

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Vlastnosti a analýza rostlinných tuků a olejů
Bakalářská práce

2024

Anna Svobodová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Anna Svobodová**
Osobní číslo: **C21363**
Studijní program: **B0531A130024 Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Vlastnosti a analýza rostlinných tuků a olejů**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

- Proveďte literární rešerši zaměřenou na rostlinné tuky a oleje a jejich význam pro lidskou výživu, ale i v potravinářském průmyslu jako takovém.
- Uveďte základní zdroje rostlinných tuků a popište základní procesy pro jejich získávání, úpravu a rafinaci.
- Popište základní metody pro charakterizaci kvality tuků a také metodu pro stanovení obsahu tuku v potravinářských vzorcích. Diskutujte také možné aditivní a kontaminující látky typické pro rostlinné tuky a oleje.
- Uveďte i zdravotní aspekty související s oblastí tuků a olejů, a to jak benefity související s náhradou živočišných tuků právě za rostlinné, ale také možná zdravotní rizika spojená s nadměrnou konzumací tuků a tučných potravin.

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

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Martin Adam, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

L.S.

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Vlastnosti a analýza rostlinných tuků a olejů 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 25. 6. 2024

Anna Svobodová v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Martinu Adamovi Ph.D. za vedení mé bakalářské práce, jeho preciznost a trpělivost. Poděkování patří mé rodině, za jejich podporu během celého studia, přátelům a spolužákům. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své mamce za cenné rady ohledně studia chemie.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá rostlinnými oleji a tuky, získáváním z rostlinných zdrojů, laboratorní analýzou a vlivem na zdraví člověka. Začátek je věnován samostatně lipidům.

KLÍČOVÁ SLOVA

Rostlinné oleje, chemická analýza, kvalita olejů, mastné kyseliny, stabilita olejů, fytosteroly, kontaminanty

TITLE

The characteristics and analysis of vegetable fats and oils

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with vegetable oils and fats, extraction from vegetable sources, laboratory analysis and effects on human health. The beginning is especially devoted to lipids.

KEYWORDS

Plant oils, chemical analysis, oil quality, fatty acids, oil stability, phytosterols, contaminants

Obsah

SEZNAM ILUSTRACÍ	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
ÚVOD.....	13
1 Chemické vlastnosti tuků a olejů.....	14
1.1 Mastné kyseliny	15
1.2 Nasycené mastné kyseliny	16
1.3 Nenasycené mastné kyseliny.....	16
2 Produkce rostlinných tuků a olejů	17
2.1 Sójový olej.....	17
2.2 Palmojádrový a palmový tuk	17
2.3 Řepkový olej.....	18
2.4 Slunečnicový olej.....	18
2.5 Olej z podzemnice olejně.....	19
2.6 Bavlníkový olej.....	19
2.7 Kokosový olej.....	19
2.8 Olivový olej	20
3 Proces zpracování olejnin.....	22
3.1 Čistění semen před vlastním zpracováním	22
3.2 Mletí semen	22
3.3 Klimatizace	22
3.4 Získávání oleje.....	23
3.4.1 Lisování.....	23
3.4.2 Extrakce.....	24
3.4.3 Kombinované metody získávání.....	24
3.5 Rafinace oleje	24
3.6 Ztužování (hydrogenace)	25
4 Kontaminanty a aditiva	26
4.1 Aflatoxiny	26
4.2 Těžké kovy.....	27
4.3 3–monochlorpropandiol a glycidylestery	27
4.4 Ftaláty	28
4.5 Akrolein	28
4.6 Malondialdehyd	28
4.7 Bisfenol A.....	29
4.8 Antioxidanty	29

5	Analýza lipidů	31
5.1	Izolace lipidů v tuhých vzorcích	31
5.1.1	Soxhletův extraktor.....	31
5.1.2	Extrakce nadkritickými tekutinami.....	32
5.1.3	Zařízení Soxtec	32
5.1.4	Metoda podle Folche	32
5.2	Stanovení celkových lipidů.....	33
5.2.1	Butyrometrická metoda dle Gerbera	33
5.2.2	Refraktometrická metoda.....	33
5.2.3	Metoda plynové chromatografie	34
5.2.4	Metoda vysoce účinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií	34
5.2.5	¹ H NMR spektrometrie	34
5.3	Charakterizace tuků	35
5.3.1	Číslo kyselosti	35
5.3.2	Číslo zmýdelnění.....	35
5.3.3	Esterové číslo.....	36
5.3.4	Jodové číslo	36
5.3.5	Hydroxylové číslo.....	37
5.4	Stanovení oxidační stability tuků	38
5.4.1	Schaalův test.....	39
5.4.2	Sylverův test	39
5.4.3	Metoda aktivního kyslíku	40
5.4.4	Metoda Rancimat.....	40
5.4.5	Index stability oleje	40
5.4.6	Metoda absorpce kyslíku	40
5.5	Stanovení stupně žluklosti tuků.....	41
5.5.1	Autooxidace.....	41
5.5.2	Fotooxidace	42
5.5.3	Enzymatická oxidace	42
5.5.4	Primární oxidační produkty	43
5.5.4.1	Metoda s hexakynoželeznanem.....	43
5.5.4.2	Peroxidové číslo	44
5.5.5	Sekundární produkty oxidace	44
5.5.5.1	<i>p</i> -anisidinové číslo.....	45
5.5.5.2	Thiobarbiturové číslo	46
5.6	Stanovení konjugovaných dienových a trienových mastných kyselin UV spektrometrií	47
5.7	Stanovení <i>trans</i> -nenasycených mastných kyselin infračervenou spektrometrií.....	47

5.8	Stanovení doprovodných látek lipidů.....	47
5.8.1	Chromatografické separace.....	48
5.8.2	Tokoferoly a tokotrienoly.....	48
5.8.3	Stanovení sterolů.....	48
5.8.4	Fosfolipidy.....	49
5.9	Instrumentální metody při analýze a autentizaci tuků.....	50
6	Tuky v lidské výživě.....	51
6.1	Nutriční hodnoty a výživa.....	51
6.2	Zdravotní rizika.....	51
6.3	Biologická cesta tuků v těle.....	51
6.4	omega-3 a omega-6 mastné kyseliny.....	52
6.5	Záněty.....	54
6.6	Kardiovaskulární onemocnění.....	54
6.7	Střevní mikrobiom.....	55
	ZÁVĚR.....	57
	POUŽITÁ LITERATURA.....	58

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Struktura TAG.....	14
Obrázek 2: Aflatoxin B1	27
Obrázek 3: Příklad IP křivky	39

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ALA – kyselina alfa-linolenová

AC – číslo kyselosti (acid number)

AV – *p*-anisodinové číslo

DHA – kyselina dokosahexaenová

EFSA – Evropský úřad pro potraviny a bezpečnost

EPA – kyselina eikosapentová

FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv USA

FID – plamenově ionizační detektor

FTIR – infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

GC – plynová chromatografie

HN – hydroxylové číslo (hydroxyl number)

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

IN – jodové číslo (iodine number)

LDL-C – lipoprotein o nízké hustotě

MDD – depresivní poruchy

MK – mastná kyselina

MS – hmotnostní spektrometrie

ω -3 MK – polynenasycené mastné kyseliny ω -3

ω -6 MK – polynenasycené mastné kyseliny ω -6

PSA – stanoly (stanols)

PSE – steroly (sterols)

PSS – fytoosterolů (phytosterols)

