

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Stanovení úrovně žluknutí margarínů

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Nela Adámková**
Osobní číslo: **C19109**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Stanovení úrovně žluknutí margarínů**
Téma práce anglicky: **Determination of margarine rancidity level**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši na téma výroba a složení margarínů. Dále se zaměřte na způsoby žluknutí a metody stanovení míry žluklosti tuků a olejů.
2. V experimentální části práce stanovte vybrané ukazatele žluklosti margarínů, které lze zakoupit v běžné spotřebitelské síti. Zjistěte také, jak ovlivní teplota skladování margarínů obsah hydroperoxidů, které jsou primárním ukazatelem žluklosti tuků.
3. Získané poznatky kriticky zhodnoťte a porovnejte s literaturou.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

LS.

prof. Ing. Karel Ventura, CSc. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 21. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Stanovení úrovně žluknutí margarínů jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1.7.2022

Nela Adámková

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala panu Ing. Tomáši Hájkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a ochotu, kterou mi během psaní bakalářské práce věnoval.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině, přátelům a nejbližším za to, že mi byli vždy oporou a podporovali mě během celého studia na univerzitě Pardubice.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá posuzováním úrovně žluknutí margarínů v závislosti na teplotě a době skladování. V práci je popsána výroba margarínů a složení margarínů. Také jsou zde popsány analýzy, které se využívají při zjišťování stádia oxidace vzorků. Dále je zmíněn princip oxidace a produkty, které jsou během ní tvořeny.

KLÍČOVÁ SLOVA

Margarín, žluknutí, peroxidové číslo, titrační kyselost, jodové číslo, mastné kyseliny

TITLE

Determination of margarine rancidity level

ANNOTATION

The bachelor's thesis is about assessment of the margarine rancidity level according to temperature and shelf life. This thesis describes production of margarines and ingredients which they are made from. There are also described analyses which are used to determine level of rancidity. You can also read about principle of oxidation and products that are produced in this process.

KEYWORDS

Margarine, rancidity, peroxide value, titration value, iodine value, fatty acids

OBSAH

Seznam obrázků a tabulek	10
Seznam zkratk a značek	12
ÚVOD	14
1 TEORETICKÁ ČÁST	15
1.1 Co jsou to margaríny?	15
1.2 Složení margarínů	15
1.2.1 Tuky a oleje	15
1.2.2 Vitamíny	15
1.2.3 Ostatní složky margarínů	16
1.3 Lipidy	16
1.3.1 Glyceroly a vosky	16
1.3.2 Mastné kyseliny	17
1.3.2.1 Esenciální mastné kyseliny.....	18
1.4 Legislativa vztahující se k margarínům	19
1.5 Výroba margarínů	21
1.5.1 Vodná fáze	22
1.5.2 Tuková fáze.....	22
1.5.3 Emulgace	22
1.5.4 Krystalizace	22
1.5.5 Historie margarínů a počátky výroby	25
1.6 Základní charakteristika olejů, tuků a margarínů.....	26
1.6.1 Stanovení obsah tuků v potravinách	26
1.6.1.1 Stanovení dle Soxhleta	26
1.6.1.2 Extrakce směsí rozpouštědel	26
1.6.2 Stanovení tukových čísel	27
1.6.2.1 Číslo zmýdelnění	27

1.6.2.2	Číslo kyselosti	27
1.6.2.3	Peroxidové číslo	28
1.6.2.4	Thiobarbiturové číslo.....	28
1.6.2.5	<i>p</i> -anisidinové číslo.....	29
1.6.2.6	Jodové číslo	29
1.6.2.7	Konjugované dieny.....	30
1.7	Žluknutí tuků.....	30
1.7.1	Autooxidace	30
1.7.2	Primární oxidační změny	32
1.7.3	Sekundární oxidační změny.....	32
1.8	Schallův test pece.....	32
1.9	Mastné kyseliny pomocí GC.....	33
1.10	Přípustné hodnoty tukových čísel a další parametry	34
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	36
2.1	Vzorky margarínů	36
2.1.1	Stella originál s máslovou příchutí 250 g – Vz1-80	36
2.1.2	Stella cukrářská s máslovou příchutí 250 g – Vz2-82	37
2.1.3	Hera Classic 250 g – Vz3-70	38
2.1.4	Rama Classic 400 g – Vz4-75.....	39
2.1.5	Alfa optima 250 g – Vz5-70	40
2.1.6	Olma – Zlatá Haná k namazání 250 g – Vz6-74.....	41
2.1.7	Flora gold 400 g – Vz7-60.....	42
2.1.8	Flora originál 400 g – Vz8-39.....	43
2.2	Příprava vzorků na skladování	44
2.3	Pomůcky a zařízení	45
2.4	Tabulka analýz	46
2.5	Laboratorní postupy	47

2.5.1	Obsah tuku	47
2.5.2	Titrační kyselost.....	48
2.5.3	Peroxidové číslo.....	48
2.5.4	<i>p</i> -anisidinové číslo	49
2.5.5	Jodové číslo.....	50
2.5.6	Stanovení mastných kyselin pomocí GC/MS	50
3	VÝSLEDKY A DISKUSE	52
3.1	Výběr vzorků.....	52
3.2	Vliv skladování na vlastnosti margarínů.....	53
3.3	Stanovení obsahu tuků	54
3.4	Složení MK ve vzorcích.....	55
3.4.1	Teplota a vlhkost během skladování vzorků.....	58
3.4.2	Stanovení titrační kyselosti	61
3.4.3	Stanovení peroxidového čísla	62
3.4.4	Stanovení <i>p</i> -anisidinového čísla	64
3.4.5	Výsledky stanovení jodového čísla.....	65
4	ZÁVĚR.....	67
	POUŽITÁ LITERATURA	69
	PŘÍLOHY	73

Seznam obrázků a tabulek

Obrázek 1 - Obecný vzorec triacylglycerolu	16
Obrázek 2 – chemická struktura vosku cetyl palmitátu [1]	17
Obrázek 3 – Schéma hlavních kroků při výrobě margarínů [11]	21
Obrázek 4 - Schématický náčrt krystalizátoru [14].....	23
Obrázek 5 - Schéma moderního votátoru [8].....	24
Obrázek 6 - Obrázek votátoru od firmy AxFlow [16].....	24
Obrázek 7 - Obrázek vnitřní části krystalizátoru [14]	24
Obrázek 8 – Chemická reakce zmýdelnění triacylglycerolu	27
Obrázek 9 - Mechanismus radikálové autooxidace tuků [29]	31
Obrázek 10 - Schéma plynového chromatografu [30].....	33
Obrázek 11 - Balení Stella originál [33].....	36
Obrázek 12 - Balení Stella cukrářská s máslovou příchutí [34]	37
Obrázek 13 - Balení Hera classic.....	38
Obrázek 14 - Balení Rama Classic	39
Obrázek 15 - Balení Alfa optima.....	40
Obrázek 16 - Balení ZLatá Haná máslová.....	41
Obrázek 17 - Balení Flora gold.....	42
Obrázek 18 - Balení Flora original	43
Obrázek 19 – Vzorky 5-8 při posledním měření skladované při pokojové teplotě	53
Obrázek 20 – Vzorky 5-8 při posledním měření skladované v lednici	53
Obrázek 21 – Vzorek Vz5-70 před promícháním.....	54
Obrázek 22 – Vzorek Vz5-70 připraven k navážení.....	54
Obrázek 23 - Obsah tuku ve vzorcích margarínů stanovený extrakcí a uvedený na obale	54
Obrázek 24 – Chromatogram methylesteru mastných kyselin ve vzorku Vz6-74	55
Obrázek 25 - Zastoupení majoritních mastných kyselin ve vzorcích.....	56
Obrázek 26 – Zastoupení minoritních mastných kyselin ve vzorcích	57
Obrázek 27 – Obsah nenasycených MK ve vzorcích	57
Obrázek 28 – Obsah nasycených MK ve vzorcích.....	58
Obrázek 29 - Závislost teploty na čase skladování v chladničce.....	59
Obrázek 30 - Závislost vlhkosti na čase skladování v chladničce	59
Obrázek 31 - Závislost teploty v laboratoři na čase.....	60
Obrázek 32 - Závislost vlhkosti v laboratoři na čase.....	60

Obrázek 33 - Graf závislosti titrační kyselosti vzorky v chladničce	61
Obrázek 34 - Závislost titrační kyselosti na typu vzorku a délce skladování v laboratoři	62
Obrázek 35 - Graf závislosti PV na typu vzorku a délce skladování v chladničce	63
Obrázek 36 - Graf závislosti PV na typu vzorku a délce skladování v laboratoři.....	64
Obrázek 37 - Jodová čísla vzorků na začátku a na konci experimentu	66
Tabulka 1 - Tabulka základních nasycených mastných kyselin [7]	17
Tabulka 2 - Základní nenasyčené mastné kyseliny [7].....	18
Tabulka 3 - Dělení margarínů v závislosti na obsahu tuků dle nařízení č.1308/2013 [1]	20
Tabulka 4 - Základní členění jedlých tuků a olejů dle Vyhlášky č.397/2016 Sb. [2].....	21
Tabulka 5 - Tabulka hodnot přípustných pro rostlinné tuky a oleje a jejich směsi [32]	34
Tabulka 6 - Tabulka hodnot přípustných pro rostlinné oleje jednodruhové [32]	35
Tabulka 7 - Tabulka hodnot tukových čísel přípustných pro margaríny [32]	35
Tabulka 8 - Tabulka hodnot tukových čísel přípustných pro emulgované tuky [32].....	35
Tabulka 9 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Stella originál	37
Tabulka 10 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Stella cukrářská	38
Tabulka 11 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Hera Classic.....	39
Tabulka 12 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Rama Classsic.....	40
Tabulka 13 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Alfa optima.....	41
Tabulka 14 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Olma – Zlatá Haná k namazání	42
Tabulka 15 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Flora gold	43
Tabulka 16 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Flora original	44
Tabulka 17 - Potřebné chemikálie a pomůcky u jednotlivých analýz	46
Tabulka 18 - Počet extrakcí a objem extrakčního rozpouštědla pro různé vzorky [23]	47
Tabulka 19 - Chromatografické podmínky pro analýzu MK	51
Tabulka 20 - Hodnoty p-anisidinového čísla 28.3.2022.....	65

Seznam zkratek a značek

A	absorbance
ALA	kyselina α -linolenová
AOCS	The American Oil Chemists' Society
AV	<i>p</i> -anisidinové číslo (<i>p</i> -anisidine value)
<i>c</i>	koncentrace
C:D	počet uhlíku : počet dvojných vazeb
č.	číslo/a
DHA	dokosahexanová kyselina
EPA	eikosapentaenová kyselina
<i>f</i>	faktor
FFA	volné mastné kyseliny (free fatty acids)
GC/MS	plynová chromatografie s hmotnostním detektorem (gas chromatography/mass spectroscopy)
konc.	koncentrovaná/ý/é
kys.	kyselina/y
LA	kyselina linolová
MK	mastná kyselina
MUFA	mononenasyčená mastná kyselina (monounsaturated fatty acids)
<i>m</i>	hmotnost
<i>m</i> _{vz}	hmotnost vzorku
marg.	margarín
o. r. a.	pro organickou analýzu reziduí (for organic Residue Analysis)
p.a.	pro analýzu
PUFA	polynenasyčené mastné kyseliny (polyunsaturated fatty acids)

PV	peroxidové číslo (peroxid value)
Q	množství vzorku v měřeném roztoku ke kterému se vztahuje anisidinové číslo
RF	retenční faktor
RT	retenční čas
TBA	kyselina thiobarbiturová (thiobarbituric acid)
TV	titrační kyselost (titration value)
IV	jodové číslo (iodine value)
V	objem
W	obsah tuku

ÚVOD

Margaríny, roztíratelné tuky, náhražky másla nebo také emulze vody v oleji nejsou v potravinářství žádnou novinkou a v současnosti se vyrábí nepřehledné množství těchto tukových pomazánek. Úspěch tohoto produktu je obdivuhodný. Díky své nízké ceně a vlastnostem velmi podobným máslu, se margaríny staly běžnou součástí nemalého počtu domácností, a dokonce i v potravinářském průmyslu našly velké využití. Hlavní složkou margarínů jsou především oleje a tuky, které propůjčují margarínům chuť a vlastnosti, ale také jsou zodpovědné za jejich kažení, které nazýváme žluknutí.

Žluknutí je proces, který snižuje výživovou hodnotu tuků, proto je řada metod, kterými lze sledovat stupeň oxidace tuků. Mezi tyto metody patří změny titrační kyselosti, peroxidové číslo, *p*-anisidinové číslo, jodové číslo a mnoho dalších. Oxidační změny tuků mohou vést až k vytvoření zdraví škodlivých látek. Z tohoto důvodu je cílem práce sledovat změny parametrů vzorků běžně dostupných v supermarketech během skladování v různých podmínkách. Z naměřených dat bude možné stanovit po jaké době mohou být vzorky margarínů nepoživatelné.

Všechny tučné potraviny obsahují jistý podíl nasycených mastných kyselin, které mohou být zdraví škodlivé a jejich obsah by měl být uveden na obalu produktu. Vzhledem k této skutečnosti bychom si měli jejich denní příjem hlídat. Práce se zabývá tím, zda jsou obsahy těchto mastných kyselin uvedených na obalu pravdivé. Také je zde rozebráno celkové složení mastných kyselin v jednotlivých vzorcích.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Co jsou to margaríny?

Margaríny můžeme označit jako emulzi vody v oleji. Byly původně vymyšleny jako náhražka másla. U konzumentů jsou oblíbené pro své vlastnosti, jako je snadná roztíratelnost i při nižších teplotách a cenová dostupnost. V dnešní době se vyrábí obrovské množství margarínů v mnoha příchutích a také s různým obsahem tuku od 20 až do 82 %. Do margarínů se také přidávají různé vitamíny, sůl, konzervační látky a další viz. kapitola složení margarínů.

1.2 Složení margarínů

1.2.1 Tuky a oleje

Margaríny se vyrábí především z tekutých rostlinných olejů s vysokým obsahem polynenasycených tuků. K výrobě se používá také malé množství pevného tuku, aby se zabránilo oddělování kapiček vody od výsledného margarínu, a aby se vytvořila emulze se správnou stabilitou a texturou. Nejčastěji se jako zdroj pevného tuku používají tropické tuky s vysokým obsahem nasycených mastných kyselin nebo částečně hydrogenované oleje, které ale obsahují nezdravé trans-mastné kyseliny. Tyto zdroje pevného tuku se v dnešní době používají méně kvůli dopadu na lidské zdraví, způsobují totiž kornatění cév, což je usazování tuku v cévách a může vést až k infarktu myokardu [1].

Rostlinné oleje, které můžeme nejčastěji nalézt ve složení margarínů jsou sojový, kanolový a slunečnicový olej. Tyto oleje jsou bohaté na mononenasycené mastné kyseliny a omega-3 a omega-6 polynenasycené mastné kyseliny. Velmi často se také používá řepkový olej s nízkým obsahem kyseliny erukové, obsah kyseliny erukové <2 %. V Evropě se často používá palmový olej, laurový olej a hydrogenované oleje z mořských ryb, pokud ovšem výrobek obsahuje 10–20 % oleje z ryb, tak mají tyto výrobky velký problém se stabilitou a snadněji se kazí [2].

1.2.2 Vitamíny

Margaríny obohacené o vitamíny obsahují kromě přírodních složek vitamínu E (tokoferoly jako α , β , γ , δ tokoferol a plastochromanol-8) také určité množství vitamínu K asi 0,5–20 mg /100 g, vitamín A nebo β -karoten a 0,001 mg/100 g vitamínu D3, v závislosti na typu margarínu. Díky kyselému mléku použitému při výrobě nebo barvení laktoflavinem A obsahuje vitaminizovaný margarín určité množství vitamínu B a kyseliny askorbové [3].

1.2.3 Ostatní složky margarínů

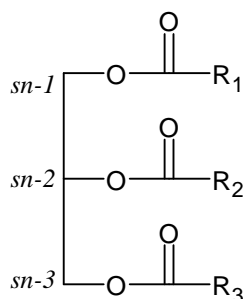
Mezi ostatní složky margarínů můžeme zařadit vodu, barviva, jedlou sůl, emulgátory, aroma, regulátory kyselosti, konzervanty a stopy mléka a mléčných produktů.

1.3 Lipidy

Lipidy neboli tuky se skládají z takzvaných triacylglycerolů, kterých obsahují až 97 %. Acylglyceroly ovšem nejsou jedinou složkou lipidů. Tyto složky lipidů můžeme rozdělit na jednoduché a složené, přičemž do jednoduchých patří acylglyceroly a vosky, zatímco do složených patří fosfolipidy, glykoproteiny a glykolipidy. Další složkou lipidů jsou isoprenoidy, které mají jako základní strukturu isopren do této skupiny patří terpenoidy a steroidy. Poslední složkou lipidů jsou mastné kyseliny [4]. Všechny tyto látky patřící pod lipidy mají společnou vlastnost, a to velmi dobrou rozpustnost v organických rozpouštědlech například diethylether, benzen, hexan, chloroform či metanol [5].

1.3.1 Glyceroly a vosky

Acylglyceroly jsou látky vznikající reakcí glycerolu a karboxylových kyselin. Pokud mluvíme o triacylglycerolech, tak na každém uhlíku ve sloučenině je navázána molekula mastné kyseliny esterifikovaná na *sn-1*, *sn-2* a *sn-3* polohy glycerolu, což můžeme vidět na obrázku 1.

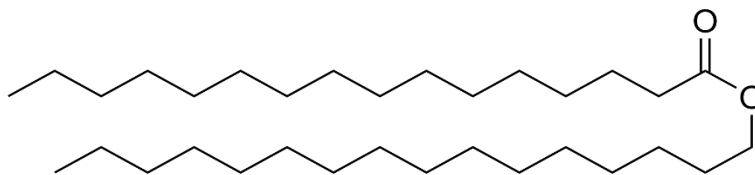


Obrázek 1 - Obecný vzorec triacylglycerolu

Jedna mastná kyselina může být esterifikována do všech tří poloh glycerolu např. jako u trioleoylglycerolu (trioleinu), kde kyselina olejová je jedinou esterifikovanou mastnou kyselinou. Obecně nasycené mastné kyseliny a mononenasyčené mastné kyseliny (MUFA) jsou přednostně umístěny v *sn-1* a *sn-3* polohách glycerolu, když polynenasycené (PUFA) jsou přednostně umístěny v *sn-2* polohách glycerolu [6].

Vosky jsou estery mastných alkoholů a mastných kyselin a na rozdíl od acylglycerolů jsou tuhé již při pokojové teplotě. Vosky můžeme nalézt především v olejích pocházejících z mořských živočichů a ve tkáních živočichů. Vosky jsou přítomné i olejích používaných v kuchyni. Díky

svým vyšším teplotám tání způsobují v těchto olejích zákal a jsou oddělovány pomocí vymražování [4]. Na obrázku číslo 2 můžeme vidět strukturu vosku konkrétně cetyl palmitátu.



Obrázek 2 – chemická struktura vosku cetyl palmitátu [1]

1.3.2 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou složky triacylglyceridů, které se skládají z řetězce uhlíků. Přírodní mastné kyseliny jsou alifatické monokarboxylové kyseliny s přímým řetězcem se sudým počtem uhlíků s délkou řetězce od C4 do C24. Nejčastěji jsou mastné kyseliny známé pod svými triviálními názvy jako je máselná, laurová, palmitová, olejová, stearová, linolová a linolenová. Složení mastných kyselin většiny rostlinných olejů a tuků je relativně jednoduché, obsahují většinou velký podíl kyseliny palmitové, olejové a linolové [4].

Mastné kyseliny můžeme dělit do několika skupin a každá skupina má na lidský organismus specifické účinky, proto je důležité, jaký podíl určitých mastných kyselin mají výrobky, ve kterých jsou oleje a tuky. Mastné kyseliny jsou v potravinách rozděleny především dle nasycenosti na nasycené a nenasycené. Nasycené MK nemají dvojně vazby, zatímco nenasycené ano. Nenasycené MK lze dále dělit dle počtu dvojných vazeb na mononenasycené (MUFA) a polynenasycené (PUFA). Dle tvaru příslušné dvojně vazby neboli isomeru se dělí MK na konfigurace *cis* a *trans* [5, 6].

V tabulce 1 je seznam základních nasycených mastných kyselin, tedy kyselin bez dvojných vazeb, které můžeme najít v potravinách.

Tabulka 1 - Tabulka základních nasycených mastných kyselin [7]

Triviální název	Chemická struktura	Počet uhlíků : počet dvojných vazeb (C:D)
kys. kaprinová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$	10:0
kys. laurová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	12:0
kys. myristová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	14:0
kys. palmová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	16:0
kys. stearová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	18:0
kys. arachidová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	20:0

V tabulce 2 jsou sepsány základní nenasycené mastné kyseliny, které se běžně vyskytují v potravinách. Mezi tyto kyseliny patří také esenciální mastné kyseliny, a to kyselina α -linolenová (ALA) a kyselina linolová, které patří mezi ω -3 a ω -6 mastné kyseliny.

Tabulka 2 - Základní nenasycené mastné kyseliny [7]

Triviální název	Chemická struktura	C:D *(x)
kys. myristoolejová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	14:1 (9)
kys. palmitoolejová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	16:1 (9)
kys. sapienová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	16:1 (6)
kys. olejová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:1 (9)
kys. linolová	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:2 (9,12)
kys. α -linolenová	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:3 (9,12,15)

*uhlík na kterém je dvojná vazba počítané od karboxylové skupiny

1.3.2.1 Esenciální mastné kyseliny

Téměř každá mastná kyselina má svou důležitou funkci, ale esenciální jsou pouze polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), které lidské tělo potřebuje pro své zdraví a není schopno si je vyrobit pomocí biosyntézy [8]. Esenciální mastné kyseliny můžeme rozdělit na dvě skupiny a to ω -3 a ω -6 mastné kyseliny, které se liší umístěním dvojně vazby. Zatímco ω -3 mastné kyseliny mají dvojnou vazbu na třetím uhlíku od methylového konce ω -6 mastné kyseliny mají tuto dvojnou vazbu na šestém uhlíku od methylového konce [9].

