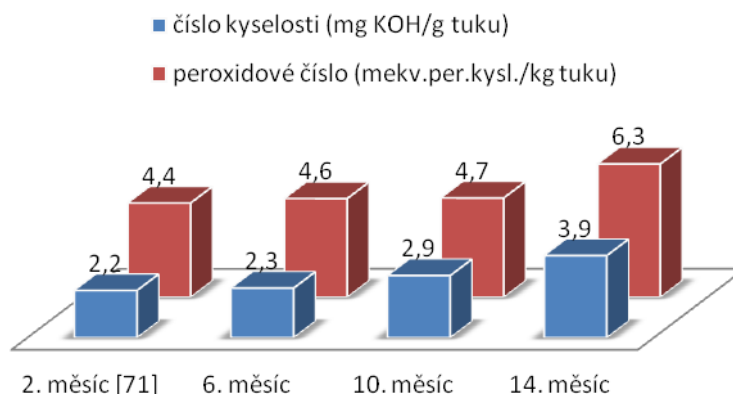
### Podzemnicový olej VITA



Obr. 32. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti v podzemnicovém oleji.

Výrobce na obalu uvádí minimální trvanlivost tohoto oleje 15 měsíců. Výrobce však neuvedl informaci o způsobu výroby tohoto oleje. Hodnoty čísla kyselosti byly v průběhu 14 měsíců skladování poměrně nízké. Nejvyšší změna hodnoty čísla kyselosti, tedy z 1,3 na 1,6 mg KOH/g, nastala mezi 10. a 14. měsícem skladování.

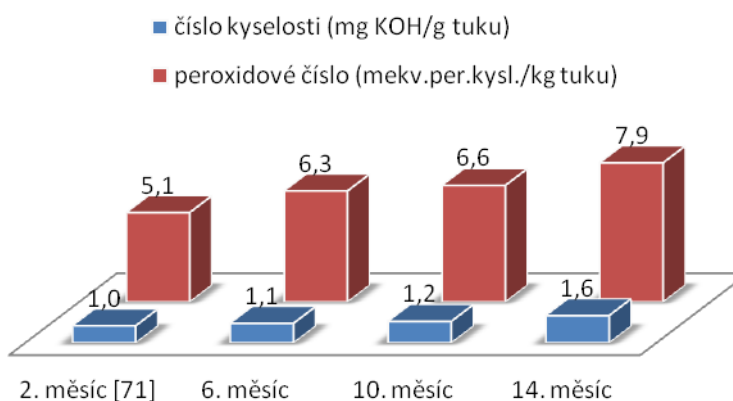
Z Obr. 33 je dále patrné, že největší změna hodnoty peroxidového čísla nastala až mezi 10. a 14. měsícem skladování, kdy došlo k navýšení hodnot z 4,0 na 5,8 mekv. per. kysl/kg. Celkové navýšení hodnoty peroxidového čísla od 2 do 14 měsíců skladování představovalo celkem 207,1 %.

**Olej z pšeničných klíčků**

Obr. 33. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti oleje z pšeničných klíčků.

Výrobce popisuje tento olej jako rostlinný jednodruhový olej lisovaný za studena s dobou trvanlivosti 10 měsíců. Hodnoty čísel kyselosti byly vyšší již po dvou měsících skladování. K největší změně tohoto parametru došlo mezi 10. a 14. měsícem skladování, tedy z 2,9 mg KOH/g oleje na 3,9 mg KOH/g oleje. Vyhl. 328/1997 stanovuje max. přípustnou hodnotu čísla kyselosti pro oleje deklarované jako za lisované za studena, která představuje 4,0 mg KOH/g oleje. [70] Po 14. měsících skladování dosahovala hodnota parametru téměř max. hodnoty dané legislativou.

Obr. 34 dále vypovídá o hodnotě peroxidového čísla analyzovaného oleje. Největší změna nastala během 10. a 14. měsíce skladování, kdy došlo k navýšení z 4,7 na 6,3 mekv. per. kysl./kg. Vyhl. 328/1997 stanovuje max. přípustnou hodnotu peroxidového čísla pro rostlinné oleje deklarované jako lisované za studena, která činí 15,0 mekv. per. kysl./kg oleje. [70] V průběhu 2 – 14 měsíců skladování došlo k celkovému navýšení parametru o 43,2 %.

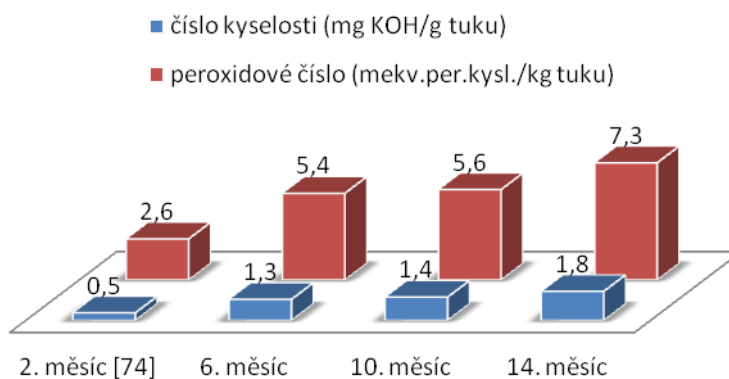
**Řepkový olej VITA**

Obr. 34. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti řepkového oleje.