PV – peroxidové číslo

RP – reverzní fáze

SFE – extrakce nadkritickými tekutinami

SN – číslo zmýdelnění (saponification number)

TBA – thiobarbiturové číslo

TFA – *trans*-mastná kyselina

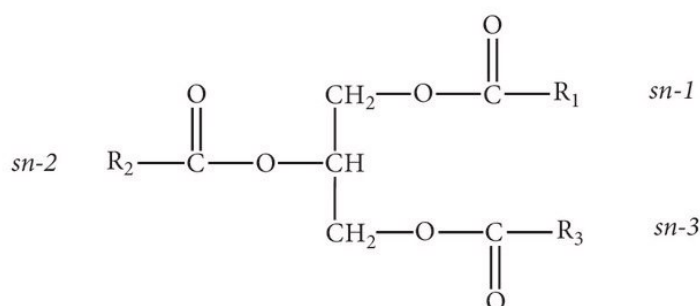
TAG – triacylglyceroly

ÚVOD

Rostlinné oleje a tuky hrají důležitou roli v lidské výživě a průmyslu. Jsou zdrojem esenciálních mastných kyselin, vitamínů, antioxidantů a energie. Vyznačují se rozmanitým složením, které ovlivňuje jejich vlastnosti a použití v potravinářství, kosmetice, farmacii a dalších oblastech. Tato práce je zaměřena na složení jednotlivých druhů olejů, jejich způsob zpracování a rafinace. Největší část bakalářské práce je věnována analýze potravin v laboratoři. Vysvětleny jsou jak způsoby izolace lipidů z různých druhů vzorků, tak stanovení celkových lipidů a frakcionace. Popsány jsou dnes již trochu zastaralá tuková čísla a metody stanovení oxidační stability jako jsou testy Rancimat a OSI. Kromě oxidační stability jsou charakterizovány i metody určující stupeň žluklosti tuků a možné instrumentální varianty. V neposlední řadě jsou uvedeny metody stanovení doprovodných látek lipidů a vývoj instrumentálních metod k analýze lipidů. Na závěr je popsán vztah lipidů v lidské výživě a mnohé výhody konzumace rostlinných olejů a tuků nad živočišnými.

1 Chemické vlastnosti tuků a olejů

Potravinářské tuky a oleje se svou chemickou podstatou řadí mezi lipidy. Lipidy nejsou přesně definovanou skupinou sloučenin, jelikož kritériem pro zařazení do této skupiny bývá hydrofóbnost, a ne jejich chemické složení [1]. Potravinářské tuky jsou přírodní sloučeniny obsahující esterově vázané mastné kyseliny (MK) o více než 3 atomech uhlíku v molekule [1–3]. Nejdůležitější kvantitativní složkou lipidů je frakce triacylglycerolů (TAG). Struktura TAG je vyobrazena na obrázku 1. Kromě toho lipidy obsahují doprovodné látky jako fosfolipidy a menší obsah glykolipidů, sterolů a vitaminů A, D, E a K [4]. Vitamin E má navíc antioxidační vlastnosti a může pohlcovat volné radikály, které vedou k předčasnému stárnutí a karcinogenezi [5].



Obrázek 1: Struktura TAG [6]

Většinou jde o směs triacylglycerolů s malým obsahem mono– a diacylglycerolů. V potravinářské praxi se rozeznávají pouze průmyslově významné složky jako jsou tuky, oleje MK, vosky a lecitin. Jde o látky nerozpustné ve vodě a velmi málo rozpustné v alkoholech. Vlastnosti těchto látek jsou definovány hlavně složením a obsahem mastných kyselin [1–3].

Dle chemického složení lze tuky řadit do 3 skupin:

- homolipidy,
- heterolipidy,
- komplexní lipidy.

Homolipidy jsou sloučeniny pouze MK a alkoholů. Nadále se dělí podle struktury vázaného alkoholu. Heterolipidy obsahují kromě MK a alkoholu i jiné kovalentně vázané sloučeniny, např. kyselinu fosforečnou nebo sacharidy. Do skupiny komplexních lipidů lze zařadit jak

homolipidy, tak heterolipidy, které mají některé složky navázány fyzikálními vazbami jako jsou třeba vodíkové můstky [1].

K tukům lze přiřadit ještě netěkavé polární látky, které se vyskytují v doprovodu vlastních lipidů. Nazývají se tím pádem doprovodné látky lipidů. Jejich chemická struktura je zcela odlišná od výše jmenovaných, velmi často neobsahují ani MK. Do této skupiny lze zařadit steroidy, triterpenoidy, karotenoidy, lipofilní vitamíny a další. Obsah doprovodných látek se pohybuje okolo 1 %. Tuky mohou také obsahovat malé množství lipofilních vitamínů, uhlovodíků, stopové množství fosfolipidů a jiných látek [1].

Tuky a oleje lze dělit podle bodů tání a tuhnutí na látky tvrdé a křehké (kakaové máslo), tvrdé (loje), mazlavé tuhé (palmový olej, sádlo) a viskózní kapaliny (oleje) [1].

Podle převládající MK lze dělit tuky a oleje do skupin [2]:

- s převažujícím obsahem kyseliny laurové a myristové (palmojadrový a kokosový tuk),
- s převažujícím obsahem kyseliny palmitové, stearové a olejové (tzv. rostlinná másla jako např. kakaové máslo nebo palmový olej),
- s převažujícím množstvím kyseliny olejové a linolové (slunečnicové a olivový olej), do této skupiny se řadí i technologicky významné potravinářské oleje s obsahem kyseliny linolenové do 10 % (bezerukový řepkový olej a sójový olej),
- s převažujícím obsahem kyseliny linolenové (konopný a lněný olej) a specifickými mastnými kyselinami (ricinový olej).

1.1 Mastné kyseliny

Jedná se o nejdůležitější a výživově nevýznamnější složku lipidů. Některé MK jsou běžné ve všech potravinách, jiné jsou specifické jen pro určité rody nebo čeledi [3].

V přírodě vyskytujících se lipidy lze rozčlenit do skupin [1]:

- nasycené MK,
- monoenové MK (tj. s jednou dvojnou vazbou),
- polyenové MK (tj. s více dvojnými vazbami),
- MK s trojnými vazbami a s různými substituenty.

Poloha a koncentrace dvojných, popř. trojných vazeb MK jsou pak hlavním nositelem různých fyzikálních vlastností směsí triacylglycerolů, např. bodů tání [2].

1.2 Nasycené mastné kyseliny

Běžnou složkou přírodních lipidů jsou nasycené mastné kyseliny. Jedná se o zpravidla rovné, nerozvětvené řetězce o sudém počtu uhlíků, v menší míře o lichém počtu uhlíků. Obsah atomů uhlíku se pohybuje mezi 4 až 60. V potravinách se nejčastěji vyskytuje kyselina palmitová a kyselina stearová [3].

1.3 Nenasycené mastné kyseliny

Mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou se rozlišují podle počtu atomů uhlíku, polohy dvojně vazby a její prostorové konformace. Nejvýznamnějším zástupcem je pro monoenoové MK kyselina olejová. V přírodních lipidech je prokázána přítomnost polohových izomerů, zpravidla *cis* konfigurace, tj. *Z*, a méně konfigurace *trans*, tj. *E*.