Mezi ω -3 mastné kyseliny patří α -linolenová kyselina (ALA), eikosapentanová kyselina (EPA) a dokosahexanová kyselina (DHA), přičemž esenciální je pouze α -linolenová kyselina, EPA a DHA si je člověk schopen syntetizovat sám. Průměrný příjem těchto kyselin je v posledních letech nižší než by měl být, což může vést k zdravotním obtížím [9].

Mezi ω -6 mastné kyseliny patří linolová kyselina C18:2 (9,12) gamma-linolenová kyselina 18:3 (6,9,12), Dihomo-gamma-linolenová kyselina, C 20:3 (8,11,14) a arachidonová kyselina C 20:4 (5,8,11,14) [9]. Ovšem esenciální z tohoto výčtu je pouze linolová kyselina ostatní si je člověk také schopen syntetizovat sám, proto je občas nazýváme podmíněně esenciální.

1.4 Legislativa vztahující se k margarínům

Margaríny musí splňovat podmínky dané Vyhláškou č. 397/2016 Sb. sepsanou na základě nařízení Evropského parlamentu a Rady EU č. 1308/2013.

Česká legislativa definuje margarín jako jedlý tuk či olej (směs triacylglycerolů), která se za běžných podmínek vyskytuje v tuhém nebo tekutém stavu. Do této kategorie patří takové výrobky, které mají od 10 % do 90 % tuku (oleje). Ztuženým tukem se rozumí jedlý tuk, který byl získán ztužováním rostlinných a živočišných tuků a olejů nebo jejich směsí. Pokrmovým tukem je takový jedlý tuk, který prošel procesem ztužování nebo přeesterifikace, nebo kombinací těchto procesů. Také to může být směs ztužených a jedlých tuků a olejů, nebo směs jedlých rostlinných a živočišných olejů a tuků. Roztíratelný tuk je jedlý tuk, nebo směs ztužených či přeesterifikovaných tuků splňující požadavky stanovené nařízením o společné organizaci trhů se zemědělskými produkty [10].

V tabulce 3 můžeme vidět rozdělení margarínů a jiných tukových výrobků dle typu tuku nebo oleje, který je použit při výrobě. Také jsou zde margaríny a tukové výrobky děleny na základě obsahu tuku, což je poměrně důležité nejen pro zákazníka, ale také jsou tyto názvy využívány níže v experimentální části, kde se mění navážka dle obsahu tuku ve výrobku.

Tabulka 3 - Dělení margarínů v závislosti na obsahu tuků dle nařízení č.1308/2013 [1]

Druh tuku	Obchodní název	Kategorie výrobků
Definice		Doplňující popis kategorie s uvedením obsahu tuku v % hmotnostních
A. Mléčné tuky Výrobky ve formě tuhé, tvárné emulze, převážně typu voda v oleji, získané výlučně z mléka a/nebo určitých mléčných výrobků, v nichž tuk představuje hlavní hodnotovou složku. Mohou se však přidávat další látky nezbytné pro jejich výrobu, pokud tyto látky nejsou použity za účelem úplného nebo částečného nahrazení jakékoli mléčné složky.	1. Máslo	Výrobek s obsahem mléčného tuku nejméně 80 %, avšak méně než 90 %, s obsahem vody nejvýše 16 % a s nejvyšším obsahem tukuprosté mléčné sušiny do 2 %.
	2. Tříčtvrtětučné máslo	Výrobek s obsahem mléčného tuku nejméně 60 %, avšak nejvýše 62 %.
	3. Polotučné máslo	Výrobek s obsahem mléčného tuku nejméně 39 %, avšak nejvýše 41 %.
	4. Mléčná pomazánka X %	Výrobek s tímto obsahem mléčného tuku: — méně než 39 %, — více než 41 %, avšak méně než 60 %, — více než 62 %, avšak méně než 80 %.
B. Tuky Výrobky ve formě tuhé, tvárné emulze, převážně typu voda v oleji, získané z tuhých a/nebo tekutých rostlinných a/nebo živočišných tuků vhodných pro lidskou spotřebu, s obsahem mléčného tuku nejvýše 3 % z celkového obsahu tuku	1. Margarín	Výrobek získaný z rostlinných a/nebo živočišných tuků s obsahem tuku nejméně 80 %, avšak méně než 90 %.
	2. Tříčtvrtětučný margarín	Výrobek získaný z rostlinných a/nebo živočišných tuků s obsahem tuku nejméně 60 %, avšak nejvýše 62 %.
	3. Polotučný margarín	Výrobek získaný z rostlinných a/nebo živočišných tuků s obsahem tuku nejméně 39 %, avšak nejvýše 41 %.
	4. Roztíratelný tuk X %	Výrobek získaný z rostlinných a/nebo živočišných tuků s tímto obsahem tuku: — méně než 39 %, — více než 41 %, avšak méně než 60 %, — více než 62 %, avšak méně než 80 %.
C. Tuky složené z rostlinných nebo živočišných tuků Výrobky ve formě tuhé, tvárné emulze, převážně typu voda v oleji, získané z tuhých a/nebo tekutých rostlinných a/nebo živočišných tuků vhodných pro lidskou spotřebu, s obsahem mléčného tuku mezi 10 % a 80 % z celkového obsahu tuku.	1. Směsné tuky	Výrobek získaný ze směsi rostlinných nebo živočišných tuků s obsahem tuku nejméně 80 %, avšak méně než 90 %.
	2. Tříčtvrtětučné směsné tuky	Výrobek získaný ze směsi rostlinných nebo živočišných tuků s obsahem tuku nejméně 60 %, avšak nejvýše 62 %.
	3. Polotučné směsné tuky	Výrobek získaný ze směsi rostlinných nebo živočišných tuků s obsahem tuku nejméně 39 %, avšak nejvýše 41 %.
	4. Roztíratelné směsné tuky X %	Výrobek získaný ze směsi rostlinných nebo živočišných tuků s tímto obsahem tuku: — méně než 39 %, — více než 41 %, avšak méně než 60 %, — více než 62 %, avšak méně než 80 %.

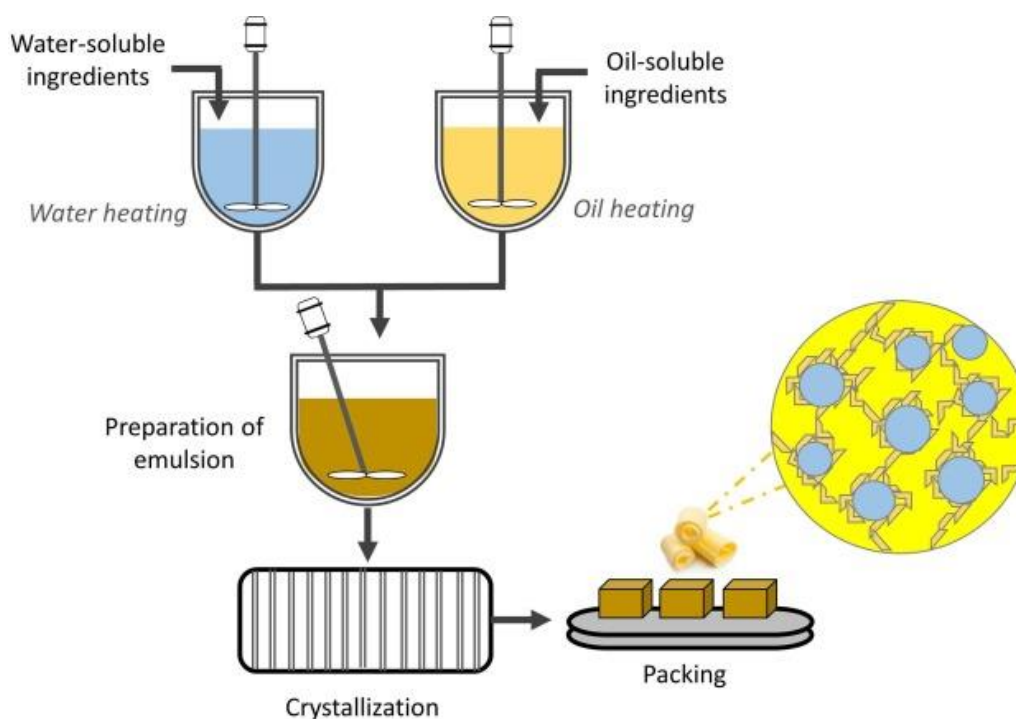
Pro lepší orientaci v problematice dělení margarínů na základě typu tuku/oleje je přiložena tabulka z vyhlášky č. 397/2016 Sb., kde můžeme vyčíst jaké skupiny margarínů se vyrábí.

Tabulka 4 - Základní členění jedlých tuků a olejů dle Vyhlášky č.397/2016 Sb. [2]

Druh	Skupina	Podskupina
Jedlý tuk nebo jedlý olej	rostlinný	jednodruhový
		vícedruhový
	živočišný	vepřové sádlo, vepřový tuk
		výběrový hovězí lůj, hovězí lůj
		tuk nebo olej podle druhu živočicha
	ztužený	plně
		částečně
	pokrmový	
	roztíratelný	
	směsný roztíratelný	
tekutý emulgovaný		

1.5 Výroba margarínů

Tradiční výroba margarínů se skládá z pěti hlavních fází, které jsou zakresleny na obrázku 3. Mezi tyto kroky patří příprava vodné fáze, příprava tukové fáze, emulgace, krystalizace a balení/zrání[11].



Obrázek 3 – Schéma hlavních kroků při výrobě margarínů [11]

1.5.1 Vodná fáze

Nejprve se připraví vodná fáze, ve které jsou obsaženy látky rozpustné ve vodě, jako je chlorid sodný, antioxidanty, regulátory kyselosti, sušené mléko, konzervační látky a další. Tyto složky jsou rozpuštěny ve vodě, aby se lépe smísily s konečným produktem. Vodná fáze je zahřáta na 60 °C, aby během emulgace nedocházelo ke snížení teploty, která může způsobit předčasnou krystalizaci složek s nejvyššími teplotami tání [12].

1.5.2 Tuková fáze

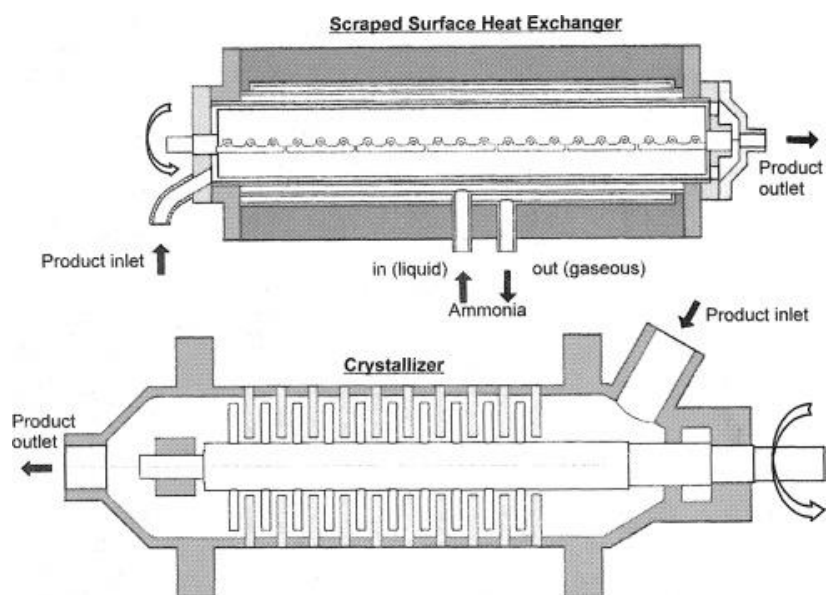
Tuková fáze se skládá z olejů i tuků (částečně hydrogenovaných, esterifikovaných, frakcionovaných nebo jiných) a lipofilních složek, jako jsou emulgátory (lecitin, monoacylglyceroly, polyglycerolestery mastných kyselin, sorbitan monostearát, sorbitan tristearát atd.), barviva (β -karoten, urucum, kurkumin nebo extrakty z kurkumy), antioxidanty a vitamíny (A, D a E). Její příprava se provádí v samostatné nádrži za míchání a zahřívání nad bodem tání oleje nebo tuku [12].

1.5.3 Emulgace

Když jsou připraveny obě fáze, dojde k jejich zahřátí a tyto složky jsou smíchány v emulgační nádrži. Emulgační nádrž je vybavena dvojitým pláštěm, ve kterém jsou umístěny trubky pro přívod horké nebo studené vody, aby bylo možné regulovat teplotu emulze. Nezbytností emulgační nádrže jsou také míchadla, emulze je míchána 10–15 minut. Poté před přenesením emulze do chladicí jednotky je teplota emulze zvýšena o 2–3 °C nad bod tání dané emulze, aby se zabránilo tvorbě mikroskopických krystalů. Zvolená teplota je zvolena dle vývoje emulze, aby se zabránilo jakékoli rané krystalizaci. Správně připravená emulze má v olejové fázi jemně rozptýlené kapičky vody [11].

1.5.4 Krystalizace

Po emulgaci nastává proces krystalizace probíhající v krystalizátoru. Při krystalizaci dochází k tvorbě a zrání krystalů, což je hlavním a klíčovým krokem při zpracování margarínů [11]. Krystalizátor (Obrázek 3) se skládá z výměníku tepla a řízenou teplotou mezi 10–22 °C. Výměník tepla funguje tak, že během provozu je produkt přiveden do kontaktu s teplým povrchem výměníku, který je rychle a nepřetržitě škrábán, díky tomu se na teplý povrch dostává stále čerstvý materiál. Lopatky škrabek zajišťují kromě škrábání povrchu i nepřetržité míchání emulze [13].



Obrázek 4 - Schématický náčrt krystalizátoru [14]

Snížením teploty se podporuje tvorba mnoha krystalizačních zárodků, ze kterých probíhá následná krystalizace. Tyto krystaly se nejdříve tvoří na stěnách, které jsou ochlazovány chladícím médiem, pak jsou seškrabávány a shromažďovány mimo krystalizátor pomocí potrubí na odvod hotového produktu na obrázku 4. Pokud je chlazení pomalé, vytvoří se několik velkých krystalických jader. Naopak pokud je chlazení rychlé, vytvoří se několik zárodků malých krystalů [11]. Vliv na výsledné vlastnosti jako jsou konzistence a plasticita margarínů má obsah triacylglycerolů a průběh krystalizace. Například nežádoucí krystalizační chování, jako je růst granulárních krystalů, ovlivňuje měkkost a roztíratelnost margarínu [15].

Na obrázcích 5 a 6 je votátor, který se také využívá při výrobě margarínů. Votátor umožňuje smíchat vodnou a tukovou fázi před a v průběhu krystalizace, aby tukové částice byly jemně dispergované ve vodné fázi a krystalizace lépe probíhala. Na obrázku 7 jsou vnitřní části krystalizátoru.

Na obrázku 5 můžete vidět schéma moderního votátoru, kde a) je vysokotlaká dávkovací pumpa, která vhání směs do nádob s různými teplotami kde probíhá řízená krystalizace [8].

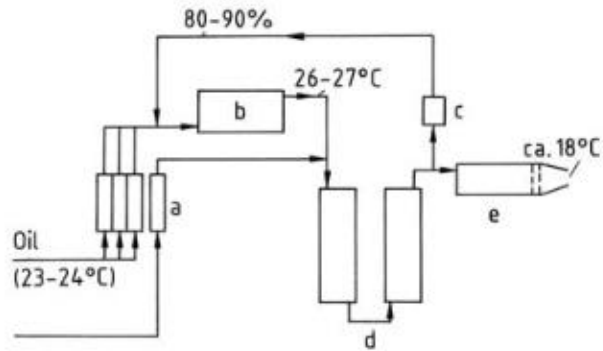
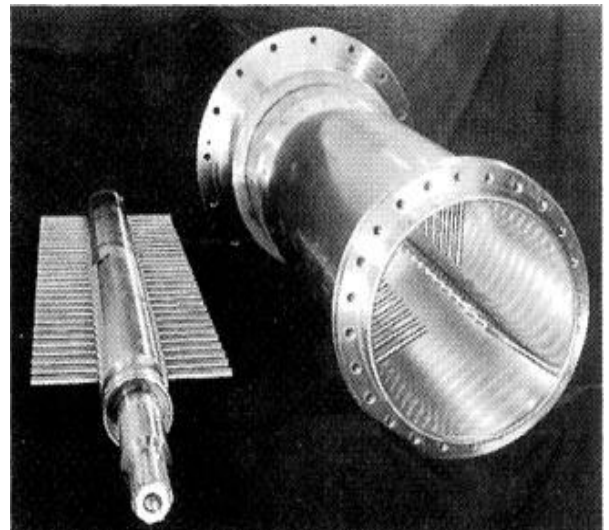


Figure 3. Schematic diagram of a votator plant with pre-crystallization and recycling (Unilever) a) High-pressure metering pump; b) C unit; c) Pump; d) A unit; e) B unit

Obrázek 5 - Schéma moderního votátoru [8]



Obrázek 6 - Obrázek votátoru od firmy AxFlow [16]



Obrázek 7 - Obrázek vnitřní části krystalizátoru [14]

Pokud teplota krystalizace podléhá mnoha výkyvům, může být ovlivněna stabilita emulze. Za kritické body krystalizace se považují nedostatečná krystalizace a nadměrná krystalizace. Nedostatečná krystalizace může vést k margarínům s nízkým leskem, malou krémovostí, hrudkami, nízkou plasticitou a křehkým vzhledem. Nadměrná krystalizace způsobuje, že margarín má nadměrný lesk a krémovitost, mastný vzhled, nízkou hustotu a olej z olejové fáze se usazuje ve větší vrstvě na povrchu margarínu [11].

Když krystalizace probíhá řízeným způsobem, tukové krystaly představují β' polymorfní formu, která je vhodná pro margaríny [12].

1.5.5 Historie margarínů a počátky výroby

Margaríny vynalezl francouzský chemik Hippolyte Mege Mou-Ries v roce 1869 za účelem nahradit máslo a vyřešit jeho nedostatek během průmyslové revoluce. Jméno margarine bylo odvozeno z řeckého slova „margarites“, což znamená perla [2]. Pan Mege si nechal vynález margarínu patentovat ve Francii a Anglii, ale k velkému vývoji došlo v Holandsku. Zde prodal svůj vynález obchodníkům s máslem Johannesovi a Antonovi Jurgensovi. Ve stejné lokalitě byla ovšem další rodina obchodníků s máslem Simon a Henry Van den Berghovi, kteří později měli spojit síly s Jurgensovými a nakonec se stali největšími výrobci margarínu na světě. Následovala výroba ve většině zemí Evropy jako je Rakousko (1873/4), Itálie (1874), Německo (1874), Norsko (1876) a Dánsko (1883), které bylo později největším spotřebitelem margarínu na osobu. Pan Mege požádal také o patent ve Spojených státech, který byl udělen v roce 1874 [17].

Margaríny se vyráběly nejprve ze sádla či hovězího loje, do kterého byly přidávány tekuté oleje, aby se snížila jejich teplota tání [17]. Lůj byl zchlazen a ponechán reagovat s umělou žaludeční šťávou, aby došlo k částečné krystalizaci tuku. Díky tomuto procesu byl získán olein (polotekutá frakce), která byla míchána v odstředěném mléce, dokud neztuhla. Tato tuhá směs byla zfiltrována, osolena a prodávána jako jedna z prvních náhražek másla [2].

Ztužování neboli hydrogenace spočívá v reakcích nenasycených tuků s vodíkem, čímž dochází ke zvýšení teploty tání a v některých případech ke zvýšení jejich oxidační stability [18]. Tento postup zavedl Wilhelm Normann v roce 1903 a dnes se již při výrobě margarínu téměř nepoužívá, protože některé cis-konfigurace dvojných vazeb se při hydrogenaci mohou změnit na konfigurace trans, čímž vznikají transmastné kyseliny, které jsou pro lidské tělo velmi nezdravé [19].

Přeskupení zvané také interesterifikace zahrnuje výměnu skupin mastných kyselin mezi glyceridy nebo v nich, za účelem vytvoření nových glyceridových složek. Eddy Eckey přetvořil tuto metodu vhodnou pro výrobu margarínů zavedením katalyzátorů na bázi alkalických kovů v roce 1948 [18].

Dalším velkým vývojem ve výrobě margarínu bylo zavedení votátoru v roce 1936, který umožňoval, aby přísady (tj. tuková fáze, vodná fáze a minoritní složky) byly předem smíchány a tukové částičky byly rozdrceny a zchlazeny. To způsobí, že vodná fáze je jemně a stejnoměrně dispergována v tukové fázi, ale také to dává výrobcovi větší stupeň kontroly nad konečnou strukturou produktu [18].

1.6 Základní charakteristika olejů, tuků a margarínů

Margaríny jsou emulze vody v tuku, jak už je zmíněno výše, a proto u nich lze stanovit téměř stejné parametry jako u olejů, s případnou úpravou vzorku. Jednou z nich je izolace tuků například extrakcí a následné provedení analýz jako u čistých olejů a tuků.

1.6.1 Stanovení obsah tuků v potravinách

1.6.1.1 Stanovení dle Soxhleta

Tato metoda je vhodná především pro potraviny s nízkým obsahem vody, především olejiny a různá semena. Tuto metodu je možné použít pro margaríny s vysokým obsahem tuku [20].

Tuk se extrahuje semikontinuálně organickým rozpouštědlem (povětšinou petrolether, n-pentan nebo n-hexan) v Soxhletově extraktoru, do kterého je vložena extrakční patrona s rozmělněným vzorkem a přilito extrakční rozpouštědlo. Rozpouštědlo se zahřeje, odpaří a poté kondenzuje v chladiči nad vzorkem. V této analýze velmi záleží na použitém rozpouštědle, proto je třeba vždy uvést jakým rozpouštědlem byl vzorek extrahován. Rozpouštědlo postupně kape na vzorek a dochází k extrakci tuků. V 15–20 min v intervalech se rozpouštědlo odsává do zahřívací baňky a celý proces se opakuje dokud není vyextrahován všechen tuk ze vzorku [15].