Výrobce tento olej charakterizuje jako přírodní olej získaný lisováním za studena, který má min. dobu trvanlivosti 15 měsíců. Výraznější změna hodnoty čísla kyselosti nastala mezi 10. a 14. měsícem skladování, tedy došlo navýšení z 1,2 mg KOH/g na 1,6 mg KOH/g. Konečná hodnota čísla kyselosti – 1,6 mg KOH/g nepředstavovala překročení max. přípustné hodnoty čísla kyselosti pro oleje lisované za studena danou legislativou MZe.

Již po dvou měsících skladování byla u řepkového oleje naměřena vyšší hodnota peroxidového čísla, která činila 5,1 mekv. per. kysl./kg. K nejzřetelnější změně parametru došlo mezi 10. a 14. měsícem skladování, tedy z 6,6 mekv. per. kysl./kg na 7,9 mekv. per. kysl./kg oleje. Poslední stanovená hodnota peroxidového čísla – 7,9 mekv. per. kysl./kg byla téměř dvojnásobně menší, než je max. přípustná hodnota peroxidového čísla stanovená legislativou pro oleje lisované za studena. Celkové navýšení od 2 do 14 měsíců skladování představovalo 54,9 %.

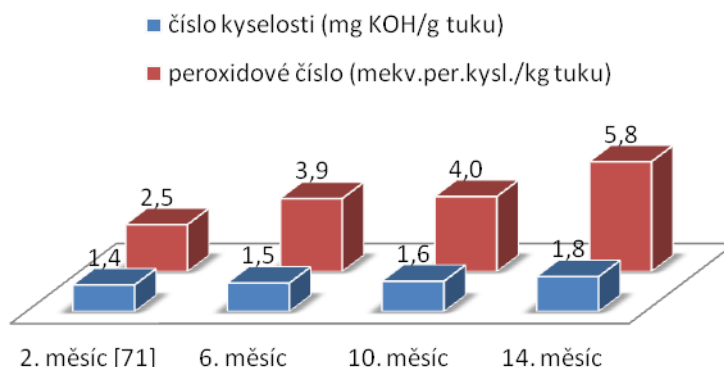
### **Rýžový olej Basso**



Obr. 35. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti rýžového oleje.

Rýžový olej značky Basso Fedelle je výrobcem deklarován jako rostlinný jednodruhový olej vhodný díky své vysoké teplotě přepalování ke smažení. Způsob získání tohoto oleje na obalu však výrobce neuvedl. Min. doba trvanlivosti oleje je 15 měsíců. Z Obr. 36 je patrné, že hodnota čísla kyselosti byla po prvních 2 měsících skladování velmi nízká – 0,5 mg KOH/g oleje. Tato hodnota se však v průběhu skladování postupně navyšovala a po 14 měsících činila 1,8 mg KOH/g. Největší změna parametru nastala v průběhu 2 – 6 měsíce skladování, kdy došlo k navýšení hodnoty z 0,5 mg KOH/g na 1,3 mg KOH/g oleje.

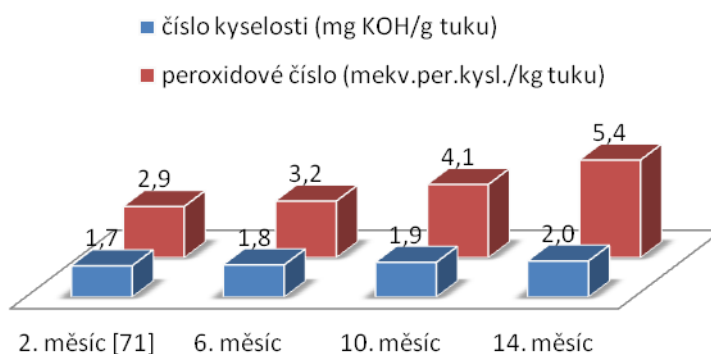
Obsah peroxidů byl vyjádřen peroxidovým číslem, jehož hodnota představovala po 14 měsících skladování 7,3 mekv. per. kysl./kg. K největší změně parametru došlo také mezi 2. a 6. měsícem skladování, což představovalo navýšení z 2,6 mekv. per. kysl./kg na 5,4 mekv. per. kysl./kg. Celkové navýšení peroxidového čísla od 2 do 14 měsíců skladování dosahovalo 180,8 %.

**Olej sezamový BIO**

Obr. 36. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti sezamového oleje.

Sezamový olej BIO je podle výrobce charakterizován jako rostlinný jednodruhový olej lisovaný za studena. Z Obr. 37 je patrné, že během 2 – 14 měsíců skladování sezamového oleje nedošlo k výraznému navýšení hodnoty čísla kyselosti, tj. z 1,4 mg KOH/g na 1,8 mg KOH/g oleje. Největší změna tohoto parametru byla patrná mezi 10. a 14. měsícem skladování. Konečná hodnota čísla kyselosti – 1,8 mg KOH/g oleje nepřekročila ani po 14 měsících skladování max. přípustnou hodnotu čísla kyselosti pro oleje lisované za studena stanovenou Vyhl. 328/1997 Sb.

Z Obr. 37 dále vyplývá, že hodnoty peroxidových čísel nebyly v prvních 10 měsících nijak zvlášť vysoké, než je typické pro dlouhodobě skladované rostlinné oleje. Ke zřetelnějšímu nárůstu hodnoty peroxidového čísla došlo také mezi 10. a 14. měsícem skladování – z 4,0 mekv. per. kysl./kg na 5,8 mekv. per. kysl./kg oleje. Za celou dobu skladování nedošlo u sezamového oleje k přesáhnutí max. přípustné hranice peroxidového čísla dané legislativou. Celkové navýšení peroxidového čísla představovalo 132 %.