Velmi důležité místo ve výživě mají MK se dvěma dvojnými vazbami, kterých se vyskytuje v přírodních lipidech daleko méně. Nejvýznamnějšími zástupci jsou kyselina linolová a linolenová. I zde se vyskytují jak polohové, tak i prostorové izomery. U izomerů těchto kyselin se lze setkat s dělením dle polohy první dvojně vazby od koncové methylové skupiny. MK s označením ω -6 mají první dvojnou vazbu na 6. uhlíku od konce řetězce (např. kyselina arachidonová) a ω -3 mající první dvojnou vazbu na 3. uhlíku od konce řetězce (např. kyselina klupanodonová). Za zmínku stojí i MK s konjugovanými dvojnými vazbami, které se díky této skutečnosti svou reaktivitou a fyziologickými účinky podstatně odlišují od MK s izolovanými dvojnými vazbami.

MK s trojnými vazbami, rozvětvené a cyklické MK mají v potravinářství podstatně menší důležitost [3].

2 Produkce rostlinných tuku a olejů

Jedlé rostlinné oleje se získávají ze semen, dužiny, plodů a semenáčů některých rostlin. Jedlé rostlinné oleje se používají převážně při vaření, ale v malém množství také v kosmetice, kapslových doplňcích stravy a pro jiné účely [6]. Tukový průmysl zpracovává především oleje a tuky rostlinného původu z olejnatých semen. Oleje z oplodí musí být na rozdíl od oleje ze semen získávány specifickými postupy. Produkce a export olejů a olejin je silně ovlivněna demografickými, ekonomickými a sociálními aspekty. Okolo 80 % produkce je určeno pro potravinářský průmysl, 14 % pro olejářský průmysl a 6 % jako krmivo pro chovnou zvěř. Podle množství vyrobeného oleje představuje nejvýznamnější olejinu sója luštěnatá, palma olejná, řepka olejná, slunečnice roční, podzemnice olejná, bavlník chlupatý, palma kokosová a olivovník evropský. Na českém trhu jsou k dostání tuky a oleje jednodruhové nebo vícedruhové [1,2,7,8].

2.1 Sójový olej

Sójový olej je vyrobený ze semen sóji (*Glycine max* (L.) Merr.). Jedná se druhý nejvíce produkováný olej na světě. Produkce této olejininy je řízena hlavně čím dál vyšší poptávkou po sójovém proteinu, který se používá jako krmivo pro drůbež, skot a prasata. Sója je taky velmi dominantní zdroj lecitinu, který se nadále používá v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Surový sójový olej je možné získat extrakcí pomocí vhodného rozpouštědla (např. *n*-hexan) a v menší míře je používáno mechanické lisování. Co se týče kompozice MK, tak dominantní zastoupení má kyselina linolová (49–57 %), následovaná kyselinou olejovou (18–25 %), palmitovou (8–12 %) a linolenovou (3–5 %). Sójový olej má všeobecné použití v potravinářství od oleje do salátu a studené kuchyně až po margaríny [7–9].

2.2 Palmojádrový a palmový tuk

Jako palmojádrový tuk se značí tuk vyrobený z jader plodů palmy olejové (*Elaeis guineensis* Jacq.). Obsah oleje v usušených jádrech se pohybuje v rozmezí 44–57 %. Palmojádrový tuk obsahuje optimální poměr nasycených a nenasycených MK. Nejvíce zastoupenými MK jsou kyselina laurová (41–45 %), myristová (15–17 %), palmitová (7–10 %) a olejová (10–18 %). Minoritní kyselinou je zde kyselina linolová (2–4 %). Díky velmi nízkému množství kyseliny linolové je tento olej relativně stabilní vůči oxidačním procesům. Jedná se o olej velmi bohatý na karotenoidy, tokoferoly a steroly. Rafinací tyto látky ztrácí [7–9].

Velké množství triacylglycerolů palmojadrového tuku má na druhém místě v glycerolu nasycenou mastnou kyselinu. Díky tomu lze tento olej jednoduše separovat na části, a to frakce s vysokým a nízkým stupněm tání. Tekutá frakce získaná z palmojadrového tuku frakcionací se nazývá olein. Ta tuhá s vysokým bodem tání získána stejnou cestou se nazývá stearin. Tyto frakce s rozdílnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi se získávají hlavně pro různorodé požadavky potravinářského průmyslu. Palmojadrový stearin bývá v kombinaci s kokosovým olejem používán jako náplň nebo poleva cukrářských výrobků [7–9].

Palmový tuk se získává z dužiny plodů palmy olejové (*Elaeis guineensis* Jacq.), jeho tekuté frakcionovaná část se též nazývá olein a ta tuhá stearin. Obsah oleje v plodu je 35–60 %. Jedná se o nejvíce produkováný olej světa, co se objemu týče. Palmový olej má téměř vyvážený poměr nasycených a nenasycených mastných kyselin spolu s jedinečným stereospecifickým složením mastných kyselin a nutričními vlastnostmi [10]. Jedná se o nejvíce výtěžný olej, kdy se na 1 hektar půdy vyprodukuje 4,5 tuny oleje za rok. Kvalita oleje je hodně závislá na způsobu sklizně ve správné fázi zralosti, co nejmenší manipulaci během přepravy a správném druhu zpracování, jelikož špatným zacházením se aktivují přítomné enzymy lipázy a dojde k degradaci lipidů. Nejvíce zastoupenou MK je kyselina olejová (37–42 %) a linolová (8–12 %) [7–9].

2.3 Řepkový olej

Řepkový olej je olej vyrobený ze semen druhů řepky olejné (*Brassica napus* L., *Brassica campestris* L., *Brassica juncea* L. a *Brassica tournefortii* Gouan). Rozeznává se ještě jeden druh, a to nízkoerukový řepkový olej. Ten se řadí se mezi výživově nejvhodnější jedlé oleje, jelikož vysokému množství kyseliny erukové bylo přisuzováno nadměrné usazování lipidů v srdci, kosterním svalstvu a nadledvinách zvířat (hlodavců). Řepkový olej nízkoerukový vyrobený ze semen s nízkým obsahem kyseliny erukové vyšlechtěných druhů řepky olejné *Brassica napus* L., *Brassica campestris* L. a *Brassica juncea* L. musí obsahovat nejvíce 2 % hm. erukové kyseliny z celkového obsahu mastných kyselin. Nejvíce zastoupenými MK jsou kyselina olejová a linolová. Obsah mononenasyčených MK překračuje 62 % a obsah nasycených MK je 6 % [7,8].

2.4 Slunečnicový olej

Slunečnicový olej je olej vyráběný ze semen slunečnice (*Helianthus annuus* L.) Tato rostlina má velmi specifické požadavky (teplota, pH půdy, půdní živiny atd.) pro optimální růst, a proto je

pěstována jen v určitých zeměpisných lokalitách. Obsah oleje ve vysušených semenech se pohybuje okolo 45 %. Nejvyšší podíl MK má kyselina linolová (55–73 %). Kyselina olejová je zastoupena z 14–34 %, ale byly vyšlechtěny i odrůdy s vysokým obsahem kyseliny olejové, kde je podíl kyseliny linolové okolo 5 %. Slunečnicový olej je kvůli velkému zastoupení kyseliny linolové oxidačně nestálý k tepelnému kuchyňskému použití [7–9].

Slunečnicový olej s vysokým obsahem kyseliny olejové je vyrobený ze semen s vysokým obsahem kyseliny olejové kultivovaných druhů semen slunečnice, které musí obsahovat nejméně 75 % hm. kyseliny olejové z celkového množství mastných kyselin. Jedná se tedy o olej, který je velmi vhodný ke smažení [8].