Obsah tuku se měří dle ztráty hmotnosti vzorku nebo hmotnosti odstraněného tuku. Tuk se extrahuje do vysušené a zvážené baňky. Po dokončení extrakce je baňka dosušena v sušárně, aby se odpařil zbytek rozpouštědla, a po zchladnutí zvážena [21].

1.6.1.2 Extrakce směsí rozpouštědel

Tato metoda vyžaduje u některých vzorků jistou úpravu vzorku, která musí předcházet před samotnou extrakcí. Tato úprava je nutná například u mléčných výrobků, mouky a pečiva, protože z těchto vzorků se tuk neuvolní pouhou reakcí s rozpouštědlem. Tuk je vázán spolu s proteiny a sacharidy, a tak se nejprve musí použít kyselá nebo alkalická hydrolýza, aby se tuk mohl uvolnit z vazby a být extrahován [22].

Princip této metody spočívá v rozpuštění vzorku v rozpouštědle a protřepání, popřípadě použití centrifugy, dokud se ze vzorku neuvolní tuk do rozpouštědla. Poté se obě fáze nechají ustálit a odebere se tuková fáze s rozpouštědlem do předem vysušené a zvážené nádoby. Extrakce se provádí opakovaně alespoň třikrát. Tuk s rozpouštědlem se odpaří na odpařovací aparatuře a nechá vysušit v sušárně, poté se zváží a stanoví jeho obsah [21, 23].

Extrakci lze provádět různými rozpouštědly stejně jako Soxhletovu metodu, ale nejvíce je používán petrolether nebo chloroform v kombinaci s methanolem či ethanolem. Rozpouštědla

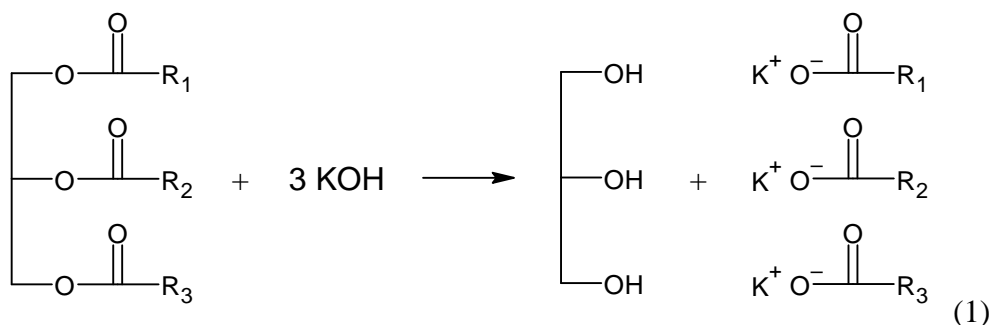
a konkrétní postup se liší, dle analyzované potraviny. V případě margarínů a olejů se používá petrolether s ethanolem, u mléčných výrobků je možné využít i diethylether. Touto metodou lze extrahovat živočišné produkty jako je tavený sýr nebo třeba margaríny [21].

1.6.2 Stanovení tukových čísel

Stanovení tukových čísel slouží k charakterizaci tuku, oleje nebo v rámci této práce především margarínů. Mezi tuková čísla patří charakterizující základní vlastnosti acylglycerolů patří číslo zmýdelnění, číslo kyselosti, peroxidové číslo, thiobarbiturové číslo, p-anisidinové číslo a jodové číslo.

1.6.2.1 Číslo zmýdelnění

Zmýdelnění (saponifikace, Obrázek 7) je proces odbourávání, respektive rozklad neutrálního tuku na glycerol a sůl mastné kyseliny.



Obrázek 8 – Chemická reakce zmýdelnění triacylglycerolu

Hodnota zmýdelnění (číslo zmýdelnění) je definováno jako množství alkálie nutné k tomu zmýdelnit dané množství tuku nebo oleje. Vyjadřuje se jako miligramy KOH potřebné ke zmýdelnění 1 g vzorku [22, 24].

Ke vzorku se přidá přebytek alkoholického hydroxidu draselného a roztok se zahřeje, aby se tuk zmýdelnil. Nezareagovaný hydroxid draselný se zpětně titruje standardizovanou HCl za použití fenolftaleinu jako indikátoru. Hodnota zmýdelnění je užitečná pro stanovení průměrné délky řetězce mastných kyselin oleje nebo tuku [22].

1.6.2.2 Číslo kyselosti

Číslo kyselosti neboli také číslo volných mastných kyselin. Kyselost odráží množství volných mastných kyselin hydrolyzovaných z triacylglycerolů. Číslo kyselosti je definované jako množství KOH v mg potřebné na zneutralizování 1 g vzorku [24].

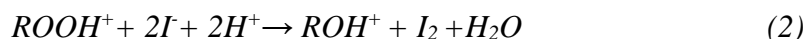
Vzorek se rozpustí v polárních rozpouštědlech a titruje roztokem hydroxidu draselného za přídavku fenolftaleinu jako indikátoru s intervalem přechodu v mírně alkalické oblasti. Metoda je vhodná pro tuky, oleje nebo mastné kyseliny [21, 25].

V rafinovaných tucích vysoká úroveň kyselosti znamená špatně upravený tuk nebo rozklad tuku po skladování nebo použití. U tuků a olejích je vysoká titrační kyselost nad 0,6 mgKOH/g. Pokud některé vzorky mají vysokou hodnotu kyselosti může to být způsobeno kyselými přísadami (např. kyselina citrónová přidaná jako chelátor kovů). Když jsou mastné kyseliny uvolněné ze vzorku těkavé, může být hodnota FFA neboli číslo kyselosti ukazatelem hydrolytického žluknutí [22].

1.6.2.3 Peroxidové číslo

Peroxidové číslo je definováno jako miliekvivalent (mEq) peroxidu na kilogram vzorku. Princip stanovení spočívá v tom, že sloučeniny reagující za podmínek testu jsou hydroperoxydy nebo podobné produkty oxidace lipidů [22]. Hydroperoxydy nenasycených lipidů uvolní v kyselém prostředí z jodidu jód, který se stanoví titračně. Metoda je vhodná pro oxidované tuky s výjimkou tuků oxidovaných při vysoké teplotě [21]. Tato hodnota je cenným ukazatelem ranných fází oxidace [26]. Hodnoty peroxidových čísel jsou většinou pod hranicí 10 mEq/kg a to u margarínů, u olejů lisovaných za studena může být tato hranice až 15 mEq/kg.

Hodnota hydroperoxidu se vypočítá dle vzorce v experimentální části - viz. laboratorní postupy [22,27]. Jedná se o redoxní titrační stanovení Z rovnice 2 a 3 můžeme vidět průběh reakce kde $ROOH^+$ značí vzorek, respektive peroxid nebo hydroxyperoxid. Dále zde máme jodidový anion, který je oxidován na jód, jež reaguje s thiosíranem v rovnici 3, kterým se roztok titruje.



Vzorek tuku nebo oleje se rozpustí ve směsi koncentrované kyseliny octové a isooktanu nebo chloroformu. Po přidání přebytku jodidu draselného, který reaguje s peroxidy, se uvolní jód. Roztok se poté titruje standardizovaným thiosíranem sodným za použití indikátoru škrobového mazu.

1.6.2.4 Thiobarbiturové číslo

Test na kyselinu thiobarbiturovou (TBA) byl zkoumán jako indikátor oxidativního žluknutí. Test zahrnuje reakce TBA s aldehydy ve vzorku za vzniku chromogenu, který pak může být stanoven spektrofotometricky při 450, 530 nebo 538 nm, výsledky jsou vyjádřeny v mg

malonaldehydu na kg vzorku. Malonaldehyd, je produkt peroxidace lipidů, je považován za hlavní přispěvatel k tvorbě chromogenu [26].

1.6.2.5 *p*-anisidinové číslo

P-anisidinovým číslem se stanovuje množství α - a β -nenasycených aldehydů (hlavně 2-alkenaly a 2,4-dienály), což jsou produkty sekundární oxidace v tucích a olejích [22]. Hodnota *p*-anisidinu je empiricky definována jako stonásobek absorbance roztoku vzniklého reakcí 1 g tuku nebo oleje ve 100 ml směsi rozpouštědla a *p*-anisidinu, měřeno při 350 nm v 10 mm kyvetě za podmínek testu [26].

Tento test je zvláště užitečný pro oleje se nízkou hodnotou peroxidového čísla (např. oleje na smažení), stanovuje totiž jiné oxidační produkty než peroxidové číslo a pomáhá odhalit skutečné stadium oxidace olejů. Tento test nahradil benzidinový test, který byl vyvinut pro stanovení obsahu aldehydů v oxidovaných tucích [26].

1.6.2.6 Jodové číslo

Jodové číslo vyjadřuje stupeň nenasyčení, což je počet uhlíkových dvojných vazeb ve vztahu k množství tuku nebo oleje. Existuje několik metod, jak lze stanovit jodové číslo. Mezi nejvýznamnější metody patří stanovení dle Hanuše, a stanovení dle Wijse. Hlavní rozdíl mezi metodami je v rozdílném halogenu, který se ke stanovení používá, jinak jsou metody velmi podobné [21]. V této práci je používána metoda dle Hanuše, kde je přidáváno Hanušovo činidlo neboli IBr (směs halogenů). Zatímco v případě stanovení dle Wijse se přidává roztok halogenu (jodtrichlorbromidu). Oba tyto roztoky obsahují koncentrovanou kyselinu octovou. Postup dle Wijse může být upřednostňován pro vysoce nenasyčené oleje, protože reaguje rychleji s dvojnými vazbami [22].

Principem této metody je navázání halogenu na dvojně vazby mastných kyselin. Nespotřebované množství halogenu se následně stanoví titrací. Vzhledem k tomu, že existuje mnoho modifikací stanovení jodového čísla, je třeba vždy uvést přesnou použitou metodu. Adici halogenů lze urychlit přidávkem rtuťnatých solí jako katalyzátoru [21].

Jodové číslo je definováno jako gramy jódu absorbovány na 100 g vzorku. Čím vyšší nenasyčenost, tím více jódu je absorbováno a tím je vyšší jodové číslo. Běžnou praxí je stanovit vypočítané jodové číslo ze složení mastných kyselin. Jodové číslo se používá především ke sledování hydrogenace při rafinaci a jako indikace oxidace lipidů, protože během oxidace dochází k poklesu nenasyčenosti [22].

1.6.2.7 Konjugované dieny

Oxidace polynenasycených mastných kyselin je doprovázena zvýšenou absorpcí ultrafialového záření. Mastné kyseliny s konjugovanými vazbami silně absorbují v oblasti 230 až 375 nm, nenasycené dieny při 234 nm a nenasycené trieny při 268 nm. Tuto metodu je vhodné použít pouze pokud známe složení mastných kyselin ve vzorku, jinak může být velmi nepřesná. Tato metoda je použitelná pro analýzu peroxidů v rostlinných olejích obsahující polynenasycené mastné kyseliny [28].

1.7 Žluknutí tuků

Žluknutí je proces typický nepříjemným zápachem a chutí jedlých tuků a olejů. Tento proces je způsoben oxidativní nebo hydrolytickou degradací tuků, neboli lipolýzou [26]. Kvůli těkavosti mastných kyselin s krátkým řetězcem může hydrolyza způsobit zápach [22].

Oxidace lipidů (také nazývaná autooxidace) se vyskytuje ve velkém množství tuků a olejů, probíhá udržováním mechanismu volných radikálů, který je popsán v následující kapitole [22]. Tento rozklad může mít za výsledek mnoho produktů, které jsou toxické. Některé z produktů mohou být například aldehydy, hydroperoxydy a epoxidy. Vznik a vývoj žluknutí ovlivňuje mnoho faktorů, včetně stupně nenasycenosti oleje, typu a koncentrace antioxidantů, prooxidantů a dalších přítomných stopových kovů. Také zde hraje roli dostupnost kyslíku, plocha povrchu, obsah vlhkosti, teplota a světlo [26].

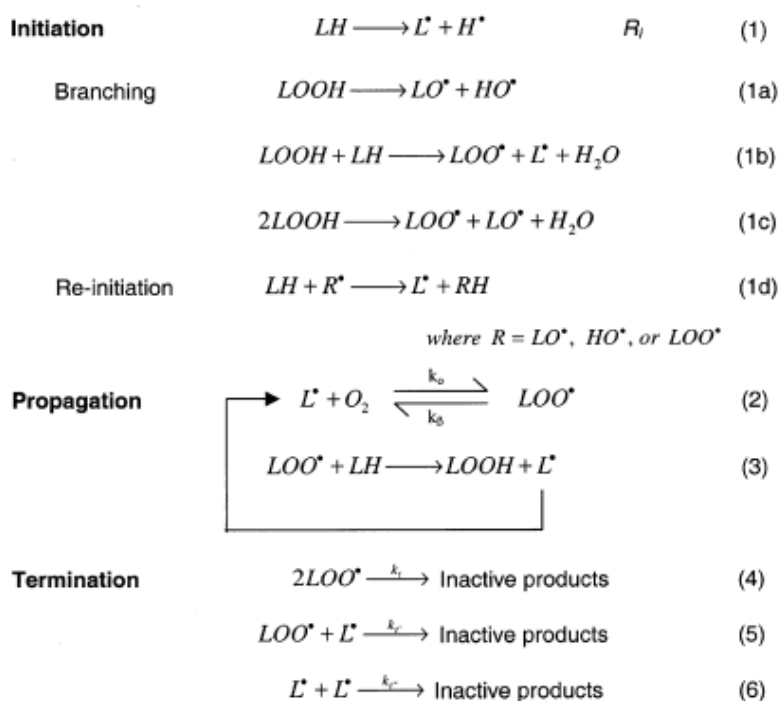
Mezi způsoby měření oxidace lipidů se zahrnuje *p*-anisidinové číslo, měření těkavých organických sloučenin (například aldehydů) a měření látek reaktivních s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS). Jiné metody sledující oxidaci lipidů zahrnující jodové číslo, číslo kyselosti, měření konjugovaných dienů a trienů, těkavé karbonylové sloučeniny, polární sloučeniny, uhlovodíky a plyny. Vzhledem k tomu, že žluknutí je velmi měnící se proces závislý na podmínkách skladování, doporučuje se použít dvě nebo více metod pro stanovení úrovně žluknutí [22].

1.7.1 Autooxidace

Autooxidace je proces, který vede ke žluknutí tuků a olejů, a jak už je zmíněno výše, vzniká díky němu velké množství produktů, jež mají vliv na vlastnosti tuků. Tento proces probíhá prostřednictvím mechanismu volných radikálů [4]. Mechanismus má své tři typické kroky nazývající se iniciace, propagace a terminace [5].

Na obrázku 9 můžete vidět schéma radikálové reakce se všemi třemi kroky. Pod písmenem L si můžeme představit uhlovodíkový zbytek, který se později mění na uhlovodíkový radikál.

Iniciace je prvním krokem tohoto mechanismu, kdy se tvoří volné radikály, tento krok je vyvolán světlem, teplem nebo kovovými ionty. Výsledkem je alkylový volný radikál reagující s vzdušným kyslíkem. Touto reakcí vznikne nestabilní peroxidový radikál, který je schopen napadnout další vodíkový atom na nenasycené mastné kyselině a vytvořit tak další volný alkylový radikál. Tento volný radikál iniciuje další procesy a pokračuje tak řetězová reakce [5]. V této fázi, kdy se tvoří další a další radikály, se jedná již o fázi propagace. Propagace je jediný krok určující rychlost celé autooxidace [6]. Ve fázi propagace máme šipkou naznačené, že tento proces se opakuje, dokud nedojde k terminaci. V terminační fázi můžeme vidět různé typy radikálů reagující za vzniku nereaktivního produktu.



Scheme 1.2.

Obrázek 9 - Mechanismus radikálové autooxidace tuků [29]

Reaktivita methylenové skupiny se zvyšuje s počtem dvojných vazeb v mastných kyselinách, proto se kyselina linolová oxiduje 10 až 20krát rychleji než kyselina olejová. Nenasycené kyseliny s velkým počtem dvojných vazeb mohou být náchylnější k oxidaci [4]. Tyto reakce budou probíhat tak dlouho, dokud nedojde k jejich ukončení reakcí dvou radikálů za vzniku neradikálového produktu nebo vlivem antioxidantů, jež zachytí poškozující radikály v nereaktivní formě po darování atomu vodíku peroxidovému radikálu [6]. Ukončení těchto radikálových reakcí se nazývá terminace.

1.7.2 Primární oxidační změny

Mezi primární oxidační změny patří zejména tvorba peroxidů a hydroxyperoxidů. Také rozkládání mastných kyselin je jednou z primárních změn, což souvisí i s úbytkem dvojných vazeb v nich obsažených. Další změnou může být i zvýšení hmotnosti [5]. Metody, které se využívají ke stanovení primárních produktů oxidace patří peroxidové číslo, měření indexu stability, stanovení konjugovaných dienů a jodového čísla, popřípadě plynová chromatografie na stanovení mastných kyselin ve vzorku.

1.7.3 Sekundární oxidační změny

Sekundárními produkty oxidace jsou především aldehydy, epoxidy a cyklické epoxidy, obecně ketony a další. Mezi metody, kterými lze měřit sekundární oxidační změny, patří thiobarbiturové číslo, oxiranová hodnota, *p*-anisidinové číslo, a stanovení karbonylových, uhlovodíkových a fluorescenčních produktů [28].

1.8 Schallův test pece

Schallův test pece se využívá jako prostředek k rychlému stanovení oxidační stability. Nyní je to doporučená praxe AOCS (AOCS metoda Cg 5-97). Oxidační stabilita je odolnost proti oxidačním změnám, vzorky s vyšším obsahem nenasycených mastných kyselin mohou mít nižší hodnoty oxidační stability [21,22].

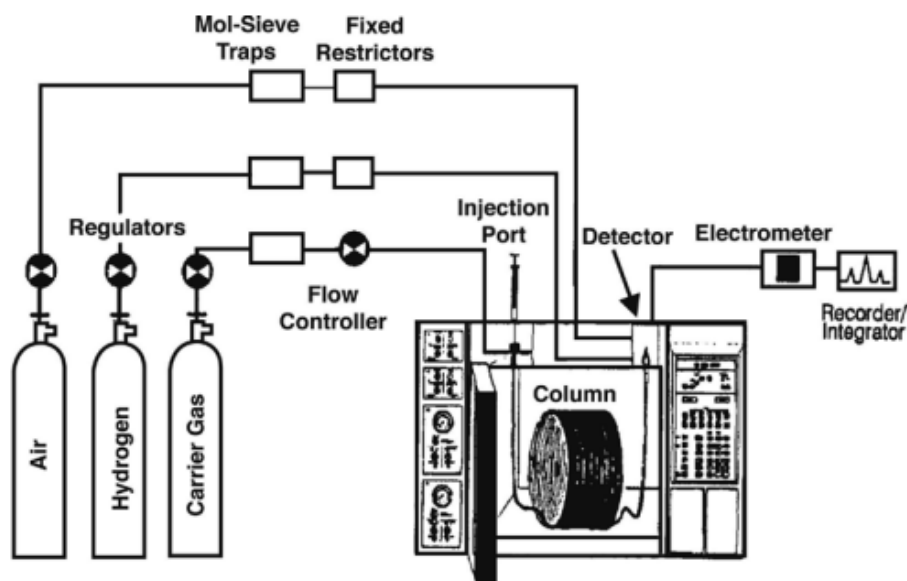
Tento test spočívá v umístění tuku nebo oleje o daném objemu do pece při teplotě vyšší než je teplota okolí, ale méně než 80 °C, doporučuje se 60 °C. Taková teplota je vhodná k zrychlenému procesu žluknutí, které je zde stejné jako při pokojové teplotě. Testy by měly být prováděny v tmavém prostředí, vzorek by měl být ideálně čerstvý a poměr povrchu k objemu oleje musí být stejný pro všechny vzorky. K určení indukční periody, neboli oxidační stability, je nutné spojit Schallův test s jinými metodami zjišťování stupně žluknutí, např. senzorické hodnocení a peroxidové číslo. Ke stanovení rozsahu oxidace by měla být použita více jak jedna metoda, doporučuje se měření jednou metodou primární produkty oxidace lipidů (např. hodnota, konjugovaných dienů) a jinou metodou se zjišťuje obsah sekundárních produktů (např. *p*-anisidinové číslo a senzorické hodnocení). Výsledky oxidační stability stanovené při přibližně 60 °C dobře korelují s určením skutečné doby použitelnosti [22].

Další metoda založená na podobném principu se nazývá stanovení stability tuků za použití autooxidace metodou aktivního kyslíku. Tuk zahříváný stálou teplotou je oxidován proudem vzduchu a stanoví se doba potřebná k dosažení určeného stupně oxidace. V určitých časových intervalech jsou odebírány vzorky ke stanovení peroxidového čísla. Při dosažení peroxidového

číslo 75 mEq/kg se další vzorek odebere přibližně až za hodinu. Konec testu se stanoví, když je hodnota peroxidového čísla 100 mEq/kg [21]

1.9 Mastné kyseliny pomocí GC

Mastné kyseliny přítomné v olejích a tucích značně ovlivňují jejich fyzikální a chemické vlastnosti. Jednou z možností, jak zjistit zastoupení MK ve vzorku tuku, je plynová chromatografie (GC). Hlavní částí GC je přívod a regulátor průtoku plynu, nástavec pro nástřik vzorku, termostat, kolona, detektor, elektronika a systém na zpracování dat (Obrázek 10) [30].