**Slunečnicový olej VITA**

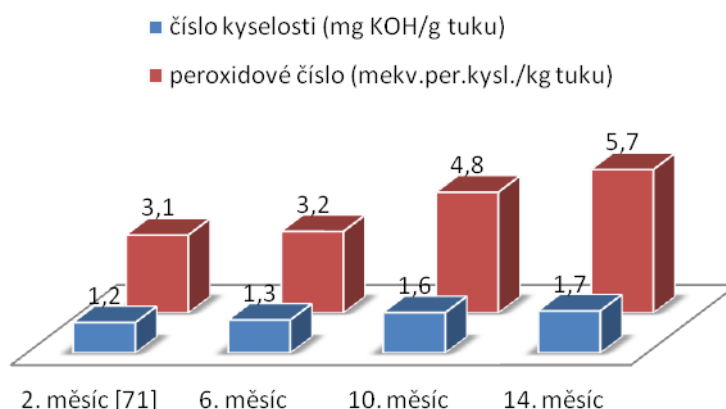
Obr. 37. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti slunečnicového oleje.



Slunečnicový olej je podle výrobce deklarován jako přírodní rostlinný olej získaný po prvním lisování za studena. Výrobce dále na obalu uvádí trvanlivost oleje 15 měsíců. Během 2 – 14 měsíců skladování se hodnota čísla kyselosti navyšovala každé 4 měsíce o 0,1 mg KOH/g oleje. Konečná hodnota čísla kyselosti byla ke konci skladování 2,0 mg KOH/g oleje. Tato byla v souladu s max. přípustnou hodnotou čísla kyselosti danou vyhláškou MZe.

K nejzřetelnější změně hodnoty peroxidového čísla došlo v průběhu 10 – 14 měsíců skladování, tedy z 4,1 mekv. per. kysl./kg oleje na 5,4 mekv. per. kysl./kg oleje. Konečná hodnota parametru nebyla nijak zvlášť vysoká, než je typické pro rostlinné oleje dlouhodobě uskladněné. Ve srovnání s max. přípustnou hodnotou parametru ve Vyhl. 328/1997 Sb., která činí 15,0 mekv. per. kysl./kg, nedošlo ani po 14 měsících skladování k překročení této hodnoty. [70] Celkové navýšení od 2 do 10 měsíců skladování činilo 86,2 %.

### Olej ze světlice barvířské BIO



Obr. 38. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti v oleji ze světlice barvířské.

Světlicový olej je na obalu uváděn jako rostlinný jednodruhový olej získaný z prvního lisování za studena. Výrobce dále na obalu uvádí trvanlivost oleje, která činí 10 měsíců. K největšímu navýšení hodnoty čísla kyselosti došlo mezi 6. a 10. měsícem skladování, tj. z 1,3 mg KOH/g na 1,6 mg KOH/g. Po 14 měsících skladování dosahovala hodnota tohoto parametru 1,7 mg KOH/g oleje. Tato konečná hodnota čísla kyselosti byla v souladu s požadavky na rostlinné oleje lisované za studena danými Vyhl. 328/1997 Sb.

Největší změna hodnoty peroxidového čísla u světlicového oleje byla zaznamenána také mezi 6. a 10. měsícem skladování. Hodnota peroxidového čísla po 14 měsících skladování činila 5,7 mekv. per. kysl./kg, což značí celkové navýšení od 2 měsíců skladování 83,9 %. Tato hodnota byla v souladu s požadavky uvedenými ve Vyhl. 328/1997 Sb.

## ZÁVĚR

Mastné kyseliny představují z hlediska výživy nejvýznamnější složku lipidů, které se podílí v organismu na mnoha životních funkcích. Rostlinné oleje jsou důležitým zdrojem esenciálních nenasycených mastných kyselin, které mají vliv na zdravý růst a vývoj. Dlouhodobé skladování rostlinných olejů však vede ke zhoršení sensorických vlastností olejů, ztrátě nutričně významných složek a vzniku toxických oxidačních produktů.

Pro zjištění kvantitativních změn mastných kyselin bylo vybráno třináct vzorků netradičních rostlinných olejů k analýze plynovou chromatografií s plamenově-ionizačním detektorem. Během deseti měsíců skladování byly zjišťovány změny obsahů jednotlivých mastných kyselin a současně kvantitativní změny peroxidových čísel a čísel kyselosti olejů po dobu 14 měsíců skladování.

Změny, které nastaly u jednotlivých mastných kyselin během analýzy nebyly až na některé výjimky velkého rozsahu. Menší odchylky naměřených hodnot byly pravděpodobně chybou stanovení. Výraznější změny, které nastaly v průběhu skladování, byly pozorovány u konopného oleje a oleje z pšeničných klíčků. V obou případech došlo ke snížení obsahu mononenasycených mastných kyselin. Mastné kyseliny, které tvořily již od počátku skladování hlavní podíl z celkových mastných kyselin, byly převažujícími kyselinami i na konci skladovacího pokusu. Jak se dalo očekávat, nebyly ke konci skladování zaznamenány esenciální mastné kyseliny (n-3) PUFAs, které jsou velmi náchylné k oxidaci. Naopak byly ke konci skladování stanoveny trans-nenasycené mastné kyseliny, které jsou prvotním ukazatelem žluklosti olejů. S obsahem nepřevyšujícím hodnotu 1 % byly trans-nenasycené mastné kyseliny zaznamenány u řepkového, sezamového a slunečnicového oleje.