2.5 Olej z podzemnice olejné

Olej z podzemnice olejné je olej vyrobený z jader podzemnice olejné druhu (*Arachis hypogaea* L.). Obsah oleje se pohybuje okolo 40–50 %. Nejvíce zastoupené MK jsou kyselina olejová (50–70 %), linolová (14–30 %) a palmitová (7–12 %) [7–9].

2.6 Bavlníkový olej

Bavlníkový olej se získává ze semen různých kultivovaných druhů bavlníku (*Gossypum* spp.). Hlavními importéry jsou Spojené státy americké, Rusko a Čína. Nejvíce zastoupenými MK jsou kyselina linolová (52 %), olejová (22 %) a palmitová (24 %).

Bavlníkový olej je ojedinělý svým obsahem žlutého toxického pigmentu gossypolu, který do oleje přechází ze semen bavlníku chlupatého, kde se vyskytuje ve speciálních pigmentových buňkách. Jedná se o terpenoid vyskytující se ve 2 enantiomerech, tj. (+) a (-). Toxický jen pro všežravce je (-) -gossypol. Chronická intoxikace je způsobená dlouhodobým příjmem malých dávek a projevuje se sníženou chutí k jídlu, poškozením jater a sníženou srážlivostí krve, u mužů reverzibilní sterilitou při dávce 10 mg za den. Jelikož se jedná o pigment, je jeho obsah rafinací snížen pod 1 ppm [7,8,10].

2.7 Kokosový olej

Kokosový olej je vyráběn z dužiny kokosových ořechů, plodů palmy kokosové (*Cocos nucifera* L.). Palmy kokosové jsou pěstovány na obou stranách rovníku v místech s vysokou vlhkostí vzduchu. Obsah oleje v dužině je 34 %. Po usušení a rozemletí obsah oleje vzroste až na 65–68 %. Hlavní podíl MK mají kyselina laurová (48 %), myristová (18 %) a palmitová (9–12 %). Díky vysokému počtu nasycených mastných kyselin je velmi oxidačně

stabilní a tím pádem vhodný pro teplou kuchyňskou úpravu. Vytváří v ústech při požití chladivé pocity, díky tomu je také používán jako součást náplní sušenek, cukrářských výrobků a polev. Kokosový olej snadno podléhá enzymatické hydrolýze v potravinách, které obsahují vysoké koncentrace vody [7–9].

2.8 Olivový olej

Olivový olej se vyrábí z plodů z olivovníku (*Olea europaea sativa* Hoff. et Link). Plod olivovníku obsahuje 38–58 % oleje a až 60 % vody. Je nedílnou součástí středomořského stravování. Nejvíce zastoupené MK jsou kyselina olejová (64–86 %), palmitová (7–16 %) a linolová (4–15 %). Tento olej se zpracovává z co možná nejčerstvějších plodů, jinak by díky přítomnosti enzymů lipáz mohlo dojít k hydrolýze oleje v plodu [7–9].

V Evropské unii lze olivový olej nalézt hned v 8 kategoriích jako extra panenský olivový olej, panenský olivový olej, lampantový olivový olej, rafinovaný olivový olej, složený z rafinovaných olivových olejů a panenských, surový olivový olej z pokrutin, rafinovaný olivový olej z pokrutin a olivový olej z pokrutin [12].

Olivové oleje se řadí do jednotlivých kategorií dle parametrů jakosti, jako jsou míra kyselosti (stanovení volných mastných kyselin), hodnota peroxidového čísla, obsah mastných kyselin a sterolů, ovocná chuť nebo organoleptické nedostatky [13].

Do panenských olivových olejů se pak řadí oleje [13]:

- Extra panenský olivový olej jako olej nejvyšší kvality. Tento olej nevykazuje žádné organoleptické nedostatky a má ovocnou chuť. Míra kyselosti se pohybuje pod 0,8 %.
- Panenský olivový olej, který má určité minimální organoleptické nedostatky a míra kyselosti nepřekračuje 2 %.
- Lampantový olivový olej je nižší jakosti s kyselostí překračující 2 %, bez ovocné chuti a vykazuje nedostatky sensorických vlastností. Není určen k maloobchodnímu prodeji. Rafinuje se nebo používá k průmyslovým účelům.

Další druhy olivového oleje jsou [7,12]:

- Rafinovaný olivový olej získávaný po rafinaci defektního panenského olivového oleje. Není určen k maloobchodnímu prodeji. Jeho kyselost dosahuje 0,3 %.

- Olivový olej rafinovaného a panenského původu dohromady je produkt získaný mícháním rafinovaného s extra panenským olejem nebo panenským olejem. Jeho kyselost dosahuje k 1 %.
- Surový olivový olej z pokrutin. Pokrutiny jsou zbytková hmota vzniklá lisováním oliv.
- Rafinovaný olivový olej z pokrutin. Vzniká smícháním surové olivového olej z pokrutin prošlého rafinací a panenského olivového oleje. Výsledný olej se nazývá rafinovaným olejem z pokrutin. Jeho číslo kyselosti má hodnotu až 1 %.
- Olivový olej z pokrutin. Jeho peroxidové číslo dosahuje 15 mEq O₂/kg.

3 Proces zpracování olejnin

Proces zpracování olejnin je specifický pro danou zemi, které oleje produkují. Je nutné tyto olejninu zpracovávat na místě, protože kvůli jejich biologickým vlastnostem a aktivitě lipolytických enzymů není možno je převážet. Do zpracovatelských továren tedy přicházejí upravená zemědělskou prvovýrobou. Do těchto úprav se řadí čištění semen, sušení a skladování [14].

3.1 Čištění semen před vlastním zpracováním

Řadí se sem procesy loupání a mletí semen (mechanické procesy) a klimatizace semen (fyzikálně-chemické procesy s působením tepla a páry). Loupání je proces, který se neprovádí pokaždé a u všech semen. Loupání podstupují semena podzemnice a slunečnice z důvodu snížení podílu vosku v oleji, sójové boby kvůli získávání kvalitní bílkoviny. Řepka se zpravidla neloupá [14].

3.2 Mletí semen

Dochází k rozrušení buněčných membrán. Tento proces je uskutečňován pomocí válcových drtičů a mlecích stolic s horizontálním, vertikálním nebo diagonálním uspořádáním rýhových válců [15]. Tyto válce se otáčejí různou rychlostí proti sobě. Výsledkem tohoto procesu je namleté semeno o velikosti 0,5–2,0 mm. Rozmělnění semen před lisováním je důležité pro snazší zisk oleje [14].

3.3 Klimatizace

Jedná se o kombinaci biochemických a fyzikálně-chemických procesů působících na namleté semeno. Proces se skládá ze dvou fází. V první fázi se za použití přímé syté páry při teplotě 80–110 °C docílí hydrofilizace bílkovin a polysacharidů přítomných v semenu. Dojde ke vzniku hydrofilních gelů a k praskání buněčných stěn. Díky ohřevu dochází také ke snížení viskozity oleje, stává se viskoplastickým, obsah vody se zvýší na 12–15 %, dochází ke koagulaci bílkovin, koloidních slizovitých látek a jsou deaktivovány enzymy [15]. V druhé fázi se provádí sušení nepřímým ohřevem. Upravuje se koncentrace vody za účelem zisku optimálních mechanických vlastností materiálu. Klimatizace negativně ovlivňuje barvu oleje, zvýšenou koncentraci fosfolipidů v oleje, oxidační stabilitu oleje a dochází k denaturaci proteinů.