Obrázek 10 - Schéma plynového chromatografu [30]

Hlavním prvkem plynového chromatografu je kolona, jemná trubice s kapalinou potaženou na vnitřním povrchu. Nosný plyn, helium nebo vodík, prochází přes zařízení pro řízení tlaku do injektoru vzorku na vstupu do kolony. Když oddělené složky ze směsi vystupují z kolony, jsou detekovány změřením chemické nebo fyzikální vlastnosti. Mezi nejznámější typy detektorů patří plamenový ionizační detektor, detektor elektronového záchytu a hmotnostní spektrometr jako detektor. Samozřejmě se využívají i další detektory, ale ty už méně [31].

Plynová chromatografie využívá vysokých teplot k odpaření sloučenin, které jsou následně rozděleny na koloně, která obsahuje stacionární a mobilní fázi [24].

Strukturní informace a selektivita dostupné z hmotnostní spektrometrie (MS) činí z kombinace MS s GC nejučinnější techniku pro analýzu komplexních směsí. Ionty produkované elektronovou nebo chemickou ionizací, jsou tříděny dle molekulové hmotnosti (nebo poměru

hmotnosti k náboji, tedy m/z , poměru). Důležitou součástí MS je hmotnostní analyzátor. Mezi nejpoužívanější patří kvadrupólový analyzátor, analyzátor doby letu nebo sektorový analyzátor. Výsledné hmotnostní spektrum souvisí s molekulovou hmotností a strukturou analytu a umožňuje identifikaci prostřednictvím srovnání s knihovnou těchto spekter [31].

Mastné kyseliny se musí přeměnit na deriváty s nižším bodem varu, jako jsou například alkoholické estery. Mastné kyseliny se nejprve zmýdelní hydroxidem sodným nebo hydroxidem draselným, poté je navázána methylová skupina, a to činidlem jako je bortrifluorid methanol nebo s methanolovými kyselinami [32]. Poté co je vzorek upraven na methyl estery. Mohou být takto upravené vzorky vpraveny do přístroje pomocí injekční stříkačky. Na koloně jsou tyto vzorky rozdělovány dle jednotlivých molárních hmotností. Poté jsou detekovány pomocí detektoru s hmotnostním spektrometrem. Jednotlivé mastné kyseliny jsou na chromatogramu zaznamenány jako jednotlivé píky s odlišnými elučními časy. Z ploch pod píkem je vypočten obsah jednotlivých kyselin ve vzorku [21].

1.10 Přípustné hodnoty tukových čísel a další parametry

V tabulce 5 a 6 jsou uvedeny maximální hodnoty tukových čísel, které jsou ještě přípustné pro rostlinné oleje, tuky a jejich směsi dle Vyhlášky č. 328/1997 Sb. Dále zde najdeme hodnoty jodového čísla pro konkrétní rostlinné oleje. Z těchto hodnot můžeme vycházet při měření jodového čísla margarínů v experimentální části, kdy se budou jodová čísla margarínů měnit dle obsahu jednotlivých olejů.

Tabulka 5 - Tabulka hodnot přípustných parametrů pro rostlinné tuky a oleje a jejich směsi [33]

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 takto deklarované	mg KOH/g	max. 4,0
Číslo peroxidové	mEq./kg	max. 10,0
Číslo peroxidové pro oleje lisované za studena takto deklarované	mEq./kg	max. 15,0
Látky těkavé při 105 °C	%	max. 0,2

Tabulka 6 - Tabulka hodnot přípustných parametrů pro rostlinné oleje jednodruhové [33]

Hodnoty pro jednotlivé jednodruhové rostlinné tuky a oleje						
	Řepkový s nízkým obs. kys. erukové	Palmový	Slunečnicový	Sójový	Kokosový	Olivový
Číslo zmýdelnění	182–193	190–209	188–194	189–195	248–265	188–196
Jodové číslo (dle Wijse)	105–126	50–55	118–141	124–139	6,3–10,6	80–88

V tabulce 7 a 8 jsou sepsány maximální přípustné hodnoty čísel kyselosti a peroxidových čísel pro margaríny a směsné emulgované tuky a podobné upravené produkty s podobným složením pouze s nižším obsahem tuku.

Tabulka 7 - Tabulka hodnot tukových čísel přípustných pro margaríny [33]

	Obsah tuku % hmotn.	Číslo kyselosti mg KOH/g tukové fáze	Číslo peroxidové mekv. per. kysl./kg
Margarín	80,0–90,0	max. 2,0	max. 10,0
Margarín se sníženým obsahem tuku nebo halvarín	60,0–62,0		
Margarín s nízkým obsahem tuku	39,0–41,0		
Tuk s bližším určením účelu použití X %	<39,0>41,0<60,0 >62,0<80,0		

Tabulka 8 - Tabulka hodnot tukových čísel přípustných pro emulgované tuky [33]

	Obsah tuku % hmotn.	Číslo kyselosti mg KOH/g tukové fáze	Číslo peroxidové mekv. per. kysl./kg
Směsný emulgovaný tuk	80,0–90,0	max. 2,0	max. 10,0
Směsný emulgovaný tuk se sníženým obsahem tuku	60,0–62,0		
Směsný emulgovaný tuk s nízkým obsahem tuku	39,0–41,0		
Směsný emulgovaný tuk s bližším určením účelu použití X %	<39,0>41,0– <60,0>62,0 – <80,0		

Pro účely této bakalářské práce budou brány tyto maximální hodnoty uvedené v tabulkách výše jako hraniční hodnoty, které když přesáhne vzorek, tak bude považován za nevhodný ke konzumaci, a tudíž zkažený.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Vzorky margarínů

Seznam margarínů s pořadím používaným níže v této práci:

1. Stella originál 80 % tuku (Vz1-80)
2. Stella cukrářská 82 % tuku (Vz2-82)
3. Hera 70 % tuku (Vz3-70)
4. Rama originál 75 % tuku (Vz4-75)
5. Alfa 70 % tuku (Vz5-70)
6. Olma-Zlatá Haná 74 % tuku (Vz6-74)
7. Flora gold 60 % tuku (Vz7-60)
8. Flora original 39 % tuku (Vz8-39)

2.1.1 Stella originál s máslovou příchutí 250 g – Vz1-80



Obrázek 11 - Balení Stella originál [34]

Vlastnosti: 80 %, snadné zpracování, pro všechny druhy pečení, nová receptura pro snadné zpracování, na všechny druhy pečení s máslovou příchutí

Složení: rostlinné oleje (řepkový, palmový), palmový tuk, pitná voda, emulgátory: slunečnicový lecitin, mono- a diglyceridy mastných kyselin, sušená syrovátka, jedlá sůl, Konzervant: sorban draselný, regulátor kyselosti: kyselina citronová, přírodní máslové aroma, Barvivo: β -karoten, vitamíny (vitamín A, vitamín D), Obsah tuku: 80 %

V tabulce, která je uvedena na produktu, můžeme vidět obsah jednotlivých složek na 100 g výrobku.

Tabulka 9 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Stella originál (Vz1-80)

Výživové hodnoty na 100 g	
Energetická hodnota	2960 kJ/720 kcal
Tuky	80 g
z toho nasycené mastné kyseliny	28 g
Sacharidy	0,2 g
z toho cukry	0,1 g
Bílkoviny	0,1 g
Sůl	0,3 g
Vitamin A	800 µg (100 %) ^a
Vitamin D	3,5 µg (70 %) ^a

^a ... % Denní referenční příjem

2.1.2 Stella cukrářská s máslovou příchutí 250 g – Vz2-82



Obrázek 12 - Balení Stella cukrářská s máslovou příchutí [35]

Vlastnosti: 82 %, pro krémy a náplně, na pečení, na všechny druhy pečení s máslovou příchutí, snadná příprava a vysoká stabilita krémů a náplní

Složení: rostlinný oleje (řepkový, palmový, kokosový v různém poměru), palmový tuk, pitná voda, emulgátory: slunečnicový lecitin, mono- a diglyceridy mastných kyselin, sušená syrovátka, jedlá sůl, konzervant: sorban draselný, regulátor kyselosti: kyselina citronová, přírodní máslové aroma (z mléka), Barvivo: β-karoten, vitamíny (vitamín A, vitamín D), Obsah tuku 82 %

V tabulce, která je uvedena na produktu, můžeme vidět obsah jednotlivých složek na 100 g výrobku.

Tabulka 10 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Stella cukrářská (Vz2-82)

Výživové hodnoty na 100 g	
Energetická hodnota	3305 kJ/740 kcal
Tuky	82 g
z toho nasycené mastné kyseliny	32 g
Sacharidy	0,2 g
z toho cukry	0,1 g
Bílkoviny	0,1 g
Sůl	0,4 g
Vitamin A	800 µg (100 %) *
Vitamin D	3,5 µg (70 %) *

* % Denní referenční příjem

2.1.3 Hera Classic 250 g – Vz3-70



Obrázek 13 - Balení Hera classic

Vlastnosti: snadné pečení, bez umělých barviv, bez konzervantů

Složení: palmový tuk, rostlinné oleje (řepkový, slunečnicový, v různém poměru), voda, emulgátor (slunečnicový lecitin, mono- a diglyceridy mastných kyselin), jedlá sůl (0,2%), přírodní aroma, kyselina (kyselina mléčná), vitamín (A, D)

V tabulce, která je uvedena na produktu, můžeme vidět obsah jednotlivých složek na 100 g výrobku.

Tabulka 11 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Hera Classic (Vz3-70)

Výživové hodnoty na 100 g	
Energetická hodnota	2590 kJ / 619 kcal
Tuky	70 g
z toho nasycené mastné kyseliny	33 g
Sacharidy	<0,5 g
z toho cukry	<0,5 g
Bílkoviny	0 g
Sůl	0,20 g
Vitamin A	800 µg (100 %*)
Vitamin B	7,5 µg (150 %*)

* % Denní referenční příjem

2.1.4 Rama Classic 400 g – Vz4-75



Obrázek 14 - Balení Rama Classic

Vlastnosti: vhodné k namazání, vaření, pečení, s přírodním aromatem, 100% složení z přírodních zdrojů, vhodné pro vegetariány, neobsahuje konzervanty, neobsahuje umělá aroma, roztíratelný tuk 75 %

Složení: palmový tuk, 30 % řepkový olej, pitná voda, podmásli (mléko), jedlá sůl (0,3 %), emulgátor (lecitin (slunečnicový)), přírodní aroma, kyselina (kyselina mléčná), vitamíny (A, D), Podporuje trvale udržitelný palmový olej.

V tabulce, která je uvedena na produktu, můžeme vidět obsah jednotlivých složek na 100 g výrobku.

Tabulka 12 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Rama Classic (Vz4-75)

Výživové hodnoty na 100 g	
Energie	2781 kJ / 664 kcal
Tuky	75 g
z toho nasycené mastné kyseliny	30 g
Sacharidy	<0,5 g
z toho cukry	<0,5 g
Bílkoviny	<0,5 g
Sůl	0.3 g
Vitamín A	800 µg (100 %*)
Vitamín D	7.5 µg (150 %*)

* Denní referenční příjem

2.1.5 Alfa optima 250 g – Vz5-70



Obrázek 15 - Balení Alfa optima

Vlastnosti: bez konzervantů, umělých barviv, sladidel a glutamátu, rostlinného původu s jemnou máslovou příchutí, poctivá receptura 70 % tuku, ideální na pomazánky a na vaření, rostlinný roztíratelný tuk 70 %, s vitamíny A, D, E

Složení: rostlinné oleje (řepkový, palmový, kokosový), pitná voda, emulgátory: mono- a diglyceridy mastných kyselin, slunečnicový lecitin, jedlá sůl (0,2%), regulátor kyselosti: kyselina citronová, máslové aroma, barvivo: karoteny, vitamíny A, D, E, Může obsahovat stopy mléka.

V tabulce, která je uvedena na produkty, můžeme vidět obsah jednotlivých složek na 100 g výrobku.

Tabulka 13 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Alfa optima (Vz5-70)

Výživové hodnoty na 100 g	
Energetická hodnota	2590 kJ/630 kcal
Tuky	70 g
z toho nasycené mastné kyseliny	20 g
Sacharidy	0 g
z toho cukry	0 g
Bílkoviny	0 g
Sůl	0,20 g
Vitamin A	800 µg (100 %*)
Vitamin D	3,5 µg (70 %*)
Vitamin E	20 mg (166 %*)

* % Denní referenční hodnoty příjmu

2.1.6 Olma – Zlatá Haná k namazání 250 g – Vz6-74



Obrázek 16 - Balení Zlatá Haná máslová

Vlastnosti: prostě skvělá, lahodná a lehce roztíratelná, zdroj omega-3 mastných kyselin, vitamíny A, E, D, Vyrobeno tradičním máslařským postupem, Originál od roku 1993

Složení: palmový, řepkový, kokosový a bambucký olej, odtučněné mléko, mléčný zákys, sůl, emulgátor E471, barvivo beta-karoten, vitamíny A, D

V tabulce, která je uvedena na produkty, můžeme vidět obsah jednotlivých složek na 100 g výrobku.

Tabulka 14 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Olma – Zlatá Haná k namazání (Vz6-74)

Výživové hodnoty na 100 g	
Energie	2762 kJ/ 659 kcal
Tuky	74 g
z toho nasycené MK	30 g
z toho mononenasycené MK	34 g
z toho polynenasycené MK	10 g
Sacharidy	0,8 g
z toho cukry	0,8 g
Bílkoviny	0,6 g
Sůl	0,3 g
ω-3 mastné kyseliny	2,2 g
vitamin A	640 μg
vitamin D	4,0 μg
vitamin E	9,6 mg

2.1.7 Flora gold 400 g – Vz7-60



Obrázek 17 - Balení Flora gold

Vlastnosti: bohatá rostlinná chuť, s přirozeným obsahem omega 3&6 MK, bez konzervantů

Složení: rostlinné oleje (slunečnicový (43 %), lněný (7 %), řepkový (2 %)), voda, palmový tuk, jedlá sůl (0,2 %), emulgátor (slunečnicový lecitin, mono- a diglyceridy MK), aroma, vitamín (A, D)

V tabulce, která je uvedena na produktu, můžeme vidět obsah jednotlivých složek na 100 g výrobku.

Tabulka 15 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Flora gold (Vz7-60)

Výživové hodnoty na 100 g	
Energie	2219 kJ / 538 kcal
Tuky;	60 g
z toho MK nasycené	12 g
z toho MK mononenasycené	17 g
z toho MK polynenasycené	30 g
Sacharidy	<0,5 g
z toho cukry	<0,5 g
Bílkoviny	<0,5 g
Sůl	0,2 g
Vitamin A	800 µg (100 %*)
Vitamin D	7,5 µg (150 %*)
Vitamin E	24 mg (200 %*)
Omega 3 (ALA)	3,5 g
Omega 6 (LA)	26 g

* % Denní referenční příjem

2.1.8 Flora originál 400 g – Vz8-39



Obrázek 18 - Balení Flora original

Vlastnosti: 100 % rostlinná, s přirozeným obsahem omega 3 & 6 MK, slunečnicový olej, lněný olej, řepkový olej

Složení: voda, rostlinné oleje (řepkový (24 %), slunečnicový (7 %), lněný (3 %)), palmový tuk, jedlá sůl (0,5 %), emulgátor (mono- a diglyceridy mastných kyselin, slunečnicový lecitin), regulátor kyselosti (kyselina citronová), přírodní aroma, vitamín (A, D), barvivo (karoteny)

V tabulce, která je uvedena na produktu, můžeme vidět obsah jednotlivých složek na 100 g výrobku.

Tabulka 16 - Tabulka výživových hodnot na 100 g výrobku Flora original (Vz8-39)

Výživové hodnoty na 100 g	
Energie	1442 kJ / 398 kcal
Tuky	39 g
z toho MK nasycené	7 g
z toho MK mononenasycené	20 g
z toho MK polynasycené	12 g
Sacharidy	<0,5 g
z toho cukry	<0,5 g
Bílkoviny	<0,5 g
Sůl	0,5 g
Vitamín A	800 µg (100 %*)
Vitamín D	7,5 µg (150 %*)
Vitamín E	10 mg (83 %*)
Omega 3 (ALA)	3 g
Omega 6 (LA)	8,9 g

* *% Denní referenční příjem

2.2 Příprava vzorků na skladování

Vzorky byly před uskladněním rozděleny do malých plastových kelímků s víčkem, aby skladování co nejvíce odpovídalo skladování v běžném obalu. Celkem bylo měření prováděno v pěti časových intervalech a analyzováno bylo 8 vzorků. Vzorek byl rozdělen do 8 kelímků, v každém kelímku bylo zhruba 25 g produktu, někdy i více. Polovina kelímků byla uchovávána v chladničce, zbytek při pokojové teplotě. Vzorky skladované při pokojové teplotě byly umístěny do krabice, aby se napodobilo skladování v neprůhledném obalu.

2.3 Pomůcky a zařízení

V analýzách byly používány tyto pomůcky a zařízení:

- Analytické váhy – AD instruments LTD
- Centrifuga – Sorvall ST4 Plus Centrifuge Series (Thermo Fischer scientific)
- Sušárna – APEX AX 120 CARBOLITE
- Magnetické míchadlo – IKA Color Squid white
- Automatický titrátor – Titrette BRAND
- Automatická pipeta – Biohit
- Vortex mixér
- Spektrofotometr – Genesys 50 UV-VIS Thermo Scient (Fischer Scientific, CZ)
- Lednice – Electrolux
- Datalogger pro měření teploty a vlhkosti DT-171 (CEM Instruments, India)
- Třepačka – Heidolph PROMAX 1020
- Plynový chromatograf –Agilent 7890A (Agilent Technologies, USA)
- Hmotnostní detektor – Agilent 5977A elektronová ionizace a kvadrupólový analyzátor (Agilent Technologies, USA)
- Termoblok – IKA 1 (IKA, Staufen, Německo)

2.4 Tabulka analýz

Tabulka 17 - Potřebné chemikálie a pomůcky u jednotlivých analýz

Analýza	Chemikálie	Pomůcky
Obsah tuku	Petrolether p.a. (Lachner)	Analytické váhy, centrifuga, exsikátor, vortex mixer, automatická pipeta, odpařovací aparatura, sušárna
	Etylalkohol denaturovaný benzínem	
Titrační kyselost	0,1M KOH	analytické váhy, automatický titrátor, magnetické míchadlo
	1% fenolftalein	
	Denaturovaný etanol	
	Diethylether p.a. (Lachner)	
	Kys. šťavelová	
Peroxidové číslo	Konc. kyselina octová p.a. (Lachner)	analytické váhy, automatický titrátor, magnetické míchadlo, digestoř
	Isooktan o. r. a. (J.T.Baker)	
	Nasyčený roztok jodidu draselného p.a.	
	0,01 M thiosíran sodný p.a.	
	Škrobový maz	
	Dichroman draselný	
	2 M kys. sírová	
P-anisidinové číslo	Pevný p-anisidin rekrystalizovaný	analytické váhy, spektrometr, automatická pipeta, centrifuga, digestoř
	Konc. kys. octová p.a. (Lachner)	
	Isooktan o. r. a. (J.T.Baker)	
	Síran sodný p.a.	
Jodové číslo	Hanušovo činidlo	analytické váhy, automatický titrátor, magnetické míchadlo, automatická pipeta, digestoř
	Chloroform stabilizovaný 1 % ethanolem p.a. (Penta)	
	Škrobový maz	
	Nasyčený roztok jodidu draselného p.a. (Lachner)	
GC mastné kyseliny	Methanolát sodný, 95 % (Sigma-Aldrich)	Plynový chromatograf, hmotnostní detektor, termoblok IKA 1
	Chlorid sodný p. a. (Lachner)	
	Helium 4.6 (Linde Gas)	
	n-hexan ≥ 98 % (Merck)	

2.5 Laboratorní postupy

2.5.1 Obsah tuku

Nejprve byla připravena prázdná nádobka na jímání tuku (baňka s kulatým či rovným dnem a s několika varnými kamínky). Baňka byla vysušena v sušárně po dobu 30 minut nastavené na 105 °C a ponechána zchladnout v exsikátoru a nakonec zvážena. Hmotnost nádobky na jímání tuku spolu s varnými kamínky se zaznamená s přesností na 4 desetinná místa.

Do 50 ml centrifugační zkumavky bylo v případě emulze jedlých tuků naváženo 4 až 6 g vzorku, v případě roztíratelných tuků bylo naváženo 1 g až 2 g vzorku. K dílu vzorku v centrifugační zkumavce bylo přidáno 20 ml extrakčního rozpouštědla (petroletheru). Obsah uzavřené centrifugační zkumavky byl promíchán vortex mixerem, dokud se všechny tukové části vzorku nerozpustily. Zkumavka byla odstředována na 5000 otáček/min tak dlouho, dokud nebyla získána čirá extrakční fáze rozpouštědla.

S použitím automatické pipety byly do příslušné nádobky na jímání tuku kvantitativně převeden takový podíl fáze extrakčního rozpouštědla, při kterých nedocházelo také k odtažení vodné fáze.

Druhá extrakce byla prováděna přidavkem dalšího podílu extrakčního rozpouštědla do centrifugační zkumavky s původním vzorkem. V průběhu přidávání rozpouštědla byla opláchnuta a propláchnuta špička pipety. Centrifugační zkumavka byla míchána vortexem a následovalo odstředování tak, jak bylo již uvedeno.

Stejným postupem byla provedena i třetí extrakce. K předchozím extraktům v nádobce na jímání tuku byla přidána třetí fáze extrakčního rozpouštědla s tukem. Extrakční rozpouštědlo bylo z nádobky na jímání tuku odstraněno odpařením na odpařovací aparatuře.

Nádobka na jímání tuku s vyextrahovaným tukem byla vložena na dobu 30 minut do sušárny regulované na 105 °C. Pak byla ponechána zchladnout v exsikátoru a zvážena [23].