Vysoké hodnoty peroxidových čísel, která vypovídají o stupni oxidace tuků a olejů, byly ke konci skladování stanoveny u oleje z ostropestřece mariánského a dýňového oleje, jejichž hodnoty se blížily maximální přípustné hodnotě dané legislativou. Naopak nižší hodnoty peroxidových čísel byly stanoveny u sezamového, slunečnicového oleje a oleje z hroznových jader. Tyto nízké hodnoty lze vysvětlit vyšším obsahem antioxidantů u sezamového oleje a nepřekročením minimální doby trvanlivosti u slunečnicového oleje a oleje z hroznových jader.

Nejvyšší hodnota čísla kyselosti, které vypovídá o hydrolytickém žluknutí, byla stanovena u ostropestřecového oleje, který byl jediným olejem, který v rámci dlouhodobého skladování překročil maximální přípustnou hodnotu danou legislativou. Naopak nejnižší hodnota čísla kyselosti byla zjištěna u kokosového oleje, který je díky vysokému obsahu nasycených mastných kyselin velmi stabilním olejem vůči oxidaci.

Přestože byla u většiny olejů překročena doba trvanlivosti, uváděná výrobcem, změny na základě délky skladování za podmínek doporučovaných výrobcem, nepřekročily hodnoty těchto parametrů deklarované vyhláškou. Celkové zhodnocení kvality olejů z pohledu změny složení FAs nebylo až tak výrazné, proto by bylo vhodné doplnit tuto analýzu o hmotnostní spektrometrii, která by lépe vypovídala o derivátech vzniklých oxidací. Průkaznější kvantitativní změny olejů jsou lépe zhodnotitelné na základě změn čísel kyselosti a ještě výrazněji ze změn hodnot peroxidových čísel.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS. 1999, 352 s., ISBN 80-902391-3-7.
- [2] RUSTAN, A. *Encyclopedia of Life and Science*. Fatty Acids: Structures and Prosperities. 2005, Chichester: Press John Wiley & Sons, ISBN 978-047-0015-902.
- [3] TVRZICKA, E. et al. Fatty Acids as Biocompounds: Their Role in Human Metabolism, Health and Disease. *Biomed Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* 2011, 155(2), p. 117 – 130.
- [4] ROCHE H. M. Unsaturated Fatty Acids. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2009, 58, p. 397 – 401.
- [5] HOSTMARK A. T. et al. Percentage Oleic Acid is Inversely related to Percentage Arachidonic Acid in Total Lipids of Rat Serum. *Lipids in Health and Disease*. 2013, 12(40), p. 11 – 17.
- [6] WERTZ, P. W. Essential Fatty Acids and Dietary Stress. *Toxicology and Industrial Health*. 2009, 25, p. 279 – 283.
- [7] JIRÁK, R. a kol. Vliv omega-3 a omega-6 nenasycených mastných kyselin na psychické poruchy. *Česká a slovenská psychiatrie*. 2007, 103, s. 420 – 426.
- [8] BROWN, J. L. Hydrogenated Vegetable Oils and Trans Fatty Acids. *Publications Distribution Center*. 2006, 152, p. 54 – 57.
- [9] GUNSTONE, F. D. et al. *Vegetable Oils in Food Technology*. Composition, Prosperities and Uses. 2002, Cornwall: Press MPG Books Ltd, ISBN 1-84127-331-7.
- [10] LEIZER, C. et al. The Composition of Hemp Seed Oil and Its Potential as an Important Source of Nutrition. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods*. 2000, 2(4), p. 35 – 53.
- [11] ALFAWAZ, M. A. Chemical Composition and Oil Characteristics of Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Seed Kernels. *Food Sci. & Agric. Res. Center*. 2004, 129, p. 5 – 18.
- [12] EL-MALLAH, M. H. et al. Detailed Studies on some Lipids of *Silybum marianum* (L.) Seed Oil. *Grasas y Aceites*. 2003, 54(4), p. 397 – 402.

- [13] PASSOS, C. P. et al. Enhancement of the Supercritical Fluid Extraction of Grape Seed Oil by Using Enzymatically Pre-treated Seed. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2008, 48(3), p. 225 – 229.
- [14] KIRALAN, M. et al. Oil Content and Fatty Acid Composition of Some Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Varieties Sown in Spring and Winter. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*. 2007, 1(3), p. 11 – 15.
- [15] PIRAS, A. et al. Extraction of Oil from Wheat Germ by Supercritical CO<sub>2</sub>. *Molecules*. 2009, 14, p. 2573 – 2581.
- [16] MOIGRADEAN, D. et al. Quality Characteristics and Oxidative Stability of Coconut Oil during Storage. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 2012, 18(4), p. 272 – 276.
- [17] VIORICA-MIRELA, P. et al. The Possibilities of Obtaining, Characterizing and Valorification of Almond Oil (*Prunus Amygdalus*). *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 2013, 19(4), p. 455 – 458.
- [18] FAO: Codex Alimentarius. *Fats, Oil and Related Products*. 2001, Roma, p. 36 – 198, ISSN 0259-2916.
- [19] HÁJEK, J. a kol. Využití infračervené spektrofotometrie pro sledování změn při oxidaci řepkového oleje. *Chemické listy*. 1998, 92, p. 434 – 440.
- [20] ALUYOR, E. O. et al. The Use of Antioxidants in Vegetable Oils. *African Journal of Biotechnology*. 2008, 7(25), p. 4836 – 4842.
- [21] HALLIWELL, B. Free Radicals and Antioxidants: Updating a Personal View. *Nutrition Reviews*. 2012, 70(5), p. 257 – 265.
- [22] GULLA, S. and K. WAGHRAY. Effect of Storage on Physico-chemical Characteristics and Fatty Acid Composition of Selected Oil Blends. *Journal of Life Science*. 2011, 3(1), p. 35 – 46.
- [23] BAYSAL, T. et al. Lipoxygenase in Fruits and Vegetables. *Enzyme and Microbial Technology*. 2007, 40(4), p. 491 – 496.
- [24] BARISON, A. et al. A Simple Methodology for the Determination of Fatty Acid Composition in Edible Oils through NMR Spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2010, 48, p. 642 – 650.