Proces je uskutečňován v nahřívacích pánvích, což jsou vertikální zařízení s 5–7 patry. V horních patrech je uskutečňována 1. fáze klimatizace, tj. zvyšování vlhkosti přímou parou,

a ve spodních patrech je uskutečňováno sušení za stálého míchání. Horizontální klimatizátory jsou soustavy 3 vodorovných klimatizačních válců s dvojitým pláštěm. Posouvání a současné míchání materiálu je zajištěno šnekem nebo lopatkovým systémem. Přímá pára je v tomto případě dávkována do 1. a 3. válce. Vodu lze dávkovat pouze do 1.válce. Každý válec lze připojit k vakuovému systému [14].

3.4 Získávání oleje

Volí se mezi 2 základními operacemi, tj. lisováním a extrakcí, nebo jejich kombinací. Jedním z kritérií rozhodujících při volbě procesu je obsah oleje v dané olejnině. Hraniční obsah oleje v semeni je 25–30 %. Při vyšším obsahu oleje se volí cesta lisování. Při nižším obsahu se volí extrakce z důvodu maximalizace výtěžku. V surových olejích se mimo triacylglycerolů vyskytují i další lipidické látky, jejichž obsah nezávisí na technologickém procesu získávání oleje. To jsou monoglyceroly, diacylglyceroly, steroly, tokoferoly a další. Látky, jejichž obsah v oleji je závislý na volbě technologického procesu, jsou glycerofosfolipidy a glykolypidy (součást buněčných membrán). Na teplotě procesu jsou závislé koncentrace vosků (součást lipidů slupek) a fosfolipidů [14,15].

V dnešní době jsou používány převážně 3 způsoby získávání oleje:

- kombinace předlisování – dolisování,
- kombinace předlisování – extrakce,
- technologie přímé extrakce.

3.4.1 Lisování

Jedná se o mechanické oddělení oleje u rostlinných pletiv za použití tlaku. Dojde ke stlačení rozemletých semen a olej vytéká vytvořenými kapilárami. Tento proces je volen při vyšším obsahu oleje (25–30 %). Používají se přístroje jako jsou šnekové hydraulické lisy, šnekovice, cedřákový koš s kanálky atd. V dnešní době se výhradně používají kontinuální šnekové lisy. Podle pracovního tlaku se rozlišují předlisy a dolisy. Předlisy dosahují tlaku 5–16 MPa a obsah tuku ve zbytkových materiálech tzv. pokrutinách je 17–19 %. Dolisy dosahují tlaku až 40 MPa a obsah tuku v pokrutinách se pohybuje 8–9 % [14,15].

3.4.2 Extrakce

Extrakce je proces za použití organického rozpouštědla (např. *n*-hexan při teplotě 45–55 °C). Používá se pro získání olejí při nižším obsahu tuku v surovině. Jde o primární zpracování sójových bobů. Materiál, ze kterého se extrahuje musí být velmi jemně rozmělněn, aby byla dosažena co největší plocha extrakce. Extrakci lze provádět přímo a nepřímo. Vzniklá směs vyextrahovaného oleje a organického rozpouštědla se nazývá miscela. Následnou destilací organického rozpouštědla z miscely se získá surový olej. Obdobně lze z extrahovaného šrotu ještě získat pomocí zařízení „toaster“ cca 1,5 % tuku [15].

3.4.3 Kombinované metody získávání

Pro semena se středním obsahem oleje je výhodné kombinovat více metod dohromady. Buď jako dvě na sebe navazující lisování nebo lisování následované extrakcí ve vhodném rozpouštědlem. Zajistí se vysoká výtěžnost a účinnost zvláště ve velkovýrobě.

Kombinace předlisování a dolisování je volena, když je olejnatost ve zbytkových výliscích pod hranicí 10 %. U řepky olejné, kde je obsah oleje v semeni 40 %, se tímto způsobem získá 85–88 % oleje. Kombinace předlisování a extrakce je používána, když je olejnatost ve výliscích pod 20 %. U řepky se tímto způsobem získá až 97 % oleje, zbytkový obsah oleje ve pokrutinách je 1,5 % [14].

3.5 Rafinace oleje

Jedná se o proces čištění surového oleje, který obsahuje řadu nežádoucích látek. Výsledkem je pak plně rafinovaný olej, který je směsí acylglycerolů s minimální koncentrací volných MK (0,05–0,10 %), fosfolipidů (0–1 ppm P) a barviv. Senzoricky je plně neutrální vůně i chuti. Mezi procesy rafinace se řadí hydratace, neutralizace, bělení a deodorace.

Hydratace je proces postupného vstřikování vody a kyseliny fosforečné (60–80 °C) do oleje. Dojde k vysrážení hydrofilních látek jako jsou bílkoviny. Vedlejším produktem je hydratační kal, ze kterého lze další úpravou získat krmný a potravinářský lecitin.

Dalším procesem je neutralizace, která slouží k odstranění volných MK díky hydroxidu sodnému. Dochází ke vzniku mýdlových vloček. Vločky se rozpustí ve vodě za tvorby mýdlového roztoku.

Bělení slouží k odstranění barviv, jako jsou β -karotenoidy, chlorofyly aj. K oleji je přidáno aktivní uhlí za sníženého tlaku při 80–90 °C.

Deodorace se provádí za účelem eliminace pachových a chuťových složek. Jedná se o proces destilace s vodní parou při 180–200 °C, kdy vodní páry vážou nežádoucí látky a odstraňují je z oleje [14,15].

3.6 Ztužování (hydrogenace)

Hydrogenace se provádí za účelem změny fyzikálních vlastností pro potravinářské účely jako je výroba emulgovaných tuků apod. Jde o proces adice vodíku do dvojných vazeb a jejich nasycování. Celý proces probíhá v reaktoru za přítomnosti Ni jako katalyzátoru a křemeliny jako nosiče při 180–200 °C.

Hydrogenace se používá k přeměně *cis* na *trans* dvojných vazeb, což způsobuje změny ve fyzikálních a chemických vlastnostech oleje. Dalším důsledkem je, že destrukce přítomných omega-3 mastných kyselin (ω -3) [16].

Dojde-li k totální hydrogenaci a existenci pouze nasycených MK, vznikají plně ztužené tuky. Hydrogenace 30–50 % vazeb se nazývá parciální. Vznikají při ní oleje s vyšší oxidační stabilitou jako jsou fritovací oleje [15].

4 Kontaminanty a aditiva

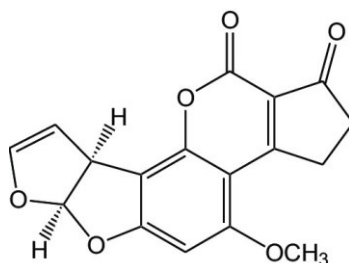
Kontaminanty a aditiva jsou kritickými problémy, které mají vliv na bezpečnost a kvalitu rostlinných olejů a tuků. Kontaminanty, jako jsou těžké kovy, aflatoxiny, pesticidy a estery kyseliny ftalové, si mohou najít cestu do olejů během různých fází výroby, zpracování a skladování [5,17–19]. Proto jsou kladeny vysoké nároky na zajištění kvality a čistoty výrobku ve všech fázích procesu [19].