Tabulka 18 - Počet extrakcí a objem extrakčního rozpouštědla pro různé vzorky [23]

zkušební vzorek	Extrakční rozpouštědlo [ml]		
	Oddělování odstředováním		
	Počet provedených extrakcí		
	1	2	3
máslo, emulze jedlých olejů	20	10	10
roztíratelné tuky	20	20	20

Obsah tuku ve vzorku, w , v hmotnostních procentech, se vypočte podle následující rovnice:

$$w = \frac{(m_1 - m_2)}{m} \times 100 \quad (4)$$

m_1 je hmotnost nádoby na jímání tuku a vyextrahovaných látek [g], m_2 hmotnost připravené nádoby na jímání tuku [g] a m hmotnost vzorku [g]

2.5.2 Titrační kyselost

Do titrační baňky byly naváženy 2 g vzorku margarínu (tuku) s přesností na 0,0001 g. Bylo přidáno 50 ml neutralizované směsi etanol a diethylether (1:1). Směs v titrační baňce byla zahřáta na elektrickém vařiči k varu a promíchána do rozpuštění vzorku. Byly přidány 3 kapky fenolftaleinu. Za horka bylo titrováno 0,1 M odměrným roztokem hydroxidu draselného do růžovofialového zbarvení stálého nejméně 15 s [25].

Standardizace 0,1 M NaOH:

S přesností na čtyři desetinná místa bylo naváženo diferenčně vypočítané množství dihydrátu kyseliny šťavelové pro 2 titrace, navážka byla kvantitativně převedena do titrační baňky a zředěna přiměřeným množstvím destilované vody. Bylo přidáno několik kapek indikátoru (fenolftalein) a titrováno odměrným roztokem 0,1 M KOH do prvního stálého růžového zbarvení.

Ze spotřeby odměrného roztoku hydroxidu draselného na titraci vzorku byla vypočtena kyselost jako množství KOH v mg na gram tuku.

Číslo kyselosti:

Číslo kyselosti, vyjádřené jako hmotnostní podíl, se vypočítá podle vzorce:

$$TV = \frac{56,1 \cdot c \cdot V}{m} \quad (5)$$

c je přesná koncentrace použitého standardního odměrného roztoku hydroxidu draselného [mol/l], V je objem použitého standardního odměrného roztoku hydroxidu draselného [ml] a m je hmotnost vzorku [g]

2.5.3 Peroxidové číslo

Do zábrusové Erlenmeyerovy baňky bylo naváženo 2–3 g vzorku margarínu (tuku) s přesností na 0,0001 g. Rozpuštěno v 50 ml směsi kyseliny octové a isooktanu (20 ml isooktanu a 30 ml konc. kyseliny octové) a po přidavku 1 ml nasyceného roztoku jodidu draselného promícháno. Baňka byla uzavřena a ponechána v temnu. Po 20 minutách bylo do baňky přidáno 100 ml

vody. Vzorek byl titrován 0,01 M odměrným roztokem thiosíranu sodného do žlutého zbarvení. Po přidání 5 ml škrobového mazu byla směs dotitrována do odbarvení stálého alespoň 30 sekund. Slepý pokus byl proveden stejným postupem, ale bez vzorku margarínu [27].

Standardizace 0,01 M Na₂S₂O₃:

S přesností na čtyři desetinná místa bylo naváženo diferenčně vypočítané množství dichromanu draselného. Navážka byla kvantitativně převedena do titrační baňky a zředěna přiměřeným množstvím destilované vody. Opatrně bylo přilito 3–5 ml 2M kyseliny sírové a asi 1 g tuhého jodidu draselného. Po chvíli byl roztok titrován do žlutohnědého roztoku odměrným roztokem 0,01 M thiosíranu sodného do slabě nažloutlého odstínu. Poté bylo přidáno 5 ml škrobového mazu (roztok zmodral) a dotitrován do odbarvení indikátoru (do slabě modrozeleného odstínu vzniklé chromité soli) [27].

Vzorec pro výpočet peroxidového čísla v mmol/kg:

$$PV = \frac{1000 \cdot (V - V_0) \cdot c}{m} \quad (6)$$

V je spotřeba odměrného roztoku thiosíranu sodného při vlastním stanovení [ml], V_0 je spotřeba odměrného roztoku thiosíranu sodného při slepém pokusu [ml], c vyjadřuje koncentraci odměrného roztoku thiosíranu sodného [mol/l] a m je hmotnost vzorku [g].

2.5.4 *p*-anisidinové číslo

Margaríny byly před stanovením ohřáty ve vodní lázni, aby došlo ke zkapalnění vzorku, do kterého byl na vysušení přidán síran sodný (asi 2 g Na₂SO₄ do 10 g margarínu) olejová fáze byla po vysušení odebrána pipetou. *P*-anisidinový roztok: 0,125 g *p*-anisidinu bylo rozpuštěno v koncentrované kyselině octové v 50 ml odměrné baňce a ponecháno v temnu. Roztok vzorku tuku: 4 g tuku byly rozpuštěny v isooktanu a odměrná 25 ml baňka byla doplněna po rysku. Do zkumavky bylo napipetováno 5 ml roztoku vzorku a přidán 1 ml konc. kyseliny octové = nereaktivní činidlo. Do další zkumavky bylo napipetováno 5 ml roztoku vzorku a přidán 1 ml *p*-anisidinového roztoku = reaktivní činidlo. Do zkumavky bylo napipetováno 5 ml isooktanu a přidán 1 ml *p*-anisidinového roztoku = blank. Všechny zkumavky byly zazátkovány, promíchány a ponechány 10 minut v temnu. Byla změřena absorbance při 350 nm [36].

Výpočet byl proveden dle vzorce (7):

$$AV = \frac{100QV}{m} \cdot (1,2(A1 - A2 - A0)) \quad (7)$$

V je objem, ve kterém byl vzorek rozpuštěn (25 ml), m je hmotnost vzorku [g], Q představuje množství vzorku v měřeném roztoku, ke kterému se vztahuje anisidinové číslo ($Q=0$ absorbance nereaktivního činidla 0,01 g/ml), $A1$ je absorbance reaktivního činidla, $A0$ je absorbance nereaktivního činidla, $A2$ je absorbance blanku, $1,2$ je faktor pro zředění činidla s 1 ml reagentu nebo koncentrované kyseliny octové,

2.5.5 Jodové číslo

Do Erlenmeyerovi baňky bylo naváženo 0,2 až 0,3 g vzorku margarínu s přesností na 0,0001 g, poté bylo přidáno 12,5 ml Hanušova činidla a 5 ml chloroformu a obsah byl míchán do rozpuštění vzorku. Baňka byla ponechána 30 minut v temnu. Následně bylo do baňky přidáno 8 ml KI a 25 ml destilované vody a titrováno 0,1 M roztokem thiosíranu sodného do červeného zbarvení, dále byl přidán škrobový maz a obsah baňky změnil barvu na tmavě modrou. Obsah baňky byl titrován do odbarvení. Každý vzorek byl titrován alespoň dvakrát a stejným způsobem byl proveden i slepý pokus jen bez vzorku [37].

Výpočet byl proveden dle vzorce:

$$IV = \frac{(V_0 - V) \cdot f \cdot 0,1 \cdot 12,69}{m} \quad (8)$$

V_0 je spotřeba odměrného roztoku thiosíranu sodného při slepém pokusu [ml], V je spotřeba odměrného roztoku thiosíranu sodného [ml], f je faktor pro roztok thiosíranu sodného a m je navážka vzorku margarínu [g]

2.5.6 Stanovení mastných kyselin pomocí GC/MS

Stanovení obsahu mastných kyselin bylo provedeno pomocí metody plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Postup byl převzat z bakalářské práce Bc. Simony Peškové a mírně upraven [38]. Stanovení bylo provedeno z již vyextrahovaného tuku získaného v kapitole 2.4.1.

Bylo naváženo cca 25 mg tuku do vialky a přidáno 1,5 ml 0,25 M methanolického roztoku methanolátu sodného. Vialka byla po uzavření protřepána a vložena do termobloku na 20 minut vytemperovaného na 60 °C. Po vychladnutí vialek byl ke vzorku napipetován 1 ml nasyceného roztoku chloridu sodného a 2 ml hexanu. Po protřepání došlo k oddělení dvou fází a vrchní hexanová vrstva byla odebrána pro GC/MS analýzu (chromatografické podmínky jsou uvedeny v Tabulce). Každý vzorek byl dvakrát proměřen.

Tabulka 19 - Chromatografické podmínky pro analýzu MK

GC kolona	TRACE™ TR-FAME (60 m × 0,25 mm × 0,5 μm) (Thermo Scientific, Waltham, USA)
Mobilní fáze a její průtok	Helium, 1 ml/min
Objem nástřiku	0,5 μl
Splitovací poměr	50
Teplota nástřiku	250 °C
Teplotní program	70 °C 3 min, gradient 10 °C/min na 160 °C, 160 °C 2 min, 5 °C/min na 200 °C, 200 °C 1 min, 2 °C/min na 240 °C, 240 °C 1 min,
Teplota MSD Transfer line	300 °C
Podmínky MS s EI ionizací	Ionizace: pozitivní elektronová ionizace, 70 eV Teplota MS zdroje: 300 °C Teplota MS kvadrupólu: 150 °C Skenovací rozsah: 40–500 m/z Izolační šířka: 0.1 m/z Rychlost skenování: 6 skenů/min Solvent delay: 7 min

Obecný výpočet relativního procentuálního zastoupení mastných kyselin ve vzorcích, kde A_i je plocha píku dané mastné kyseliny, $\sum A_i$ je součet všech píků a RF je odezvový faktor. Odezvové faktory pro jednotlivé mastné kyseliny jsou v příloze VIII.

$$rel. \% = RF \cdot \frac{A_i}{\sum A_i} \cdot 100 \quad (9)$$

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Cílem této práce bylo stanovit úroveň žluknutí vybraných vzorků margarínů a zjistit, jak ovlivňují podmínky skladování proces žluknutí po dobu 70 dnů. Byly vybrány dvě teploty skladování. Jedna část vzorků byla skladována standardně při teplotách chladničky a v temnu. Druhá část byla ponechána při teplotě laboratoře. Tato teplota měla simulovat ponechání margarínu na kuchyňské lince. Jelikož i margaríny jsou chráněny před světlem obalem, byla druhá část vzorku umístěna do papírové krabice. Úroveň žluknutí byla zjišťována z měnící se titrační kyselosti, peroxidového čísla měřeného pravidelně, a také jodového čísla změřeného na začátku a na konci experimentu. Dále byl stanoven celkový obsah tuku a složení mastných kyselin z tukového extraktu.

3.1 Výběr vzorků

Při výběru vzorků k testování bylo dbáno na to, aby v mém seznamu byly zastoupeny margaríny, které se nejvíce prodávají, ale také abych měla více vzorků s podobným obsahem tuku, a bylo možné vidět z výsledků případný vliv složení na kažení margarínů.

Margaríny nad 80 % tuku

- 1) Stella originál s máslovou příchutí 80 % tuku (v práci značeno jako: Vz1-80)
- 2) Stella cukrářská s máslovou příchutí 82 % tuku (v práci značeno jako: Vz2-82)

Větší výběr margarínů s obsahem tuku nad 80 % není dostupný v běžných supermarketech, protože se tyto margaríny používají především v potravinářském průmyslu.

Rostlinný roztíratelný tuk

- 1) Hera classic 70 % tuku (v práci značeno jako: Vz3-70)
- 2) Rama originál 75 % tuku (v práci značeno jako: Vz4-75)
- 3) Alfa optima 70 % tuku (v práci značeno jako: Vz5-70)
- 4) Olma – Zlatá Haná k namazání 74 % tuku (v práci značeno jako: Vz6-74)
- 5) Flora gold 60 % tuku (v práci značeno jako: Vz7-60)

Rostlinný roztíratelný tuk se sníženým obsahem tuku

- 1) Flora original 39 % tuku (v práci značeno jako: Vz8-39)

Tento vzorek byl vybrán pro srovnání, zda se bude díky sníženému obsahu tuku kazit stejně rychle jako tučnější vzorky nebo tento proces bude probíhat pomaleji.

3.2 Vliv skladování na vlastnosti margarínů

Celý experiment trval 10 týdnů (70 dní), během kterých byly vzorky opakovaně měřeny a kontrolovány. Celkem proběhlo 5 měření, nejprve 2 měření v intervalu 14 dnů, a poté 2 měření po 21 dnech, kde byla měřena titrační kyselost a peroxidové číslo. Jodové číslo bylo stanoveno na začátku experimentu a také na jeho konci, aby bylo možné porovnat množství dvojných vazeb a zda dochází k jejich úbytku v důsledku žluknutí tuků. Vzorky byly rozděleny do plastových kelímků, tak aby každý vzorek byl na každé měření ve vlastním kelímku. Polovina byla uložena do chladničky a zbytek ponechán při laboratorní teplotě za nepřístupu světla.

Na obrázku 19 a 20 jsou vzorky po 70 dnech skladování. Při porovnání těchto vzorků je na první pohled patrné, které vzorky byly jak skladovány. Vzorky skladované v laboratoři pouští tuk z tukové fáze a mají mnohem tmavší barvu, také zápach těchto vzorků již není velmi příjemný, vzorky skladované v lednici mají neutrální zápach.

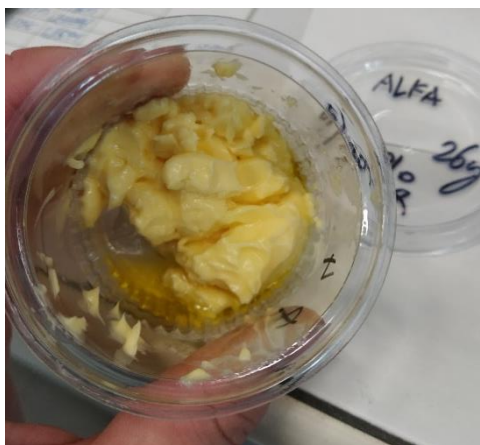


Obrázek 19 – Vzorky 5-8 při posledním měření skladované při pokojové teplotě



Obrázek 20 – Vzorky 5-8 při posledním měření skladované v lednici

Vzorky byly před jednotlivými analýzami vždy homogenizovány. Každý vzorek byl před analýzou pořádně promíchán kopistí, aby došlo k homogenizaci veškerých částí. Na obrázku 21 a 22 je vzorek Vz5-70, neboli Alfa skladován při pokojové teplotě.



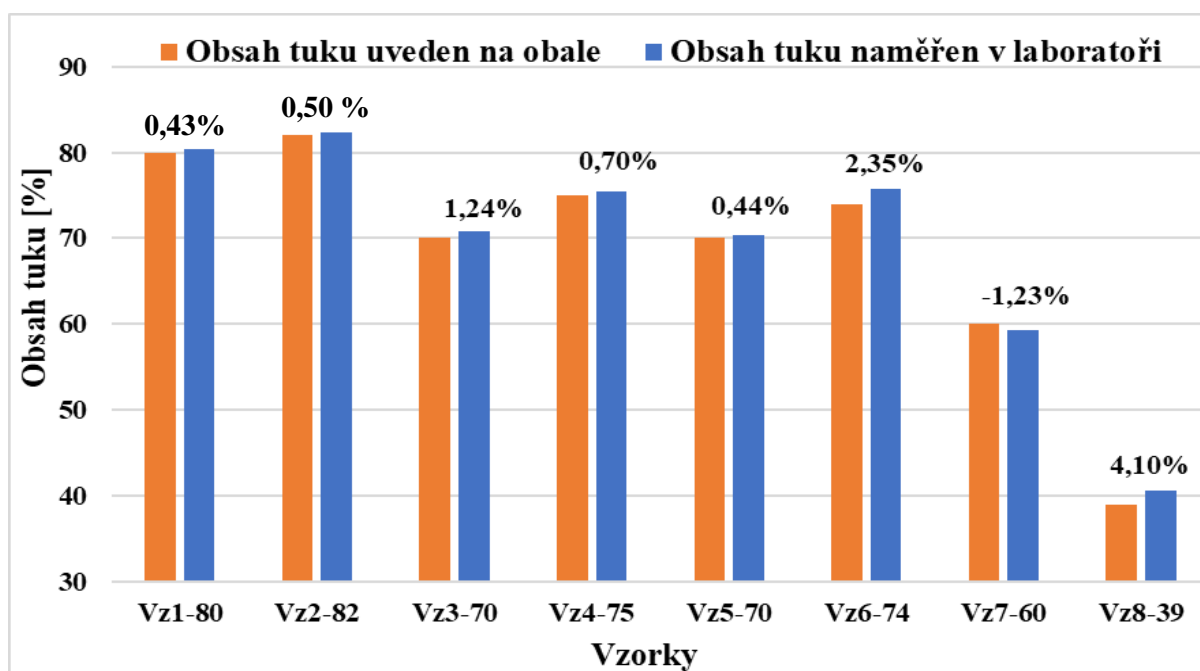
Obrázek 21 – Vzorek Vz5-70 před promícháním



Obrázek 22 – Vzorek Vz5-70 připraven k navážení

3.3 Stanovení obsahu tuků

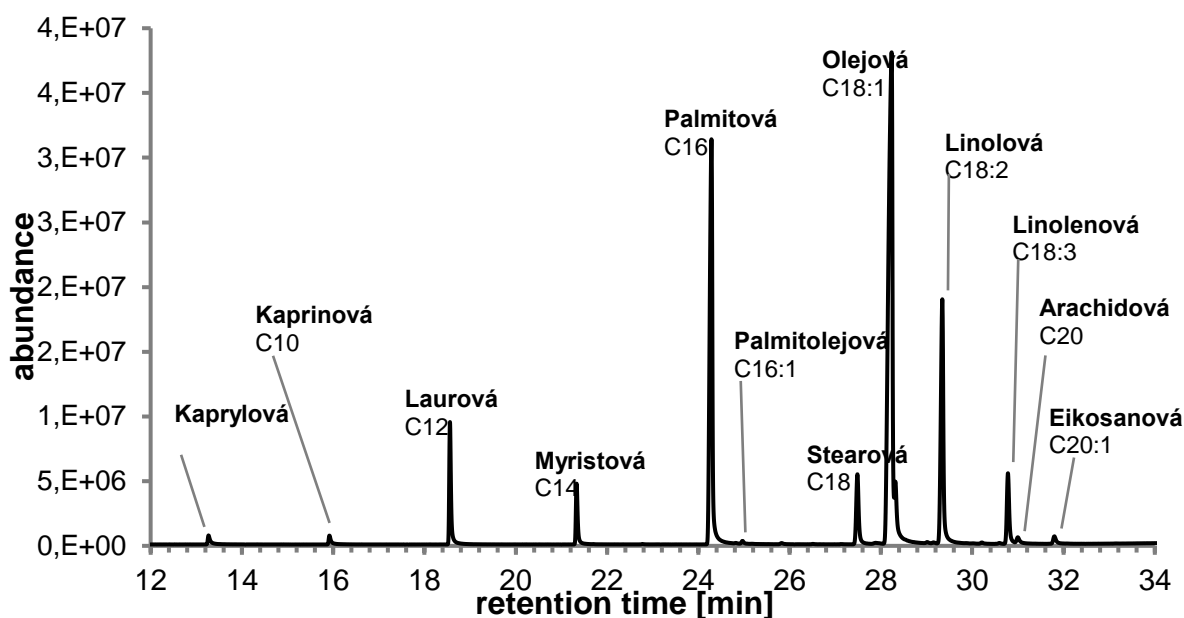
Na začátku experimentu byl stanoven celkový obsah tuku v jednotlivých vzorcích pomocí postupu v kapitole 2.5.1. Zvolené extrakční činidlo bylo petrolether. Každé stanovení bylo provedeno jednou z důvodu ověření obsahu tuku výrobcem a ze získaného tuku byl zjištěn obsah mastných kyselin (viz kapitola 3.8). Rozdíly mezi deklarovaným a zjištěným obsahem tuku ve vzorku jsou graficky znázorněny na obrázku 21 a tabulka výsledků v příloze I. Procenta na obrázku 21 vyjadřují rozdíl mezi výrobcem deklarovaným množstvím a naměřenou hodnotou. Největší rozdíl byl zaznamenán u vzorku Vz8-39, kde tento rozdíl přesahuje 4 %. Naopak nejmenší rozdíl byl u vzorků Vz1-80 a Vz4-70. U Vz7-60 byl naměřen menší obsah tuku, než je udáván výrobcem.



Obrázek 23 - Obsah tuku ve vzorcích margarínů stanovený extrakcí a uvedený na obale

3.4 Složení MK ve vzorcích

Složení mastných kyselin bylo stanovováno za účelem ověření složení vzorků, konkrétně jaké mastné kyseliny vzorky obsahují a obsah nasycených a nenasycených mastných kyselin viz. příloha VII, VIII a IX. Extrakt tuku získaný během měření obsahu tuku v margarínech byl upraven na methylestery pomocí methanolátu sodného, chloridu sodného a hexanu. Takto upravené vzorky byly proměřeny na plynovém chromatografu s hmotnostním detektorem. Výsledkem měření byl záznam zvaný chromatogram (obrázek 24), kde jsou zobrazeny jednotlivé píky neboli konkrétní mastné kyseliny. Z obsahu ploch pod píky byly vypočteny obsahy jednotlivých mastných kyselin dle rovnice 9 v kapitole 2.5.6 Stanovení mastných kyselin pomocí GC/MS v této rovnici se počítá i s odezвовými faktory, které lze nalézt v příloze VIII.