- [25] CABALARO, B. et al. *Encyclopedia of Human Nutrition*. Michigan: Elsevier Academic Press, 2005.
- [26] KONGBONGA, Y. G. M. et al. Characterization of Vegetable Oils by Fluorescence Spectroscopy. *Food and Nutrition Sciences*. 2011, 2(7), p. 692 – 699.
- [27] VALÁŠEK, P. a kol. *Analýza potravin. Přírodní látky*. 2007, Zlín, ISBN 978-80-7318-585-5.
- [28] ALUYOR, E. O. et al. Chromatographic Analysis of Vegetable Oils. *Scientific Research and Essay*. 2009, 4(4) p. 191 – 197.
- [29] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2005, Ostrava: Pavel Klouda, 132 s., ISBN 80-86369-07-2.
- [30] CHURÁČEK, J. *Pokroky v teorii a instrumentaci moderních analytických metod*. 1998, Pardubice: Academia, 193 s.
- [31] ZÝKA, J. a kol. *Nové směry v analytické chemii*. 1983, Praha: SNTL, 217 s.
- [32] TSUZUKI, W. et al. Fatty Acid Analysis by HPLC. *Lipids*. 2009, 44, p. 373 – 379.
- [33] MIKEŠ, O. a kol. *Laboratorní chromatografické metody*. 1980, Praha: SNTL, 673 s.
- [34] KEALEY, D. and P. J. HAINES. *Analytical Chemistry*. 2002, United Kingdom: BIOS Press, ISBN 1-85996-189-4.
- [35] ČÍŽKOVÁ, H. a kol. Trendy v autenticitě potravin a v přístupech k detekci falšování. *Chemické listy*. 2012, 106, 903 – 910.
- [36] BÖHM, S. a S. VOLTROVÁ. *Strukturní analýza organických sloučenin*. 1995, Praha: JK Press, ISBN 80-7080-235-9.
- [37] BERTRAN, E. et al. Determination of Olive Oil Free Fatty Acids by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *JAACS*. 1999, 76(5), p. 611 – 616.
- [38] FARHAD, S. et al. Determination of Ratio of Unsaturated to Total Fatty Acids in Edible Oils by Laser Raman Spectroscopy. *Journal of Applied Sciences*. 2009, 9(8), p. 1538 – 1543.
- [39] SHAHIDI, F. and Y. ZHONG. Lipid Oxidation: Measurement Methods. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 2007, 6(6), p. 357 – 385.

- [40] WASOWICZ, E. et al. Oxidation of Lipid in Food. *Polish Journal of Food and Nutritional Sciences*. 2004, 13(54), p. 87 – 100.
- [41] MARINA, A. M. et al. Quantitative Analysis of Peroxide Value in Virgin Coconut Oil by ATR-FTIR Spectroscopy. *The Open Conference Proceedings Journal*. 2013, 4(2), p. 53 – 56.
- [42] SPĚVÁČKOVÁ, E. Lipid Oxidation of Fat Blends Modified by Monoacylglycerol. *Czech Journal Food Science*. 2012, 6, p. 527 – 533.
- [43] DAMODARAN, S. et al. *Fennema's Food Chemistry*. 2008, UK: CRC Taylor Press, ISBN 08-493-9272-1.
- [44] ZHANG, Q. et al. A Novel Method for the Determination of Hydrogen Peroxide in Bleaching Effluents by Spectroscopy. *Bioresources*. 2013, 8(3), p. 3699 – 3705.
- [45] MA, K. et al. Quantitative Determination of Hydroperoxides by Fourier Transform Infrared Spectroscopy with a Disposable Infrared Card. *JAACS*. 1998, 75(9), p. 1095 – 1101.
- [46] MUIK, B. et al. Direct Monitoring of Lipid Oxidation in Edible Oils by Fourier Transform Raman Spectroscopy. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2005, 134, p. 173 – 182.
- [47] ODSTRČIL, J. a M. ODSTRČILOVÁ. *Chemie potravin*. 2006, Brno: Mikadapress, ISBN 80-7013-435-6.
- [48] LABRINEA, E. P. et al. Direct Olive Oil Anisidine Value Determination by Flow Injection. *Analytica Chimica Acta*. 2001, 448, p. 201 – 206.
- [49] PIGNITTER, M. and V. SOMOZA. Critical Evaluation of Methods for the Measurement of Oxidative Rancidity in Vegetable Oils. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2012, 20(4), p. 772 – 777.
- [50] MEISNER, P. and J. L. GEBICKI. Determination of Hydroperoxides in Aqueous Solutions Containing Surfactants by the Ferrous Oxidation-Xylenol Orange Method. *Acta Biochimica Polonica*. 2009, 56(3), p. 523 – 527.
- [51] *Komodity online. Řepka olejná – výroba CDRO* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://www.komodityonline.com/fotky/cdro/repka-olejna-vyroba-cdro/>>
- [52] *Garten.cz. Helianthus – slunečnice* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://www.garten.cz/a/cz/5664-helianthus-slunecnice/>>.