Kontaminanty v jedlých olejích mohou pocházet i z procesu rafinace a průmyslové výroby potravinářských produktů na bázi oleje, což vyžaduje důkladný monitoring a nastavení strategie snižování obsahu nečistot [20,21].

Přítomnost škodlivých sloučenin z termooxidačního stresu podtrhuje důležitost správné manipulace a skladovacích postupů, k zajištění bezpečnosti jedlých olejů. Kromě chemických kontaminantů je při výrobě jedlých olejů problémem i biologická kontaminace. Studie ukázaly, že patogeny jako *Escherichia coli* mohou být přenášeny do rostlinných tkání prostřednictvím kontaminovaného hnoje nebo zavlažovací vody, což vede k potenciálním rizikům [22]. Zajištění hygieny a bezpečnosti celého výrobního procesu, od pěstování až po zpracování, je zásadní pro prevenci mikrobiální kontaminace [23]. Pro identifikaci a kvantifikaci kontaminantů hraje hlavní roli vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) [24]. Pesticidy, běžně používané k ochraně olejných plodin před škůdci a chorobami, představují další významné riziko kontaminace jedlých olejů [16].

4.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny jsou mykotoxiny produkované mikroorganismy druhu *Aspergillus*, konkrétně *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Aflatoxiny se vyskytují zejména v oblastech s horkým a vlhkým klimatem. Mohou kontaminovat vstupní suroviny jedlých olejů [17]. Očekává se, že změna klimatu bude mít vliv na výskyt aflatoxinů v potravinách v Evropě. Je známo, že aflatoxiny jsou genotoxické a karcinogenní. Expozice prostřednictvím potravin by měla být co nejnižší. Aflatoxiny se mohou vyskytovat v potravinách, jako jsou arašidy, stromové ořechy, kukuřice, rýže, fíky a další sušené potraviny, koření, surové rostlinné oleje a kakaové boby, a to v důsledku kontaminace plísněmi před sklizní a po ní. Přirozeně vzniká několik typů aflatoxinů. Aflatoxin B1, který je zobrazen na obrázku 2, je v potravinách nejčastější a je nejsilnější genotoxické a karcinogenní aflatoxin. [25].



Obrázek 2: Aflatoxin B1 [26]

4.2 Těžké kovy

Těžké kovy, jako As, Cr^{VI}, Cd, Pb, Cu, Zn, Ni, Hg a Mn mohou kontaminovat olejnaté rostliny už během jejich růstu, což představuje vážná zdravotní rizika [5]. Nadměrný expozice Pb může poškodit nervy, kosti, krevní oběh, endokrinní a imunitní systém. Chronická expozice Cd může navíc vyvolat karcinogenní, teratogenní a mutagenní účinky. Chronické účinky Cr spočívají v podráždění sliznic zažívacího traktu, nosu a plic. Arzen zase může způsobovat různá kožní onemocnění

4.3 3–monochlorpropandiol a glycidylestery

Procesní kontaminanty jsou chemické látky, které se vytváří během zpracování a rafinace rostlinných olejů. Mezi hlavní procesní kontaminanty patří 3-monochlorpropandiol (3-MCPD) a glycidylestery. Procesní kontaminanty jsou závažným problémem z hlediska bezpečnosti potravin. Díky regulacím a technologickým inovacím je možné snižovat jejich přítomnost v potravinách a minimalizovat tím zdravotní rizika

Kontaminanty 3-MCPD a příbuzné estery 3-MCPD jsou to zástupci chlorpropanolů. Vznikají jako procesní kontaminanty rafinace kyselých hydrolyzátů bílkovin, a to hlavně kvůli vysokým teplotám. Procesní kontaminanty jsou závažným problémem z hlediska bezpečnosti potravin. Nejvyšší obsah esterů 3-MCPD je v rafinovaných rostlinných olejích získaných z oplodí semen. Z oplodí semen se získává například olivový nebo palmový olej. Glycidylestery samy o sobě škodlivé nejsou. Problematické začínají být v trávicím traktu, kde hydrolyzují na glycidol, který je genotoxický a karcinogenní [29]. Největší část 3-MCPD vzniká při deodoraci kvůli vysokým teplotám až 200 °C. Vysoký obsah těchto látek nadále zůstává i ve výrobcích, které byly z těchto olejů vyrobeny. Velmi nízký obsah těchto látek mají panenské oleje ze semen jako řepkový, sójový aj. Tolerovatelný denní příjem 3-MCPD je 2,0 µg/kg tělesné hmotnosti. Při vyšších dávkách jsou možné nepříznivé účinky na ledviny a na mužskou fertilitu [16,28].

4.4 Ftaláty

Ftaláty neboli estery kyseliny ftalové jsou chemické látky s rozsáhlým průmyslovým využitím. Hlavní využití mají jako změkčovadla polyvinylchloridu a zlepšují jeho pružnost. Tyto látky jsou endokrinní disruptory a mohou mít negativní účinky na reprodukční zdraví a vývoj. Mohou ovlivňovat syntézu androgenů a snižovat plodnost. Ftaláty se mohou uvolňovat z potravin, výrobků a obalových materiálů. Do kontaktu s ftaláty se může člověk dostat prostřednictvím různých cest, jako jsou požití, vdechnutí nebo styk s pokožkou. Tato skupina látek je všudypřítomná v životním prostředí, protože se snadno uvolňují z plastů do vody, potravin, půdy a vzduchu. V posledních letech se projevují obavy ohledně vlivu ftalátů na těhotné ženy a děti. Výzkumy ukazují vysoké koncentrace ftalátů v nealkoholických nápojích, minerálních vodách, víně, oleji a hotových jídlech, což může být důsledek jejich přítomnosti v potravinovém řetězci a náhodného uvolňování z obalů. Nicméně, vliv ftalátů na zdraví lidí závisí na konkrétních vlastnostech těchto látek a je stále předmětem diskusí [29,30].

4.5 Akrolein

Akrolein neboli propenal se řadí do skupiny aldehydů s přímým řetězcem. Jde o látku, vznikající z přehřátých tuků nebo přímou dehydratací volného glycerolu. V domácím prostředí vzniká při smažení nebo fritování u různých druhů olejů. Propenal má ostře dráždivý zápach. Jedná se o sloučeninu s toxickými účinky. Je produktem oxidace lipidů [31,32].

4.6 Malondialdehyd

Malondialdehyd (MDA) je aldehyd existující jako monomer i oligomer. Jde o endogenní produkt vznikající při oxidaci polynenasycených mastných kyselin v potravinách. MDA reaguje především s aminoskupinami lysinových zbytků bílkovin a způsobuje zesíťování bílkovin. MDA může vytvářet genotoxické adukty s bílkoviny a s DNA. Je spojován se škodlivými změnami bílkovin a sníženou výživovou hodnotou potravin. Tradičně se používá při stanovení hodnot thiobarbiturového čísla, což je měřítko žluknutí lipidů [30,33].