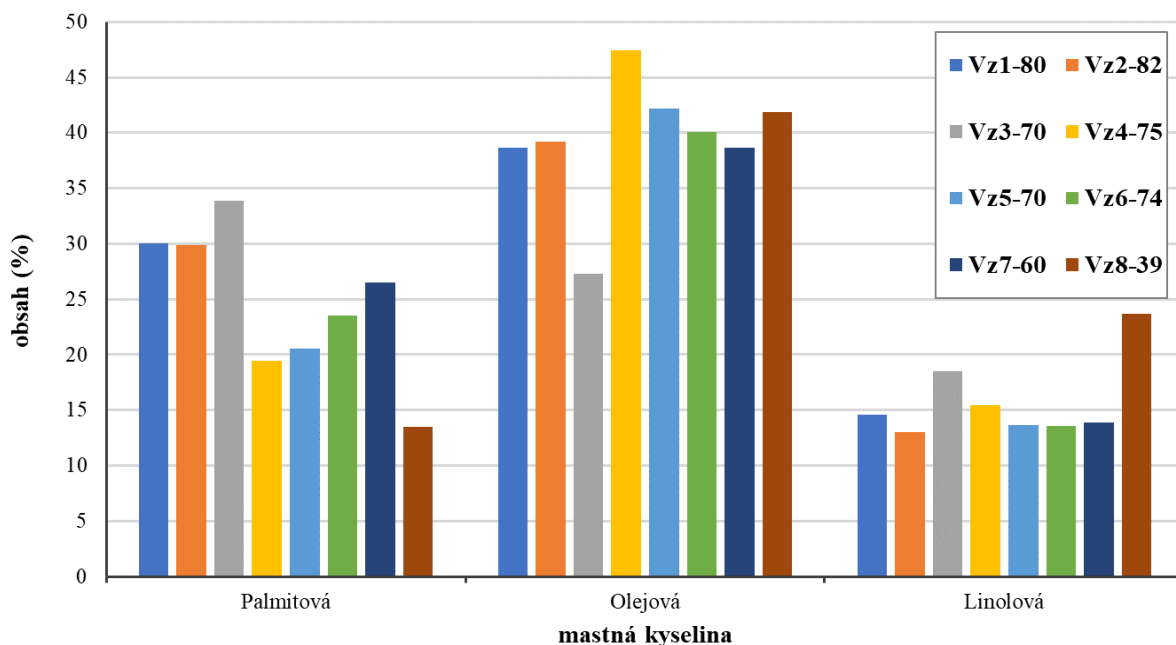


Obrázek 24 – Chromatogram methylesteru mastných kyselin ve vzorku Vz6-74

V tucích byly nalezeny různé mastné kyseliny od C6:0 až C20:1 tedy od kapronové až po eikosanovou. Mastné kyseliny byly rozděleny do 2 skupin, a to na majoritní mastné kyseliny (obrázek 25) a minoritní mastné kyseliny (obrázek 26) dle podílu ve vzorcích. Druhy majoritních mastných kyselin reprezentují hlavní složku margarínů, tedy použité oleje. Z tohoto údaje lze ověřit, zda je složení na výrobku pravdivé. Mezi majoritní mastné kyseliny patří takové kyseliny, jejichž obsah ve vzorku je více než 10 %, naopak minoritní mastné kyseliny jsou takové, jež mají své zastoupení pod 10 %.

Mezi majoritní mastné kyseliny patří: kyselina palmitová, olejová a linolová (obrázek 25). Tyto mastné kyseliny se daly očekávat vzhledem k tomu, že vzorky mají ve složení nejvíce

zastoupen řepkový, palmový a slunečnicový olej. Všechny vzorky obsahují poměrně velké množství kyseliny linolové, která je esenciální, pokud se tedy jedná o kyselinu α -linolovou. Tato kyselina je prospěšná pro lidský organismus na rozdíl od nasycené kyseliny palmitové.

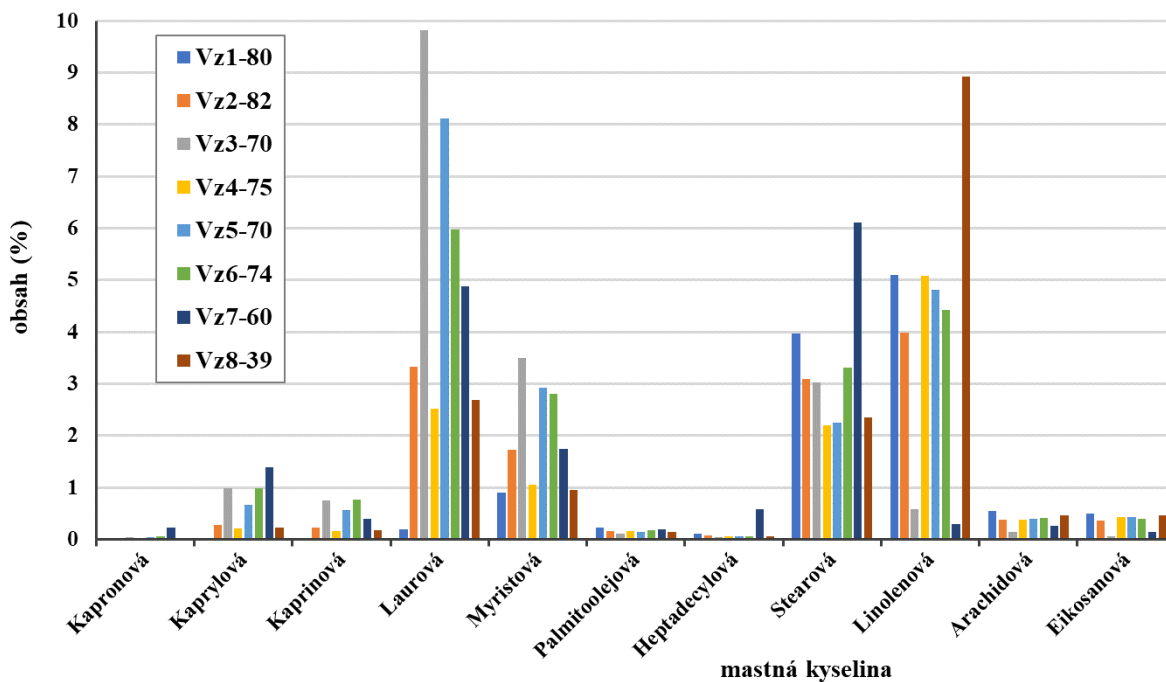


Obrázek 25 - Zastoupení majoritních mastných kyselin ve vzorcích

Minoritní mastné kyseliny obsažené ve vzorcích lze nalézt na obrázku 26. Největší podíl ve složení vzorků má kyselina linolenová, laurová, stearová a myristová.

Kyselina linolenová je ω -6 mastná kyselina a je pro náš organismus esenciální. Vzorek Vz8-39 neboli Flora original má největší obsah této kyseliny. Při srovnání s ostatními vzorky má obsah této látky téměř dvojnásobný, tato hodnota souhlasí i s informací, která je uvedena na obale výrobku. Kyselina laurová je složkou palmového oleje, který patří mezi nejpoužívanější oleje pro výrobu margarínů, z toho důvodu je ve vzorcích tak vysoký obsah v porovnání s ostatními minoritními kyselinami. Největší obsah této kyseliny má vzorek Vz3-70, druhý největší obsah má vzorek Vz5-70.

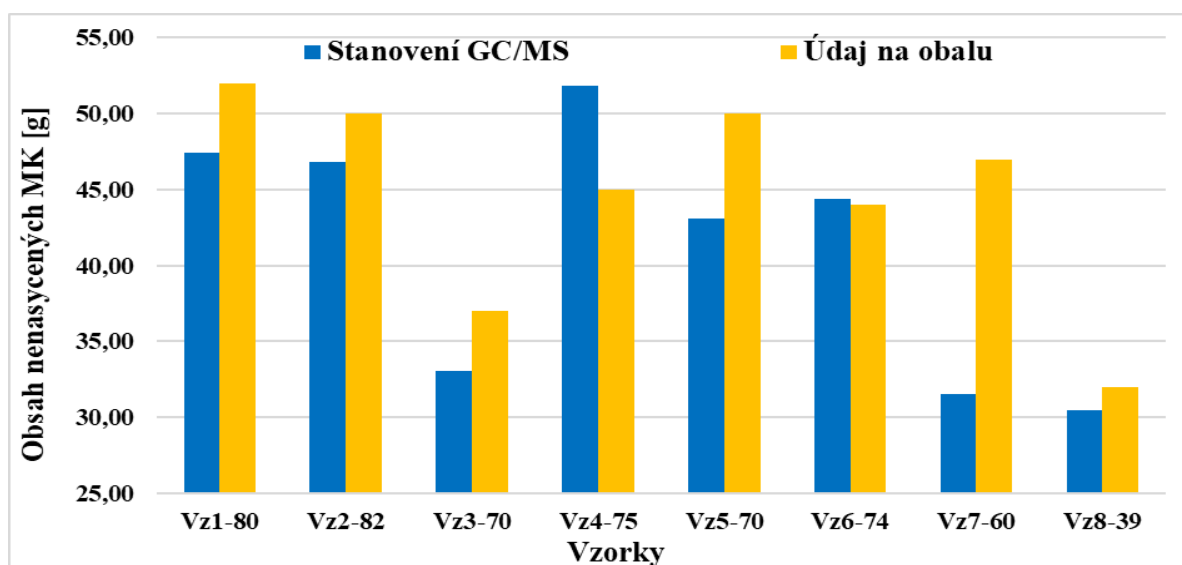
Mezi mastnými kyselinami byla nalezena kyselina heptadecylová, která má 17 uhlíků. Lichý počet uhlíků se u přírodních mastných kyselin vyskytuje velmi málo. Kyselinu heptadecylovou je možné nalézt v mléce přežvýkavců, tedy kravském mléce, ale vyskytuje se zde pouze ve velmi nízkých koncentracích [39]. Lze tedy předpokládat, že tato kyselina byla vyrobena uměle, vzhledem k tomu že vzorek Vz7-60 neobsahuje žádné složky z mléka přežvýkavců.



Obrázek 26 – Zastoupení minoritních mastných kyselin ve vzorcích

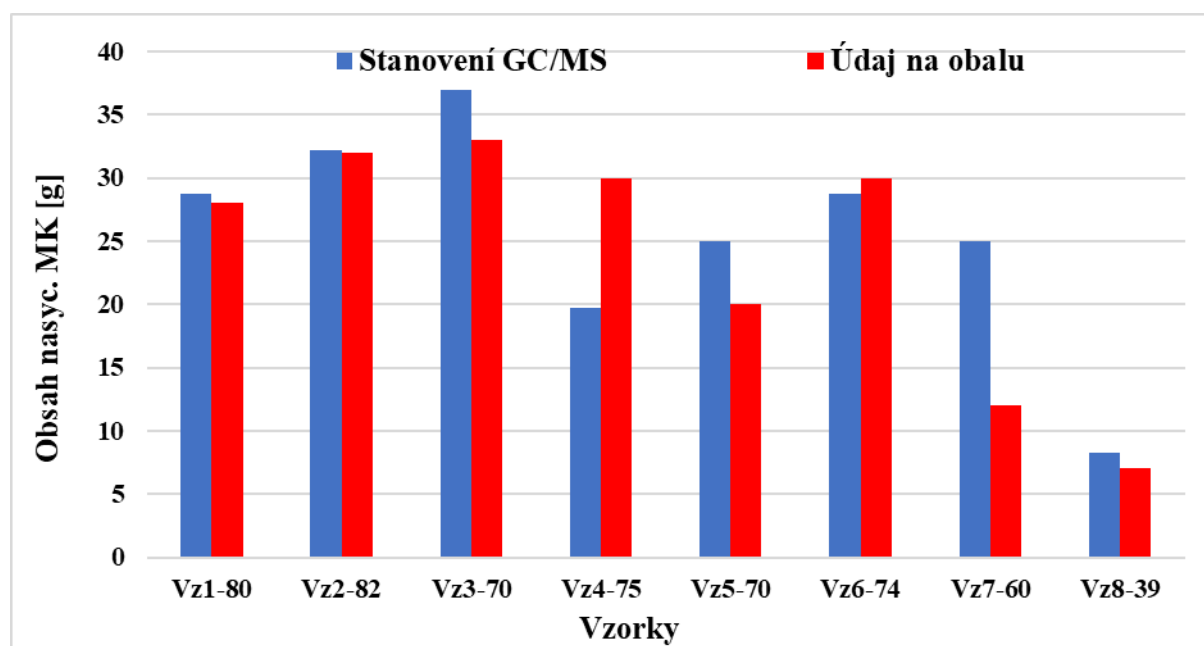
Dále byly mastné kyseliny rozděleny na nenasycené (obrázek 27) a nasycené (obrázek 28) a tyto naměřené obsahy byly porovnávány s hodnotami uvedenými na obalech produktů.

Obsahy nenasycených mastných kyselin ovlivňují jodové číslo. Čím větší je množství nenasycených mastných kyselin, tím větší je jodové číslo. Toto srovnání sedí v u všech vzorků mimo vzorek Vz7-74, kdy je obsah nenasycených mastných kyselin naměřený v laboratoři výrazně menší než obsah uvedený na obalu.



Obrázek 27 – Obsah nenasycených MK ve vzorcích

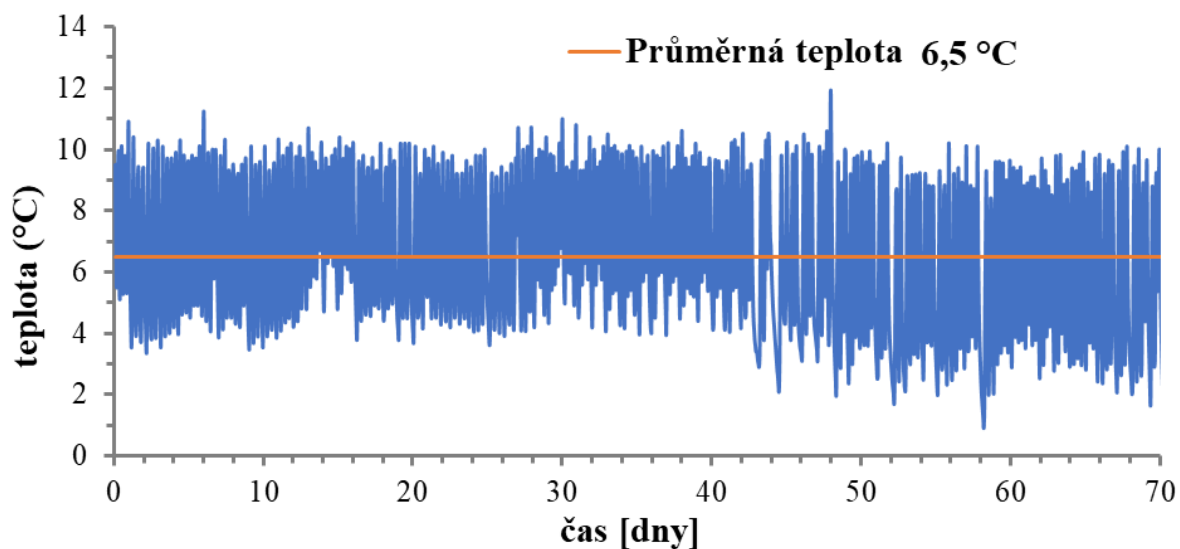
Na obrázku 28 je obsah nasycených mastných kyselin ve vzorcích, a to jak uvedený na obalu, tak naměřený v laboratoři za účelem ověření pravdivost obsahu těchto látek. U vzorků Vz3-70, Vz5-70, Vz7-60 a Vz8-39 byl obsah nasycených mastných kyselin naměřených v laboratoři větší než obsah udávaný výrobcí na obalu, což může být nebezpečné, vzhledem k tomu, že zvýšený příjem těchto látek může vést ke zdravotním problémům. Vzorek Vz7-60 měl zjištěný obsah nasycených mastných kyselin dokonce více než dvojnásobný v porovnání s údajem na obale. Také u něj nesedí údaje z obrázku 27 tedy obsah nenasycených mastných kyselin. Tento vzorek vychází z analýz s ohledem na mastné kyseliny nejhůře.



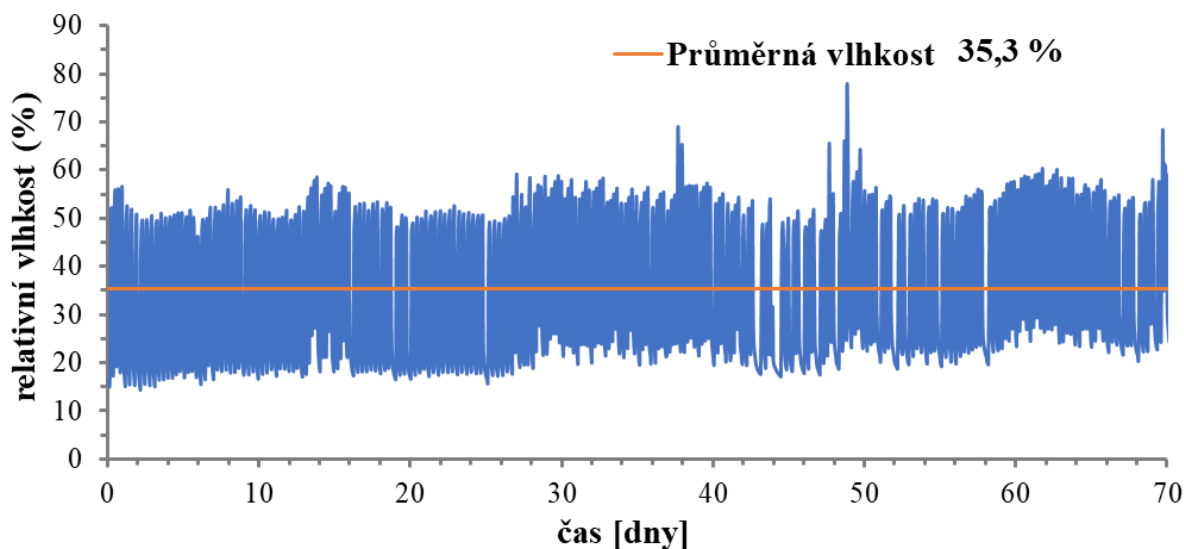
Obrázek 28 – Obsah nasycených MK ve vzorcích

3.4.1 Teplota a vlhkost během skladování vzorků

Ke každé sadě vzorků (chladnička a laboratorní teplota) byl umístěn záznamník teploty a vlhkosti (tzv. datalogger), aby se mohl přesněji porovnat rozdíl teplot skladování. Teplota i vlhkost byla zaznamenávána každou hodinu. Zpracované záznamy pro chladničku jsou na obrázku 29 a 30 a pro vzorky uložené v laboratoři na obrázku 31 a 32.



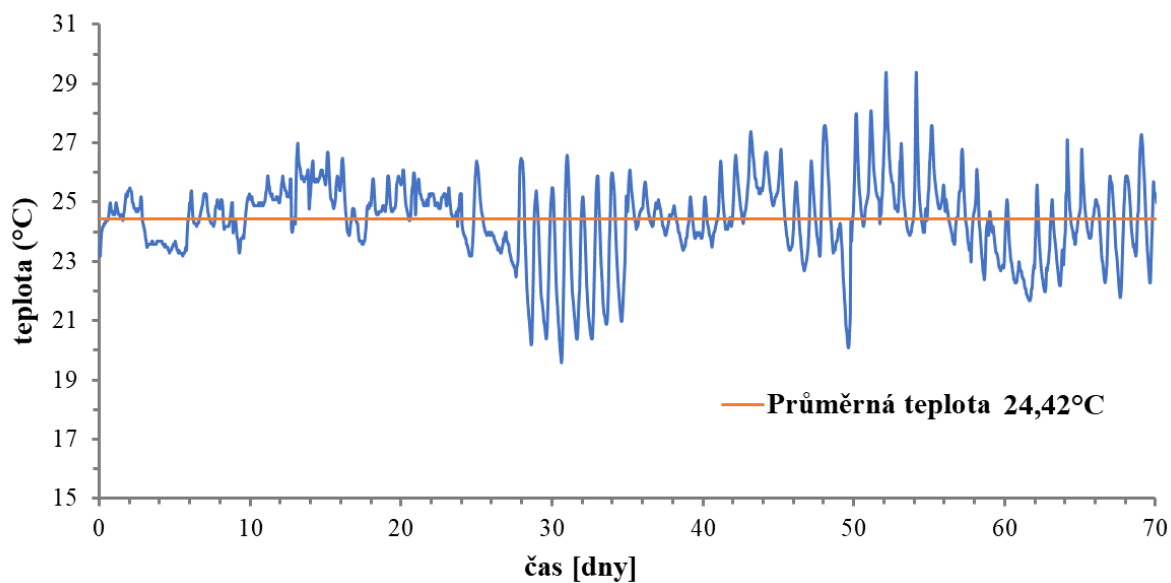
Obrázek 29 - Závislost teploty na čase skladování v chladničce



Obrázek 30 - Závislost vlhkosti na čase skladování v chladničce

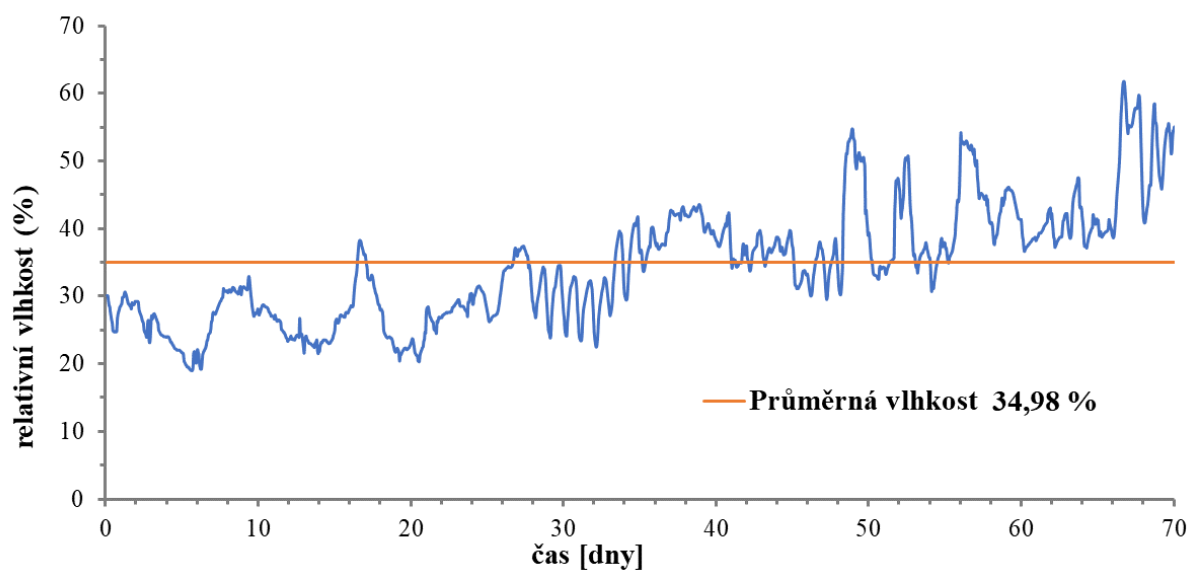
Teplota v chladničce kolísala mezi 1–12 °C a vlhkost mezi 15–55 %. Kolísání bylo způsobeno principem fungování kompresorové chladničky. Při krátkodobém zapnutí kompresoru dochází ke chlazení, tedy snížení teploty, a současně ke kondenzaci vlhkosti. Tento výkyv byl pozorován asi 5x za den. Průměrná teplota byla 6,5 °C a vlhkost 35,3 %.