- [53] *Rajče.net. Podzemnice olejná* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <[http://cee.rajce.idnes.cz/5.cast?order=create&src=1#podzemnice\\_olejna\\_6.JPG](http://cee.rajce.idnes.cz/5.cast?order=create&src=1#podzemnice_olejna_6.JPG)>.
- [54] *Pharmacognosy. Black sesame seed* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://www.epharacognosy.com/2012/04/black-sesame-seed-heizhima-sesamum.html>>
- [55] *Rostliny-semena.cz. Rýže setá (rostlina: Oryza sativa)* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://www.rostliny-semena.cz/cz/nabidka-semena-tropicke-a-subtropicke-rostliny-osiva/okrasne-rostliny-semena/rostliny-ryze-oryza/semena-osivo-ryze-oryza-sativa/>>.
- [56] *Botanik im Bild. Cannabis sativa* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://flora.nhm-wien.ac.at/Seiten-Arten/Cannabis-sativa-sat.htm>>.
- [57] *Wikipedia. Tykev* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Tykev>>.
- [58] *Florabase. Silybum marianum (L.) Gaertn.* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://florabase.dpaw.wa.gov.au/browse/profile/8227>>.
- [59] *Biolib. Vitis vinifera L. – Grape-vine* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://www.biolib.cz/en/image/id78636/>>.
- [60] *Dobrá semena. Světlice barvířská – Orange bowl* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <[http://dobrasemena.cz/ORANGE-BOWL-Svetlice-barvirska\\_9145.htm](http://dobrasemena.cz/ORANGE-BOWL-Svetlice-barvirska_9145.htm)>.
- [61] *Talin. Olej z pšeničných klíčkov* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://www.talin.sk/olej-z-psenicnych-klickov-100ml>>.
- [62] *Agro Bisnis. Kopra Jemur* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://agrobisnis-abgroup.blogspot.cz/2010/04/kopra-jemur.html>>.
- [63] *Botany.cz. Prunus Dulcis-mandloň obecná* [online]. cit. [2014-04-03]. Dostupné na WWW: <<http://botany.cz/cs/prunus-dulcis/>>.
- [64] AI, F. F. et al. Application of Random Forests to select Quality Vegetable Oils by their Fatty Acid Composition. *Food Chemistry*. 2014, 143, p. 473 – 478.
- [65] ZAMBIAZI, R. C. et al. Fatty Acid Composition of Vegetable Oils and Fats. 2007, 25(1) p. 111 – 120.



- [66] ANDERSSON, R. et al. Multivariate Study the Correlation between Tocopherol Content and Fatty Acid Composition in Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1994, 74(4), p. 375 – 380.
- [67] ABDALLAH, A. et al. Oil Content and Fatty Acids Composition of Almond Kernels from different Genotype and California Production Regions. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1998, 123(6), p. 1029 – 1033.
- [68] KODBA, Z. C. et al. Fatty Acid Composition of Cold-pressed Hemp and Grape Seed Oils. *Journal of Food Lipids*. 2008, 15, p. 137 – 149.
- [69] KOSTIK, V. et al. Fatty Acid Composition of Edible Oils and Fats. *Journal of Hygienic Engineering and Design*. 2013, 4(4), p. 112 – 116.
- [70] *Vyhláška Mze č. 328/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro mléko a mléčné výrobky, zmrzliny a mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Sbírka zákonů 1997, částka 150 (1997).*
- [71] SLOVÁČKOVÁ, L.: *Zastoupení mastných kyselin v netradičních olejích*. Diplomová práce. Ústav technologie potravin, UTB, Zlín, 2013.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

DAGs	Diacylglyceroly
DHA	Dokosahexaenová kyselina
EFAs	Esenciální mastné kyseliny
EPA	Eikosapentaenová kyselina
ESR	Elektronová spinová rezonance
FA	Mastná kyselina
FAMEs	Methylestery mastných kyselin
FAs	Mastné kyseliny
FID	Plamenově ionizační detektor
FOX	Oxidace železa s xylenovou oranží
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GC	Plynová chromatografie
GLC	Plynová rozdělovací chromatografie
HDL	Vysokodenzitní lipoprotein
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HS-GC	Headspace chromatografie
IR	Infračervená spektroskopie
LDL	Nízkodenzitní lipoprotein
MAGs	Monoacylglyceroly
MDA	Malonaldehyd
MS	Hmotnostní spektrometrie
MUFAs	Mononenasyčené mastné kyseliny
OSI	Index oxidační stability
PC	Papírová chromatografie
PUFAs	Polynenasycené mastné kyseliny

RP-HPLC	HPLC na obrácené fázi
SFAs	Nasyčené mastné kyseliny
TAGs	Triacylglyceroly
TBA	Thiobarbiturová kyselina
TFAs	Trans-nenasycené mastné kyseliny
THC	Tetrahydrokanabiol
TLC	Tenkvrstevná chromatografie
TPP	Trifenylfosfin
TPPO	Trifenylfosfinoxid
UPLC	Ultraúčinná kapalinová chromatografie