4.7 Bisfenol A

Bisfenol A (BPA) je látka používaná k výrobě některých plastů a pryskyřic. Vyskytuje se zejména v polykarbonátovém plastu, který se používá na výrobu dávkovačů vody, obalových nádob na potraviny a opakovaně použitelných lahví na nápoje. Látka se také využívá pro výrobu ochranných nátěrů a obložení potravinových a nápojových plechovek a nádob. Studie naznačují, že BPA a podobné chemické látky mohou migrovat do potravin a nápojů, které tyto plastové nádoby obsahují, zvláště při vysokých teplotách. Evropská agentura pro bezpečnost potravin (EFSA) stanovila maximální přípustný příjem BPA na 0,2 ng/kg tělesné hmotnosti za den. Potenciální škodlivé účinky má BPA na reprodukční, vývojový a metabolický systém. Po absorpci se většina BPA metabolizuje ve střevech a játrech na neškodnou glukuronidovou formu. Endokrinní disruptivní účinek mají pouze volné molekuly BPA v krvi. Protože kojenci a děti nemají stejně účinný metabolismus jako dospělí, používání BPA obsahujících kojeneckých lahví může ovlivnit jejich vývoj. Studie ukazují, že BPA byl nalezen u více než 90 % obyvatel USA [30,34].

4.8 Antioxidanty

Antioxidanty jsou látky, které chrání potraviny před znehodnocením způsobeným oxidací. Svou přítomností prodlužují údržnost potravin. Projevem takové oxidace je žluknutí tuků a dalších snadno se oxidujících složek potravin. Oxidace tuků v potravinách vyvolává chemické změny a negativně ovlivňuje jejich senzoryckou, toxikologickou a výživovou hodnotu. Antioxidanty lze rozdělit na přírodní a syntetické. Z přírodních jsou jediná povolená aditiva tokoferoly. V dnešní době se však zkoumá použití některých rostlinných extraktů jako je zázvor, česnek, rozmarýn atd. na oxidační stabilitu olejů [35]. Ze syntetických pak mají velký význam hlavně fenolové antioxidanty a endioly. Příkladem endiolového antioxidantu je kyselina erythorbová a její soli [36].

Fenol sám o sobě je jako antioxidant neúčinný. Musí dojít k substituci v polohách ortho a para alkylovými skupinami, aby byla zvýšena reaktivita fenolu s volnými radikály. Takovými antioxidanty jsou butylhydroxyanisol (BHA) a butylhydroxytoluen (BHT). Za zmínku stojí ještě terciální butylhydrochinon (TBHQ), který je jako jediný difenolem.

BHA je účinný při ochraně tuků s MK s kratším řetězcem jako je kokosový nebo palmojádrový olej, aroma a barvy silic. Často se používá v obalových materiálech odkud může migrovat do potravin.

BHT je poněkud účinnější jako antioxidant živočišných tuků. Je možné použít jako směs s BHA. Obě sloučeniny se mohou projevat pachem podobným fenolům. Synergicky BHA působí s BHT a galláty. Je účinný jako antioxidant i po tepelném zpracování potravin.

TBHQ je antioxidant nejlepší pro tuky určené na smažení. Kombinací s chelatačními činidly (např. kyselinou citronovou) zvyšuje svou antioxidační aktivitu speciálně u rostlinných olejů.

Propylgallát je ester kyseliny gallové. V malém množství se nachází v potravinách rostlinného původu. Je polárnější než předchozí antioxidanty a jeho účinnost je vyšší v bezvodých tucích. Jde o nestálou sloučeninu, a proto není vhodná pro tuky určené ke smažení. S ionty železa vytváří modročerné komplexy, a proto je vždy používáno v kombinaci s chelatačními činidly [36].

5 Analýza lipidů

Pro analýzu lipidů v potravinách je důležité mít reprezentativní vzorek, jehož vlastnosti nebyly před analýzou změněny. U potravin obsahujících lipidy ve vyšším množství, jako jsou olivový olej nebo rostlinný olej, lze provést analýzu bez přípravy vzorku. U jiných potravin je však potřeba lipidovou složku extrahovat a přečistit. Existují různé metody izolace, jako jsou použití rozpouštědel nebo pouhé lisování jako u semen olejnin. Poté, co jsou lipidy separovány, se často rozpustí, filtrují nebo odstředí, aby se odstranily cizí látky. Může proběhnout i sušení, za účelem zbavení se zbytkové vlhkosti. Jako u každého analytického postupu je důležité, aby se během extrakce nezměnily vlastnosti analyzovaných lipidů. Oxidaci lipidů lze minimalizovat přidáním antioxidantů, plynným dusíkem a zamezením tepla a světla [37].

Analyzovaný olej by měl pocházet ze známé šarže semen a nemá být kontaminovaný neznámými oleji. Některé faktory složení oleje mohou být ovlivněny procesem deodorizace, která může odstranit tokoferoly v různém množství. Pokud je potřeba získat informace o výtěžku oleje, je vhodné použít extrakci rozemletých semen rozpouštědlem [38].

Kvalitu olejů lze určit pomocí různých analytických metod. Každý olej by měl splňovat určité kvalitativní znaky, jako například neobsahovat cizí tělesa, být bez žluklých pachů a chutí. Existují specifické limity pro maximální obsah těkavých látek nebo nerozpustných cizích látek. Kromě toho existují v rafinovaných a panenských olejích limity pro přítomnost některých kovů, jako jsou železo a měď. Přičemž limitní hodnoty kovů u rafinovaných olejů jsou nižší než u olejů lisovaných za studena nebo panenských olejů [38].

5.1 Izolace lipidů v tuhých vzorcích

Postup izolace se volí podle druhu a vlastností vzorku a dále taky podle následných testů, zda se bude jednat pouze o stanovení celkových lipidů nebo bude následovat ještě některé dodatečné stanovení [39]. Extrakce se volí hlavně u stanovení olejnatosti semen [35].

5.1.1 Soxhletův extraktor

Jedná se o metodu extrakce typickou pro pevné vzorky. Vysušený a homogenizovaný vzorek se vloží do patrony v Soxhletově extraktoru a nechá extrahovat vhodným lipofilním rozpouštědlem (např. ethyletherem) pod zpětným chladičem. Rozpouštědlo je přivedeno k varu. Páry čerstvého rozpouštědla, které vznikají v destilační baňce, procházejí do chladiče, kde kondenzují a kapou na vzorek. Tuk se převádí z extrakční patrony do destilační baňky. Vyextrahované látky zůstávají v destilační baňce a páry rozpouštědla se po kondenzaci

opakovaně dostávají do styku se vzorkem. Tato operace se opakuje do úplného vyextrahování vzorku, což může být i několik hodin. Při ukončení extrakce je rozpouštědlo vypuštěno výpustním kohoutem. Destilační baňka s vyextrahovaným tukem je vložena na několik minut do sušárny a po vychladnutí je destilační zbytek v baňce se zvážen [40,41].

Metoda Soxhletovy extrakce je velmi kontroverzní. Na jedné straně má velmi podobné výtěžky jako Folchova metoda (viz 5.1.4). Na druhé straně degraduje termolabilní složky. Další nevýhodou je vysoká spotřeba rozpouštědel, dlouhá doba extrakce a použití toxických rozpouštědel. Ekologičtější alternativu představuje extrakce nadkritickými tekutinami (SFE) [42].

5.1.2 Extrakce nadkritickými tekutinami

SFE používá extrakční plyn stlačený nad kritickou teplotu a tlak. Nejvhodnějším extrakčním médiem je CO₂, který má snadno dosažitelné hodnoty kritické teploty a tlaku. Média v takovém stavu mají specifické vlastnosti. CO₂ je netoxický a v nadkritickém stavu má polaritu stejnou jako *n*-pentan. Tyto skutečnosti dělají z SFE velmi vhodnou pro extrakci nepolárních lipidů. V případě extrakce polárních lipidů je možné k CO₂ přidat organický modifikátor, například ethanol, methanol nebo ethyl-acetát. Ve srovnání s klasickými metodami extrakce má SFE vyšší účinnost a výtěžky [41,42].