Teplota v laboratoři byla výrazně vyšší než teplota v chladničce. Z obrázku 31 můžeme vidět, jak se měnila teplota v laboratoři nejen v závislosti na datu, ale také na denní době. Nejvíce je tento rozdíl patrný 27.–37. den měření, kdy jsou velmi výrazné rozdíly mezi dnem a nocí. Průměrná teplota v laboratoři byla 24,42 °C.



Obrázek 31 - Závislost teploty v laboratoři na čase

Na obrázku 32 můžeme vidět závislost relativní vlhkosti na čase, kde si můžeme všimnout velmi podobné křivky jako je tomu na obrázku 31.



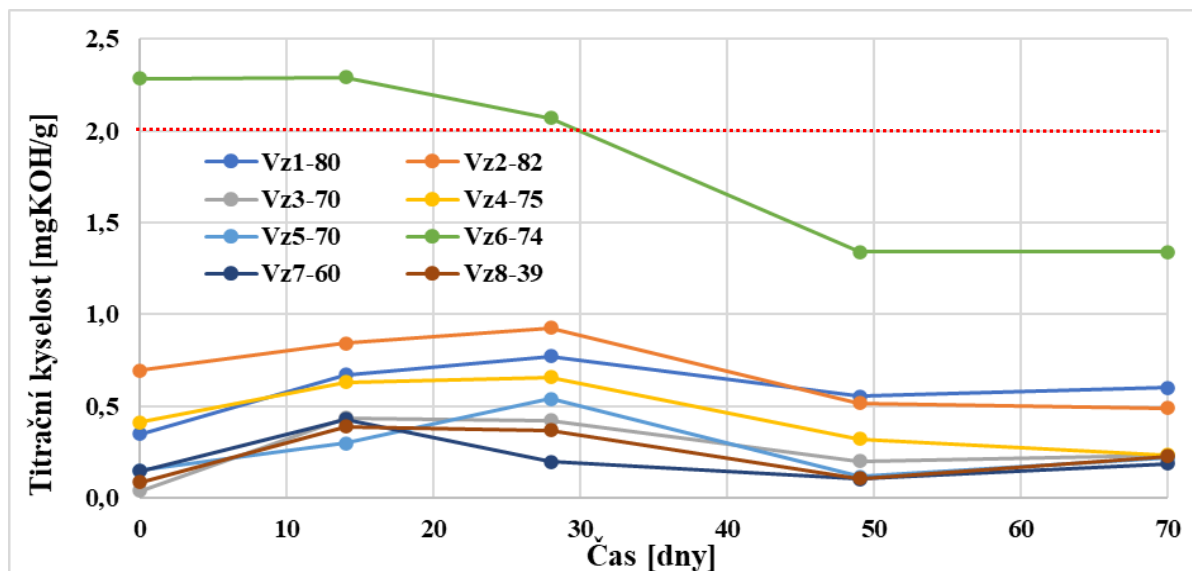
Obrázek 32 - Závislost vlhkosti v laboratoři na čase

3.4.2 Stanovení titrační kyselosti

V průběhu 70 dní byla stanovována titrační kyselost vzorků skladovaných v lednici a v laboratoři. Při stanovení titrační kyselosti byly vzorky rozpuštěny ve směsi diethyletheru a etanolu a poté byly titrovány 0,1M roztokem KOH. Na obrázcích 33 a 34 je závislost titrační kyselosti na délce skladování a typu vzorku

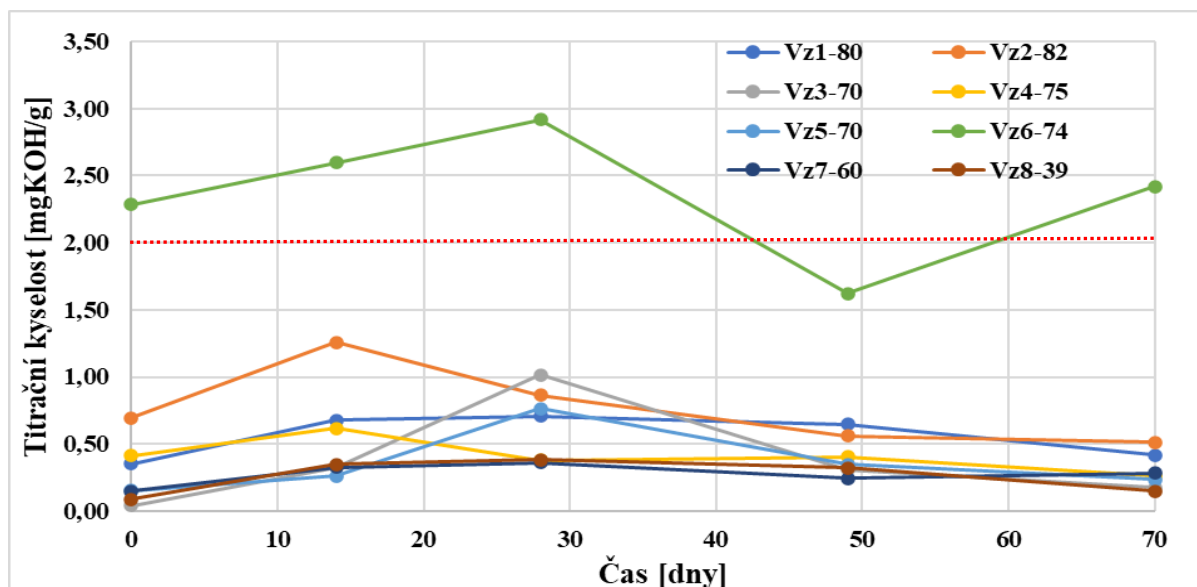
Titrační kyselost je obsah volných mastných kyselin ve vzorku, Je to jedna z nejpoužívanějších metod, která se používá pro určení stáří vzorku. Margaríny s vyšším obsahem tuku mají i vyšší číslo kyselosti, s výjimkou vz3-70 a Vz5-70.

Při skladování v chladničce (obrázek 33) dosahovaly vzorky nejvyšší titrační kyselosti asi 28. den, kromě vzorku Vz6-74, jehož kyselost byla nejvyšší na počátku experimentu. Dokonce protнула červenou čáru, která značí maximální přípustnou hodnotu kyselosti pro margaríny a to 2 mgKOH/g. Tento vzorek Vz6-74 (Zlatá Haná k namazání) obsahoval mléčný zákys a odtučněné mléko. Celkově tento vzorek svým složením nejvíce připomíná máslo, proto byla jeho titrační kyselost nejvyšší. Odlišné chování od ostatních vzorků měl ještě vzorek Vz7-60 (Flora gold), jehož nejvyšší titrační kyselost byla již 14. den měření. Poté kyselost klesala a na konci měření mírně stoupla.



Obrázek 33 - Graf závislosti titrační kyselosti vzorky v chladničce

S ohledem na kyselosti ostatních vzorků se změna titračních kyselostí projevila velmi podobně. Klesání titrační kyselosti po 28. dnu je pravděpodobně způsobeno rozkladem volných mastných kyselin na jiné produkty, které již nelze stanovit touto analýzou. Pro lepší posouzení chování jednotlivých vzorků v čase by bylo zapotřebí delší měření.



Obrázek 34 - Závislost titrační kyselosti na typu vzorku a délce skladování v laboratoři

Závislost titrační kyselosti na čase při skladování v laboratoři je zobrazena na obrázku 34. I v tomto případě vzorek Vz6-74 neboli, Zlatá Haná k namazání, má výrazně vyšší hodnoty titrační kyselosti než ostatní vzorky. Ovšem při skladování při laboratorní teplotě si můžeme povšimnout nárůstu kyselosti na mnohem vyšší hodnotu, což může být způsobeno rozpadem triacylglycerolů a uvolňováním většího množství volných mastných kyselin. I při tomto skladování tento vzorek překročil přerušovanou linku, neboli maximální hodnotu titrační kyselosti stanovenou pro margaríny. Ostatní vzorky můžeme rozdělit do dvou skupin, kdy Vz2-82 a Vz4-75 mají nejvyšší hodnotu již po 14 dnech, zatímco ostatní vzorky mají maximum titrační kyselosti až po 28 dnech. Vzorky skladované při pokojové teplotě dosahují maximálních titračních kyselostí v kratším čase, a také jsou tyto kyselosti vyšší, než je tomu u vzorků skladovaných v chladničce.

3.4.3 Stanovení peroxidového čísla

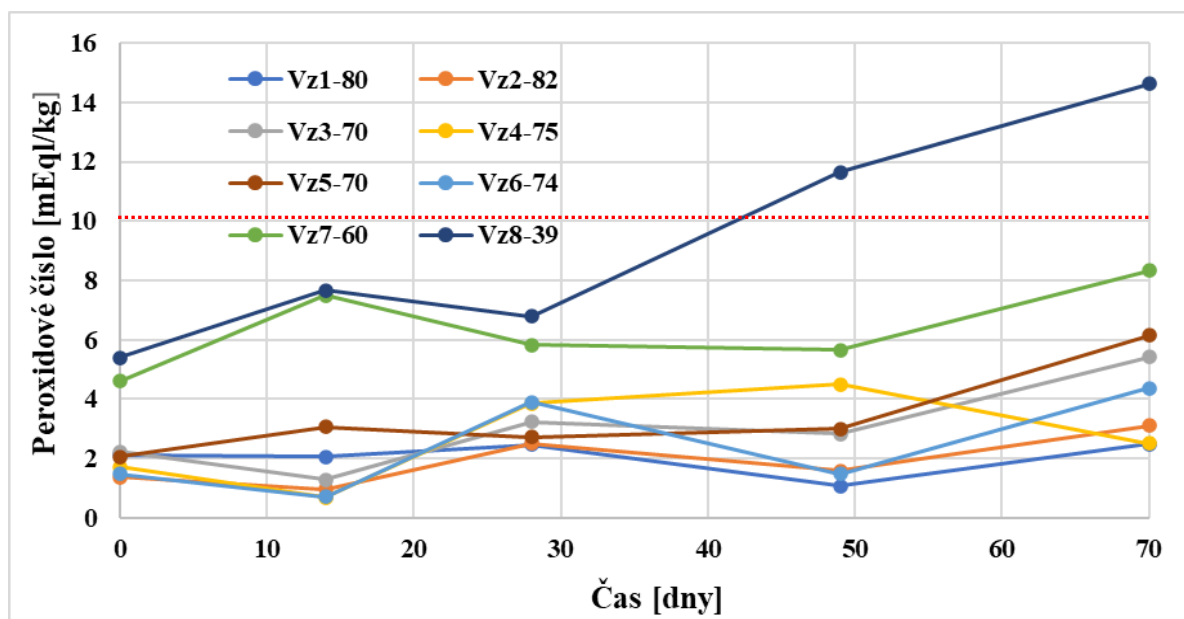
Peroxidové číslo je ukazatel stadia oxidace lipidů a udává obsah hydroxyperoxidů, neboli primárních produktů oxidace. Peroxidové číslo bylo stanoveno jodometricky a v průběhu 70 dní se stanovovalo celkem 5krát.

Na obrázcích 35 a 36 jsou závislosti peroxidových čísel na čase při skladování v chladničce a v laboratoři. Vzorky Vz7-60 a Vz8-39 mají již na začátku vyšší hodnoty peroxidového čísla než ostatní vzorky. To může být způsobeno nižším obsahem tuku.

Překvapivé je, že u vzorků s nižším obsahem tuku (tedy vzorky Vz7-60 a Vz8-39) se peroxidové číslo zvyšuje mnohem rychleji, než je tomu u více tučných vzorků. U těchto vzorků

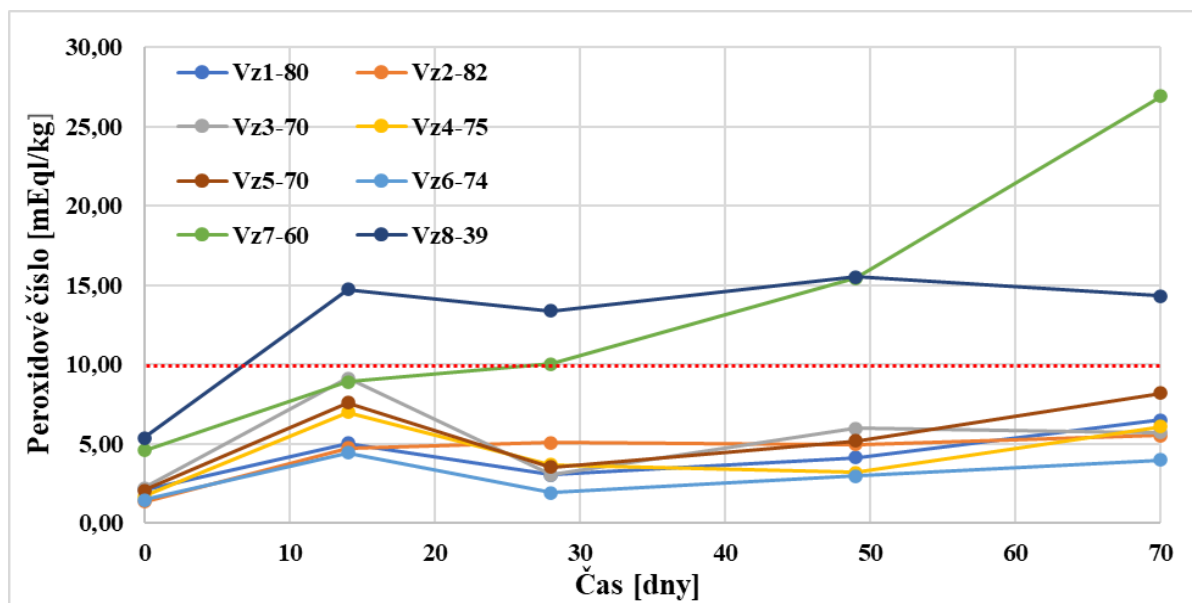
byly také naměřeno nejvyšší peroxidové číslo, mnohdy dvakrát vyšší než u ostatních vzorků, a to jak při skladování v chladničce (obrázek 35) tak v laboratoři (obrázek 36).

Vzorek Vz8-39 dokonce dosahuje po 70 dnech hodnoty vyšší, než je 10 mEq./kg a již nesplňuje maximální přípustnou hodnotu (obrázek 35), která je na obrázcích označena červenou tečkovanou čarou. U většiny vzorků, vyjma vzorku Vz4-75, dochází po 49. dnu skladování k nárůstu peroxidových čísel.



Obrázek 35 - Graf závislosti PV na typu vzorku a délce skladování v chladničce

Z obrázku 36 neboli závislosti peroxidového čísla na čase při skladování v laboratoři můžeme na první pohled vyvodit, že se hodnota peroxidového čísla zvyšovala mnohem rychleji, než tomu bylo při skladování v lednici. Peroxidové číslo je po 10 týdnech skladování v laboratoři vyšší než při skladování v lednici. Zajímavé je že vzorky, které mají vyšší obsah tuku, kromě Vz5-70, mají i po 70 dnech skladování při pokojové teplotě peroxidové číslo pod hranicí a vydrželi tedy test bez zkažení. I na obrázku 36 můžeme vidět mírně rostoucí peroxidová čísla všech vzorků po 49. dnu, až na vzorek Vz8-39 který mírně klesá.



Obrázek 36 - Graf závislosti PV na typu vzorku a délce skladování v laboratoři

3.4.4 Stanovení *p*-anisidinového čísla

P-anisidinové číslo je metoda pro stanovení oxidačních produktů, a to především aldehydů. Hodnoty získané z této metody by byly vhodné pro srovnání s peroxidovým číslem, popřípadě titrační kyselostí. Bylo by zajímavé, jakou rychlostí roste *p*-anisidinové číslo v porovnání s peroxidovým číslem.

P-anisidinové číslo bylo stanoveno pouze při prvním měření, a to z důvodu velmi rozdílných výsledků, které byly vypočítány dle rovnice 7. Když se podíváme do tabulky číslo 20, tak lze vyčíst, že vychází i záporné výsledky. To mohlo být způsobeno nedostatečným vysušením pomocí síranu sodného. Pokud totiž vzorek obsahuje vodu, metoda může být velmi nepřesná. Tato metoda by potřebovala více optimalizace, to bohužel z časových důvodů nebylo možné. Vzorek měl mít absorpční maximum při 350 nm, jenomže kvůli velmi odlišným barvám jednotlivých vzorků bylo absorpční maximum každého vzorku trochu jiné, což se ukázalo jako velmi problematické. Výsledky zkušebního měření *p*-anisidinového čísla naleznete v tabulce číslo 20.

Tabulka 20 - Hodnoty p-anisidinového čísla 28.3.2022

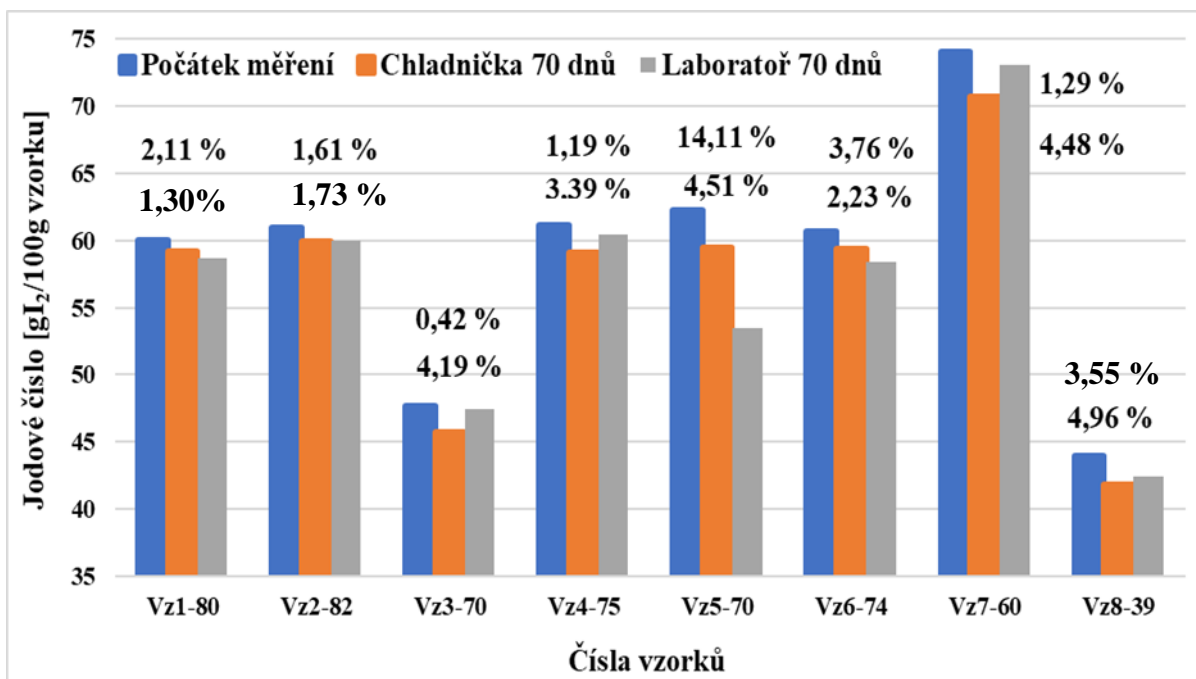
	A0	A1	A1+	A2	m _{vz} [g]	Q [g/ml]	V [ml]	AV ₁	AV ₂	AV _φ
Vz1-80	0,793	0,761	0,881	0,072	4,1243	0,16497	25	-12,48	1,92	-5,28
Vz4-75	0,865	1,008	0,994	0,068	4,0769	0,16308	25	9	7,32	8,16
Vz8-39	0,699	1,133	1,103	0,061	4,0494	0,16198	25	44,76	41,16	42,96

3.4.5 Výsledky stanovení jodového čísla

Jodové číslo je metoda, pomocí níž se zjišťuje počet dvojných vazeb ve vzorcích. Jak se tuky kazí, tak se v nenasyčených mastných kyselinách rozpadají dvojně vazby, a tak roste jodové číslo. Jodové číslo bylo měřeno pouze dvakrát, a to na začátku experimentu a na jeho konci. Jodové číslo bylo stanoveno metodou dle Hanuše jodometricky, a tedy Hanušovým činidlem IBr.

Na obrázek 37 je sloupcový graf jodového čísla na počátku měření a na konci měření, a to jak pro vzorky skladované v chladničce, tak pro vzorky skladované při pokojové teplotě. Všechny hodnoty jodových čísel během skladování poklesly, což značí, že se rozpadly některé dvojně vazby v nenasyčených mastných kyselinách.