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Obecný vzorec nasycené mastné kyseliny. [1]</i> .....	14
<i>Obr. 2. Obecný vzorec monoenové mastné kyseliny. [1]</i> .....	16
<i>Obr. 3. Obecný vzorec (n-3) PUFAs. [1]</i> .....	17
<i>Obr. 4. Obecný vzorec (n-6) PUFAs. [1]</i> .....	17
<i>Obr. 5. Řepka olejná. [51]</i> .....	20
<i>Obr. 6. Slunečnice roční. [52]</i> .....	21
<i>Obr. 7. Podzemnice olejná. [53]</i> .....	22
<i>Obr. 8. Sezam indický. [54]</i> .....	22
<i>Obr. 9. Rýže setá. [55]</i> .....	23
<i>Obr. 10. Konopí seté. [56]</i> .....	24
<i>Obr. 11. Dýně velkoplodá. [57]</i> .....	24
<i>Obr. 12. Ostropestřec mariánský. [58]</i> .....	25
<i>Obr. 13. Réva vinná. [59]</i> .....	26
<i>Obr. 14. Světlice barviřská. [60]</i> .....	26
<i>Obr. 15. Klíčky pšenice seté. [61]</i> .....	27
<i>Obr. 16. Sušení kokosových ořechů. [62]</i> .....	28
<i>Obr. 17. Mandloň obecná. [63]</i> .....	28
<i>Obr. 18. Mechanismus vzniku uhlovodíků a aldehydů během oxidace. [1]</i> .....	32
<i>Obr. 19. Schéma plynového chromatografu. [31]</i> .....	37
<i>Obr. 20. Princip metody stanovení thiobarbiturového čísla. [43]</i> .....	45
<i>Obr. 21. Princip metody stanovení p-anisidinového čísla. [48]</i> .....	46
<i>Obr. 22. Vialka se vzorkem a plynným „headspace“ prostorem. [49]</i> .....	46
<i>Obr. 23 a Obr. 24. Příprava methylesterů mastných kyselin. ....</i>	52
<i>Obr. 25. Titrace vzorků olejů odměrným roztokem 0,1 M KOH. ....</i>	55
<i>Obr. 27. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti oleje z dýňových semen. ....</i>	73
<i>Obr. 28. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti oleje z hroznových jader. ....</i>	74
<i>Obr. 29. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti konopného oleje. ....</i>	74
<i>Obr. 30. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti v kokosovém oleji. ....</i>	75
<i>Obr. 31. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti v mandlovém oleji. ....</i>	76
<i>Obr. 32. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti ostropestřecového oleje. ....</i>	76
<i>Obr. 33. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti v podzemnicovém oleji. ....</i>	77

<i>Obr. 34. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti oleje z pšeničných klíčků. ....</i>	<i>78</i>
<i>Obr. 35. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti řepkového oleje. ....</i>	<i>78</i>
<i>Obr. 36. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti rýžového oleje. ....</i>	<i>79</i>
<i>Obr. 37. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti sezamového oleje. ....</i>	<i>80</i>
<i>Obr. 38. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti slunečnicového oleje. ....</i>	<i>80</i>
<i>Obr. 39. Hodnoty peroxidového čísla a čísla kyselosti v oleji ze světlice barvířské. ....</i>	<i>81</i>

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1. Přehled nasycených mastných kyselin. [1] .....</i>	15
<i>Tab. 2. Monoenové mastné kyseliny. [1] .....</i>	17
<i>Tab. 3. Polyenové mastné kyseliny. [1] .....</i>	18
<i>Tab. 4. Přehled analyzovaných olejů. ....</i>	49
<i>Tab. 5. Podmínky chromatografického stanovení. ....</i>	52
<i>Tab. 6. Zastoupení mastných kyselin v oleji z dýňových semen. ....</i>	58
<i>Tab. 7. Zastoupení mastných kyselin v oleji z hroznových jader. ....</i>	59
<i>Tab. 8. Zastoupení mastných kyselin v konopném oleji. ....</i>	60
<i>Tab. 9. Zastoupení mastných kyselin v kokosovém oleji. ....</i>	61
<i>Tab. 10. Zastoupení mastných kyselin v mandlovém oleji. ....</i>	62
<i>Tab. 11. Zastoupení mastných kyselin v oleji z ostropestřece mariánského. ....</i>	63
<i>Tab. 12. Zastoupení mastných kyselin v oleji z podzemnice olejně. ....</i>	64
<i>Tab. 13. Zastoupení mastných kyselin v oleji z pšeničných klíčků. ....</i>	65
<i>Tab. 14. Zastoupení mastných kyselin v řepkovém oleji. ....</i>	66
<i>Tab. 15. Zastoupení mastných kyselin v rýžovém oleji. ....</i>	67
<i>Tab. 16. Zastoupení mastných kyselin v sezamovém oleji. ....</i>	68
<i>Tab. 17. Zastoupení mastných kyselin ve slunečnicovém oleji. ....</i>	69
<i>Tab. 18. Zastoupení mastných kyselin v oleji ze světlice barviřské. ....</i>	70
<i>Tab. 19. Kvantitativní změny FAs v závislosti na době skladování. ....</i>	72

**SEZNAM PŘÍLOH**

- Příloha I FAME-MIXTURE C4 – C24
- Příloha II VÝPOČET TITRU 0,1 M KOH
- Příloha III VÝPOČET TITRU 0,01 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
- Příloha IV ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN U VYBRANÝCH VZORKŮ OLEJŮ
- Příloha V VYHL. Č. 328/1997 SB.