Výsledky můžeme v rámci jodového čísla rozdělit do dvou skupin. Do první skupiny patří vzorky, jejichž jodové číslo se během skladování v laboratoři snížilo více než u vzorků skladovaných v lednici. Mezi tyto vzorky patří Vz1-80, Vz2-82, Vz5-70 a Vz6-74. Tento výsledek se předpokládal, protože vzorky ponechané při pokojové teplotě by se měly rychleji kazit, a tudíž by se dvojně vazby měly rychleji rozrušovat. U ostatních vzorků dopadlo měření opačně, tedy vzorky skladované v chladničce měly menší jodové číslo než vzorky skladované při laboratorní teplotě. Tento výsledek je poměrně překvapivý. Největší rozdíly jodových čísel jsou u Vz5-70. Rozdíly jodových čísel můžeme vidět napsané v procentech nad jednotlivými sloupečky. Procenta níže nad sloupcem vyjadřují rozdíl mezi jodovým číslem naměřeným pro vzorky v chladničce vůči počátku měření. Procenta výše nad sloupcem vyjadřují rozdíl mezi jodovým číslem pro vzorky skladované při pokojové teplotě vůči počátku měření.



Obrázek 37 - Jodová čísla vzorků na začátku a na konci experimentu

4 ZÁVĚR

Cílem experimentální práce bylo stanovit stupeň oxidace vybraných vzorků emulgovaných tuků po 70 dnech experimentu, a určit, jaký vliv mají podmínky skladování na proces žluknutí. Proces žluknutí byl sledován pomocí peroxidového čísla, titrační kyselosti a jodového čísla. Také byl zjištěn obsah tuku a zastoupení jednotlivých mastných kyselin ve vzorcích.

U vzorků byl stanovován obsah tuku a poté z extraktu bylo zjišťováno složení mastných kyselin. Tyto údaje byly poté srovnávány s údaji uváděnými výrobcem. Stanovení obsahu tuku bylo prováděno pouze jako ověření obsahu tuku a výsledky potvrdily, že obsah uváděný na obalech je správný. Z analýzy mastných kyselin bylo zjištěno, že mezi majoritní mastné kyseliny v testovaných margarínech patří kyselina palmitová, olejová a linolová. Toto zjištění nám potvrzuje složení vzorků, jejichž hlavní složkou je palmový, řepkový a slunečnicový olej. Z minoritních mastných kyselin, měly největší obsah ve vzorcích kyselina linolenová, laurová, stearová a myristová. Poměrně neobvyklá byla přítomnost kyseliny heptadecylové. U mastných kyselin byl také podstatný celkový obsah nasycených mastných kyselin. Nejmenší obsah nasycených mastných kyselin měly vzorky číslo Vz4-75, Vz5-70, Vz6-74 tedy Rama original, Alfa a Zlatá Haná k namazání.

Dále se u vzorků měřila titrační kyselost a peroxidové číslo, na tato stanovení měly velký vliv změny během skladování. Titrační kyselost byla u téměř všech vzorků po celou dobu měření pod 2 mg KOH/g, kromě vzorku Vz6-74 (Zlatá Haná k namazání) který měl vysokou titrační kyselost po celou dobu experimentu. Titrační kyselost byla výrazně vyšší u vzorků, které byly skladovány v laboratoři. Nejprve s rostoucí délkou skladování rostla i kyselost, dokud nedosáhla svého maxima 14. nebo 28. dne, poté kyselost poklesla a dále se již neměnila.

Peroxidové číslo bylo u vzorků skladovaných při pokojové teplotě mnohem vyšší než u vzorků skladovaných v chladničce. Vzorky Vz7-60 a Vz8-39 tedy Flora gold a Flora original měly velmi vysoká peroxidová čísla při obou typech skladování. Tato čísla byla téměř dvojnásobná ve srovnání s ostatními vzorky. Z toho je možné vyvodit, že margaríny s nižším obsahem tuku se kazí rychleji. Z naměřených hodnot titračních kyselostí a peroxidových čísel vyplývá, že vzorky s vysokým obsahem tuku tedy Vz1-80, Vz2-82, Vz3-70, Vz4-75 a Vz6-74 neboli Stella original, Stella cukrářská, Hera original, Rama classic a Zlatá Haná k namazání. je možné skladovat 70 dní při pokojové teplotě, aniž by to mělo významný vliv na jejich vlastnosti.

Jodové číslo pokleslo na konci experimentu u obou typů skladování. Dvojnásobné vazby v nenasycených mastných kyselinách totiž procesem oxidace lipidů degradují. U vzorků

skladovaných při pokojové teplotě byl rozdíl od vzorků skladovaných v lednici pouze v jednotkách procent. Čím nižší je obsah tuku ve vzorcích, tím náchylnější jsou vzorky ke žluknutí. Bylo zjištěno, že vzorky skladované při pokojové teplotě se kazí mnohem rychleji než vzorky skladované v chladničce.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] “Wax,” *Wikipedia: the free encyclopedia*. Wikimedia Foundation, San Francisco (CA), [Online] [cit. 2022-28-05]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Wax>.
- [2] E. Flack, “Margarines and Spreads,” *Food Emulsifiers and Their Applications*, G. L. Hasenhuettl and R. W. Hartel, Eds. Boston, MA: Springer US, pp. 255–280, 1997. DOI: 10.1007/978-1-4757-2662-6_10
- [3] M. Nogala-Kalucka and M. Gogolewski, “Alteration of fatty acid composition, tocopherol content and peroxide value in margarine during storage at various temperatures,” *Food / Nahrung*, vol. 44, no. 6, pp. 431–433, Dec. 2000, DOI: [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20001201\)44:6<431::AID-FOOD431>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20001201)44:6<431::AID-FOOD431>3.0.CO;2-D).
- [4] A. Thomas, “Fats and Fatty Oils,” *Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, 2000. DOI: https://doi.org/10.1002/14356007.a10_173.pub2
- [5] F. Shahidi, U. N. Wanasundara, and others, “Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils,” *Food lipids Chem. Nutr. Biotechnol.*, vol. 3, pp. 387–403, 2002.
- [6] J. R. Sargent, D. R. Tocher, and J. G. Bell, “4 - The Lipids,” *Fish Nutrition (Third Edition)*, Third Edit., J. E. Halver and R. W. Hardy, Eds. San Diego: Academic Press, pp. 181–257, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-012319652-1/50005-7>
- [7] “Fatty acid,” *Wikipedia: the free encyclopedia*. Wikimedia Foundation, San Francisco (CA), [Online] [cit. 2022-03-06]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Fatty_acid.
- [8] A. A. Spector, “Essentiality of fatty acids,” *Lipids*, vol. 34, no. 1, pp. S1–S3, 1999, DOI: 10.1007/BF02562220.
- [9] N. Kaur, V. Chugh, and A. K. Gupta, “Essential fatty acids as functional components of foods- a review,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 51, no. 10, pp. 2289–2303, 2014, DOI: 10.1007/s13197-012-0677-0.
- [10] “Vyhláška č. 397/2016 Sb.,” vol. 2016, no. 397. Parlament České republiky, Poslanecká sněmovna, Sněmovní 4, 118 26, Praha 1 - Malá Strana, 2016, [Online]. Dostupné z: <https://www.psp.cz/sqw/sbirka.sqw?cz=397%5C&r=2016>.

- [11] T. J. Silva, D. Barrera-Arellano, and A. P. B. Ribeiro, “Margarines: Historical approach, technological aspects, nutritional profile, and global trends,” *Food Res. Int.*, vol. 147, p. 110486, 2021, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110486>.
- [12] R. P. Borwankar, L. A. Frye, A. E. Blaurock, and F. J. Sasevich, “Rheological characterization of melting of margarines and tablespreads,” *J. Food Eng.*, vol. 16, no. 1, pp. 55–74, 1992, DOI: [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(92\)90020-7](https://doi.org/10.1016/0260-8774(92)90020-7).
- [13] C. S. Rao and R. W. Hartel, “Scraped Surface Heat Exchangers,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 46, no. 3, pp. 207–219, 2006, DOI: 10.1080/10408390500315561.
- [14] M. Bockisch, Ed., “Chapter 8 - Fat as or in Food,” *Fats and Oils Handbook*, AOCS Press, pp. 719–802, 1998.
- [15] L. Tanaka, S. Miura, and T. Yoshioka, “Formation of Granular Crystals in Margarine with Excess Amount of Palm Oil,” *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 84, no. 5, pp. 421–426, 2007, DOI: <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1064-2>.
- [16] “AX Flow.” SPX Flow, Praha, 2016, [Online] [cit. 2022-03-06]. Dostupné z: <https://www.axflow.com/cs-cz/katalog/produkty/tepelne-vymeniky/vymeniky-se-stirany-m-povrchem/waukesha-votator-ld-series>.
- [17] N. W. G. Young and P. Wassell, “Margarines and Spreads,” *Food Emulsifiers and Their Applications*, G. L. Hasenhuettl and R. W. Hartel, Eds. Cham: Springer International Publishing, pp. 379–405, 2019. DOI: 10.1007/978-3-030-29187-7_13
- [18] I. P. Freeman, “Margarines and Shortenings,” *Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry*, JohnWiley & Sons, Ltd, 2000, DOI: https://doi.org/10.1002/14356007.a16_145
- [19] E. S. Jang, M. Y. Jung, and D. B. Min, “Hydrogenation for Low Trans and High Conjugated Fatty Acids,” *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 4, no. 1, pp. 22–30, 2005, DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2005.tb00069.x>.
- [20] A. B. Štěrbová, “Charakterizace margarínů pro pečení.” Brno, 2009, [Online] [cit. 2022-02-05]. Dostupné z: <https://dspace.vutbr.cz/xmlui/handle/11012/12368?locale-attribute=pl>.

- [21] J. Davídek, J. Hrdlička, M. Karvánek, J. Pokorný, J. Seifert, and J. Velíšek, *Laboratrní příručka analýzy potravin*, První. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1977.
- [22] O. A. Pike and S. O’Keefe, “Fat Characterization,” in *Food Analysis*, S. S. Nielsen, Ed. Cham: Springer International Publishing, pp. 407–429, 2017. • DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_23
- [23] “Máslo, emulze jedlých olejů a roztíratelné tuky - Stanovení obsahu tuku (Referenční metoda).” ČESKÝ NORMALIZAČNÍ INSTITUT, Praha, Biskupský dvůr 1148/5, 110 00 Praha 1, 2005.
- [24] S. S. Nielsen, *Food Analysis Laboratory Manual*, Třetí. Springer International Publishing: Springer Cham, 2017.
- [25] “Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení čísla kyselosti a kyselosti.” Česká agentura pro standardizaci, Biskupský dvůr 1148/5, 110 00 Praha 1, 2021.
- [26] “Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení peroxidového čísla – Jodometrické (vizuální) stanovení koncového bodu.” Česká agentura pro standardizaci, Praha, 2017.
- [27] K. Robards, A. F. Kerr, and E. Patsalides, “Rancidity and its measurement in edible oils and snack foods. A review,” *Analyst*, vol. 113, no. 2, pp. 213–224, 1988, DOI: 10.1039/AN9881300213.
- [28] J. I. Gray, “Measurement of lipid oxidation: A review,” *J. Am. Oil Chem. Soc.*, vol. 55, no. 6, pp. 539–546, 1978, DOI: 10.1007/BF02668066.
- [29] *Lipid Oxidation Pathways*, První. New York: AOCS Publishing, 2003.
- [30] S. S. Nielsen, *Food analysis*. Springer, 1998.
- [31] K. D. Bartle and P. Myers, “History of gas chromatography,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 21, no. 9, pp. 547–557, 2002, DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00806-3](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00806-3).
- [32] K. Eder, “Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters,” *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, vol. 671, no. 1, pp. 113–131, 1995, DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00142-6](https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00142-6).

- [33] “Vyhláška č. 328/1997 Sb.,” vol. 1997, no. 328/1997. Ministerstvo zemědělství, Praha, 1997, [Online] [cit. 2022-11-06]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-328>.
- [34] “Stella,” *FÉR potravina*. L 68028, Praha 2, [Online] [cit. 2022-06-06]. Dostupné z: <https://www.ferpotravina.cz/margarin/stella>.
- [35] “Stella Cukrářská s máslovou příchutí 250g,” <https://nakup.itesco.cz/groceries/cs-CZ/>. Tesco Stores ČR a.s. 2022, 2022, [Online] [cit. 2022-06-06]. Dostupné z: <https://nakup.itesco.cz/groceries/cs-CZ/products/2001130532434>.
- [36] “Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Stanovení anidisinového čísla.” Česká agentura pro standardizaci, Biskupský dvůr 1148/5, 110 00 Praha 1, 2016.
- [37] “ČSN EN ISO 3961.” Česká agentura pro standardizaci, Biskupský dvůr 1148/5, 110 00 Praha 1, 2019.
- [38] S. Pešková, “Tuk a mastné kyseliny v čokoládě.” Pardubice, 2021.
- [39] “Margaric acid,” *Wikipedia: the free encyclopedia*. Wikimedia Foundation, San Francisco (CA), [Online] [cit. 2022-08-06]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Margaric_acid.

PŘÍLOHY

Příloha I – Tabulka hodnot ke stanovení obsahu tuku.....	74
Příloha II - Tabulka hodnot titračních kyselostí vzorků skladovaných v lednici	74
Příloha III - Tabulka hodnot titračních kyselostí vzorků skladovaných v laboratoři	74
Příloha IV - Tabulka hodnot peroxidových čísel vzorků skladovaných v lednici.....	75
Příloha V - Tabulka hodnot peroxidových čísel vzorků skladovaných v laboratoři	75
Příloha VI – Jodová čísla vzorků na počátku a konci experimentu (0 a 70 dnů)	75
Příloha VII - Tabulka hodnot mastných kyselin naměřených v laboratoři.....	76
Příloha VIII – Tabulka retenční časů a odezvových faktorů při analýze MK	76
Příloha IX - Tabulka obsahů jednotlivých mastných kyselin u vzorků margarínů v [%].....	77

Příloha I – Tabulka hodnot ke stanovení obsahu tuku

m_1 – hmotnost nádoby na tuk před extrakcí, m_2 – hmotnost nádoby na tuk po extrakci

Vzorek	m_{vz} [g]	m_1 [g]	m_2 [g]	W [%]	
Vz1-80	5,6409	103,6289	99,0968	80,3436	
Vz2-82	4,5094	69,4261	65,7099	82,4101	
Vz3-70	1,9984	81,3782	79,9620	70,8667	
Vz4-75	4,3070	61,2346	57,9818	75,5236	
Vz5-70	1,9244	88,1738	86,8208	70,3076	
Vz6-74	4,9556	77,5446	73,7912	75,7406	
Vz7-60	2,0022	77,8300	76,6434	59,2648	
Vz8-39	2,0830	73,4548	72,6091	40,6001	

Příloha II - Tabulka hodnot titračních kyselostí vzorků skladovaných v lednici

Vzorek	Začátek měření	14 dnů	28 dnů	49 dnů	70 dnů
TV	[mgKOH/g]				
Vz1-80	0,3509	0,6726	0,7731	0,5541	0,6008
Vz2-82	0,6971	0,8432	0,9281	0,5179	0,4923
Vz3-70	0,0419	0,4357	0,4250	0,2021	0,2329
Vz4-75	0,4139	0,6333	0,6572	0,3214	0,2338
Vz5-70	0,1519	0,2999	0,5417	0,1175	0,2198
Vz6-74	2,2860	2,2922	2,0688	1,3410	1,3398
Vz7-60	0,1487	0,4294	0,1984	0,1031	0,1884
Vz8-39	0,0887	0,3892	0,3708	0,1085	0,2276

Příloha III - Tabulka hodnot titračních kyselostí vzorků skladovaných v laboratoři

Vzorek	Začátek měření	14 dnů	28 dnů	49 dnů	70 dnů
TV	[mgKOH/g]				
Vz1-80	0,3509	0,6761	0,7070	0,6484	0,4197
Vz2-82	0,6971	1,2568	0,8630	0,5605	0,5135
Vz3-70	0,0419	0,3257	1,0140	0,3097	0,1769
Vz4-75	0,4139	0,6183	0,3786	0,4041	0,2597
Vz5-70	0,1519	0,2603	0,7647	0,3479	0,2355
Vz6-74	2,2860	2,5974	2,9193	1,6232	2,4202
Vz7-60	0,1487	0,3248	0,3603	0,2466	0,2826
Vz8-39	0,0887	0,3490	0,3840	0,3211	0,1482

Příloha IV - Tabulka hodnot peroxidových čísel vzorků skladovaných v lednici

Vzorek	Začátek měření	14 dnů	28 dnů	49 dnů	70 dnů
PV	[mekv. per. kysl./kg]				
Vz1-80	2,1365	2,0610	2,4675	1,0864	2,5001
Vz2-82	1,3739	0,9731	2,5183	1,6004	3,1038
Vz3-70	2,2268	1,2823	3,2370	2,8378	5,4178
Vz4-75	1,7252	0,6967	3,8511	4,4964	2,5204
Vz5-70	2,0682	3,0668	2,7195	3,0009	6,1583
Vz6-74	1,4883	0,7066	3,9117	1,4863	4,3715
Vz7-60	4,6075	7,4870	5,8353	5,6479	8,3373
Vz8-39	5,4007	7,6635	6,7817	11,6383	14,6169

Příloha V - Tabulka hodnot peroxidových čísel vzorků skladovaných v laboratoři

Vzorek	Začátek měření	14 dnů	28 dnů	49 dnů	70 dnů
PV	[mekv. per. kysl./kg]				
Vz1-80	2,1365	5,0684	3,0733	4,1518	6,5266
Vz2-82	1,3739	4,7617	5,0881	4,9723	5,5294
Vz3-70	2,2268	9,1551	3,0658	5,9830	5,7298
Vz4-75	1,7252	7,0033	3,6941	3,2110	6,0971
Vz5-70	2,0682	7,6045	3,5426	5,2003	8,1888
Vz6-74	1,4883	4,4458	1,9369	2,9969	4,0092
Vz7-60	4,6075	8,9200	10,0316	15,4352	26,9071
Vz8-39	5,4007	14,7201	13,3768	15,5192	14,3267

Příloha VI – Jodová čísla vzorků na počátku a konci experimentu (0 a 70 dnů)

Vzorek	Počátek měření	Lednice 70 dnů	Laboratoř 70 dnů
IV	[g I₂/100 g vzorku]		
Vz1-80	59,9849	59,2074	58,7173
Vz2-82	60,9685	59,9157	59,9849
Vz3-70	47,6790	45,6807	47,4774
Vz4-75	61,1789	59,1038	60,4500
Vz5-70	62,2270	59,4224	53,4447
Vz6-74	60,6816	59,3293	58,4028
Vz7-60	74,0459	70,7268	73,0942
Vz8-39	43,9986	41,8171	42,4362

Příloha VII - Tabulka hodnot mastných kyselin z extraktu tuku

	Vz1-80	Vz2-82	Vz3-70	Vz4-75	Vz5-70	Vz6-74	Vz7-60	Vz8-39
obsah tuku [%]	80,34	82,41	70,87	75,52	70,31	75,74	59,26	40,60
nasyčené MK [%]	35,79	39,03	52,17	26,07	35,53	37,90	42,09	20,48
nenasyčené MK [%]	59,06	56,78	46,60	68,58	61,26	58,60	53,14	75,07
obsah nasyc. [g]^a	28,75	32,17	36,97	19,69	24,98	28,70	24,94	8,31
obsah nenasyc. [g]^a	47,45	46,79	33,03	51,80	43,07	44,38	31,49	30,48
obsah nasyc. [g]^b	28,00	32,00	33,00	30,00	20,00	30,00	12,00	7,00
obsah nenasyc. [g]^b	52,00	50,00	37,00	45,00	50,00	44,00	47,00	32,00

^a obsah naměřený pomocí GC/MS; ^b obsah uvedený na obalu

Příloha VIII – Tabulka retenční času a odezvoových faktorů při analýze MK

Číslo píku	Methyl ester kyseliny	Vzorec kyseliny	Retenční čas [min]	Odezvoový faktor RF
1	kapronová	C6:0	10,64	2,41
2	kaprylová	C8:0	13,29	1,69
3	kaprinová	C10:0	15,93	1,43
4	laurová	C12:0	18,54	1,22
5	myristová	C14:0	21,31	1,1
6	palmitoolejová	C16:1	24,95	1
7	palmitová	C16:0	24,25	1,01
8	heptadecylová	C17:0	25,8	0,87
9	stearová	C18:0	27,44	0,85
10	olejová	C18:1	28,28	0,89
11	linolová	C18:2	29,31	0,98
12	linolenová	C18:3	30,77	1,17
13	arachidová	C20:0	30,99	0,71
14	eikosanová	C20:1	31,79	0,71
15	behenová	C22:0	34,91	0,64

Příloha IX - Tabulka obsahů jednotlivých mastných kyselin u vzorků margarínů v [%]

Triviální název	C:D	Vz1-80	Vz2-82	Vz3-70	Vz4-75	Vz5-70	Vz6-74	Vz7-60	Vz8-39
kapronová	C6:0	-	0,02	0,04	0,00	0,04	0,06	0,23	-
kaprylová	C8:0	0,02	0,27	0,98	0,21	0,67	0,99	1,39	0,23
kaprinová	C10:0	0,02	0,24	0,76	0,17	0,57	0,76	0,40	0,19
laurová	C12:0	0,20	3,33	9,82	2,52	8,11	5,97	4,89	2,69
myristová	C14:0	0,90	1,72	3,49	1,05	2,93	2,80	1,75	0,95
palmitová	C16:0	30,02	29,90	33,84	19,45	20,51	23,52	26,49	13,53
palmitoolejová	C16:1	0,23	0,17	0,12	0,16	0,15	0,17	0,20	0,15
heptadecylová	C17:0	0,11	0,08	0,05	0,07	0,06	0,07	0,58	0,06
stearová	C18:0	3,97	3,10	3,03	2,21	2,25	3,31	6,11	2,35
olejová	C18:1	38,66	39,19	27,32	47,46	42,21	40,03	38,63	41,89
linolová	C18:2	14,57	13,05	18,52	15,43	13,64	13,58	13,88	23,65
linolenová	C18:3	5,09	4,00	0,59	5,09	4,82	4,42	0,29	8,92
arachidová	C20:0	0,56	0,37	0,14	0,39	0,39	0,42	0,27	0,47
eikosanová	C20:1	0,51	0,37	0,06	0,44	0,44	0,39	0,14	0,46