## PŘÍLOHA P:I. FAME MIXTURE C4 — C24

Pořadí	FAs	Retenční čas
1.	C4:0	12,463
2.	C6:0	15,939
3.	C8:0	20,868
4.	C10:0	26,081
5.	C11:0	28,536
6.	C12:0	30,863
7.	C13:0	33,047
8.	C14:0	35,122
9.	C14:1(cis-9)	36,627
10.	C15:0	37,156
11.	C15:1(cis-10)	38,745
12.	C16:0	39,26
13.	C16:1(cis-9)	40,655
14.	C17:0	41,449
15.	C17:1(cis-10)	43,015
16.	C18:0	43,865
17.	C18:1(trans-9)	44,88
18.	C18:1(cis-9)	45,415
19.	C18:2(trans-9,12)	46,636
20.	C18:2(cis-9,12)	47,972
21.	C20:0	49,708
22.	C18:3(cis-6,9,12)	50,041
23.	C20:1(cis-11)	51,417
24.	C18:3(cis-9,12,15)	51,817
25.	C21:0	53,392
26.	C20:2(cis-11,14)	55,455
27.	C22:0	57,9
28.	C20:3(cis-8,11,14)	58,423
29.	C22:1(cis-13)	60,424
30.	C20:3(cis-11,14,17)	60,896
31.	C20:4(cis-5,8,11,14)	60,945
32.	C23:0	63,321
33.	C22:2(cis-13,16)	66,238
34.	C24:0	66,86
35.	C20:5(cis-5,8,11,14,17)	68,761
36.	C24:1(cis-15)	71,046
37.	C22:6(cis-4,7,10,13,16,19)	75,867



**PŘÍLOHA P:II. VÝPOČET TITRU 0,1M KOH**

Měření	$m_{(\text{COOH})_2}$ [g]	$V_{\text{KOH}}$ [ml]	$c_{\text{KOH}}$ [mol.l <sup>-1</sup> ]
1.	0,125	22,6	
2.	0,127	22,8	<b>0,08827</b>
3.	0,128	22,9	

$$c_{\text{KOH}} = m_{(\text{COOH})_2} / (V_{\text{KOH}} * M_{(\text{COOH})_2} * F_{(\text{COOH})_2})$$

$$c_{\text{KOH}} = 0,125 / (0,0226 * 126,066 * 0,5)$$

$$c_1 = 0,08775 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$c_2 = 0,08837 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$c_3 = 0,08868 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$\underline{\underline{c = 0,08827 \text{ mol.l}^{-1}}}$$

**PŘÍLOHA P:III. VÝPOČET TITRU 0,01M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>**

Měření	V <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub> [ml]	c <sub>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></sub> [mol.l <sup>-1</sup> ]
1.	11,0	
2.	10,6	<b>0,0093</b>
3.	10,7	

$$c_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} = \frac{10}{a} * 0,01$$

$$c_1 = (10/11)*0,01 = 0,0091 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$c_2 = 0,0094 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$c_3 = 0,0093 \text{ mol.l}^{-1}$$

$$\underline{\underline{c = 0,0093 \text{ mol.l}^{-1}}}$$

## PŘÍLOHA P:IV. ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN U VYBRANÝCH VZORKŮ ROSTLINNÝCH OLEJŮ

Druh oleje	Obsah FA v %						
	C8:0	C10:0	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C 20:0
olej z dýňových semen [11]				0,2	16,4	11,1	
olej z hroznových jader [68]					12-16	12-16	
konopný olej [68]					12-16	12-16	
kokosový olej [65]	6,4	5,6	45,5	18,8	10,1	4,3	0,1
mandlový olej [67]					6,0	1,0-2,5	
ostropestřecový olej [12]					9,4	6,6	3,8
podzemnicový olej [66]					11,2	3,6	
olej z pš. klíčků [15]			0,1	0,3	15,9	0,8	
řepkový olej [64]					4,6	1,7	
rýžový olej [65]				0,2	16,9	1,8	
sezamový olej [64]				0,1	9,4	5,7	
slunečnicový olej [64]				0,1	6,5	5,2	
světlicový olej [69]				0,5	4	2,5	0,2

Druh oleje	C16:1(cis-9)	C18:1(cis-9)	C18:2(cis-9,12)	C18:3(cis-9,12,15)
olej z dýňových semen [11]		18,14	52,7	1,3
olej z hroznových jader [68]		12-16	70,8	0,4
konopný olej [68]		12-16	55,8	16,8
kokosový olej [65]		7,5	1,8	
mandlový olej [67]	0,5	73-77	16-19	
ostropestřecový olej [12]		20,8	53,3	
podzemnicový olej [66]		41,1	35,5	0,1
olej z pš. klíčků [15]	0,2	15,5	54,9	7,3
řepkový olej [64]	0,3	60,1	21,4	11,4
rýžový olej [65]		41,5	36,2	1,6
sezamový olej [64]		39,1	42,8	0,5
slunečnicový olej [64]		25,3	60,0	0,3
světlicový olej [69]		16,6	76,0	

**PŘÍLOHA P:V. VYHL. 328/1997 SB.**

---

**Uvedené hodnoty platí obecně pro všechny rostlinné tuky a oleje a jejich směsi**

---

Číslo kyselosti (mg KOH/g)	max. 0,6
Číslo kyselosti pro oleje lisované za studena a takto deklarované (mg KOH/g)	max. 4,00
Číslo peroxidové (mekv. per. kysl./kg)	max. 10,0
Číslo peroxidové pro oleje lisované za studena a takto deklarované	max. 15,0
Látky těkavé při 105 °C (%)	max. 0,2

---