5.1.3 Zařízení Soxtec

Jedná se o metodu odvozenou od klasické extrakce. Při této metodě je extrakční patrona se vzorkem nejprve ponořena do vroucího horkého rozpouštědla a dochází tak k extrakci vroucím rozpouštědlem. Po určité době je patrona se vzorkem zvednuta nad hladinu a vzorek je následně promýván čistým zkondenzovaným rozpouštědlem. Tento krok je prakticky totožný s extrakcí v Soxhletově extraktoru. Tato metoda je schválena organizací Spojených států amerických Environmental Protection Agency jako standardní metoda. Tato metoda je rychlejší než Soxhletova extrakce. Kontakt vzorku s rozpouštědlem je v první fázi mnohem větší a tím pádem dochází k rychlejšímu přenosu hmoty [42].

5.1.4 Metoda podle Folche

Metoda je vhodná pro vzorky biologického původu, které mají vysoký obsah bílkovin a vody. Vzorek je extrahován a homogenizován ve směsi rozpouštědel chloroformu a methanolu 2/1 (obj./obj.). Směs je vložena do odštědivky, doplněna fyziologickým roztokem a následně odstředěna po dobu 12 až 15 min. Horní vrstva je odstraněna pomocí vaku. Ke zbývající směsi je přidán síran sodný pro vysušení. Obsah centrifugační zkumavky je přefiltrován do

odměrného válce a je zaznamenán objem. Dva 10ml podíly jsou přeneseny do předem zvážených hliníkových misek. Vzorek je sušen na vzduchu a zvážen pro stanovení množství tuku [43].

5.2 Stanovení celkových lipidů

Pro stanovení celkového obsahu lipidů existuje hned několik metod. Nejčastější je metoda dle Soxhleta zmíněná výše. Jako nepřímá metoda funguje refraktometrická metoda podle Liethe [38]. Pro profilování lipidů je možné použít metodu vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s hmotnostně spektrofotometrickým (MS) detektorem. Chromatografická separace umožňuje rozlišit polární lipidy i triacylglyceroly ve stejném cyklu. Metoda vyžaduje jen malou přípravu vzorku [43]. Složení mastných kyselin a TAG se dá stanovit po předchozí derivatizaci také pomocí plynové chromatografie (GC). Výhodné je i použití NMR spektrometrie [36].

5.2.1 Butyrometrická metoda dle Gerbera

Jedná se o metodu stanovení celkových lipidů u mléka a mléčných výrobků. Do butyrometru se odpipetuje určité množství mléka, do kterého se přimíchá kyselina sírová, čímž se rozloží bílkoviny, rozpadne se membrána tukových kuliček a uvolní se tuk. Následně se přidá isoamylalkohol. Isoamylalkohol se používá k zabránění zuhelnatění cukrů kyselinou sírovou, což může být problém při odečítání obsahu tuku. Vzorek se pak odstředí za horka (55–60 °C), což způsobí, že tekutý tuk stoupá do hrdla butyrometru. Hrdlo je opatřeno kalibrovanou stupnicí odstupňováno a udává % hm. přítomného mléčného tuku. Fosfolipidy v mléce se touto metodou nestanovují, protože se nacházejí ve vodné fázi nebo na rozhraní mezi tukovou a vodnou fází [35].

5.2.2 Refraktometrická metoda

Jedná se o velmi rychlou a jednoduchou metodu. Hodí se pro rychlé rozbory malých vzorků. Její přesnost je relativní, ale dostačující pro potraviny s vyšším obsahem tuku. V třetí misce se rozetře vzorek olejiny s vyžíhaným pískem. Následně se přidá bromnaftalen a pokračuje se ve tření. Kašovitá směs je následně přes fritu odfiltrována do zkumavky. Filtrát je následně změřen v refraktometru. pak změřen na refraktometru při 20 °C pro index lomu. Slepým pokusem je změřen index lomu bromnaftalenu. Obsah tuku se určí jako rozdíl indexu lomu bromnaftalenu a bromnaftalenu se vzorkem [38].

5.2.3 Metoda plynové chromatografie

Základní podmínkou pro použití GC je dostatečná těkavost analytů a jejich tepelná stabilita. Vzhledem k této skutečnosti je GC omezeně použitelný pro analýzu lipidů. Lipidy, které nejsou těkavé nebo tepelně stabilní, je třeba derivatizovat a až poté analyzovat.

Derivatizace je při GC analýze nezbytná. Derivatizace se používá zejména při analýze MK s krátkým řetězcem. Poskytuje výhody, jako je zvýšená selektivita. Nejjednodušším derivatizačním postupem je tvorba methylesterů MK za použití methanolu jako derivatizačního činidla a kyselého katalyzátoru. Vniklé methylestery jsou extrahovány do hexanu. Další postupy využívají činidla, jako jsou kyselina heptafluorobutyrová nebo pentafluorobenzoyl. Nevýhodou derivatizace je chemická změna molekul lipidů, což je v některých případech analýzy nežádoucí.

Při analýze GC je mobilní fází inertní nosný plyn (např. He, H₂ a N₂), který slouží k přenosu analytu kolonou, kde dochází k separaci. Pro analýzu methylesterů jsou vhodné kolony DB-23 a SP-2560. V kombinaci s MS detekcí se používá chemická nebo elektronová ionizace kvůli vysoké citlivosti a vysokému rozlišení. Metody GC jsou vhodné pro analýzu sterolů, MK a *cis/trans* izomerů. [40,41].

5.2.4 Metoda vysoce účinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií

HPLC-MS je nejčastěji používaná analytická technika při analýze lipidů. Kvantifikaci lze provádět pomocí vnitřních standardů. V analýzách není možné mít vnitřní standardy odpovídající každému lipidu, proto se k tomuto účelu používají komerčně dostupné směsi vybraných lipidů. Separace se přednostně provádí v systému s obrácenými fázemi s využitím stacionární fáze s alkylovými řetězci (C8, C18 a C30), která je vhodná pro většinu lipidových tříd. Složení mobilní fáze je důležitým faktorem při analýze lipidů. Používají se směsi H₂O a organických rozpouštědel jako acetonitril nebo methanol s přísadkou těkavých pufrů, tj. kyseliny octové, mravenčí nebo octanu amonného [40].

5.2.5 ¹H NMR spektrometrie

¹H NMR spektrometrie se používá za účelem objasnění struktury lipidů a kvalitativní a kvantitativní analýzy. Metoda je to velmi rychlá a nedestruktivní. Pro analýzu lipidů je nezbytné těsně před analýzou vzorek rozpustit ve vhodném rozpouštědle, např. v deuterovaném roztoku methanolu nebo chloroformu. NMR spektrometrie je vhodná hlavně pro kvantitativní analýzu lipidů s jednoduchou maticí. [40,44].

5.3 Charakterizace tuků

Tuková čísla slouží k charakterizaci jakosti a vlastností olejů a tuků. Jedná se spíše o zastaralé techniky. Dnes se objektivněji používají analytické metody jako plynová nebo kapalinová chromatografie [39].

5.3.1 Číslo kyselosti

Číslo kyselosti (AN) je ukazatelem volných MK ve vzorcích tuků a olejů [48]. Představuje množství KOH potřebného k neutralizaci kyselin přítomných v 1 g vzorku. Hodnota AN by měla být co nejnižší, protože vysoká kyselost může negativně ovlivnit chuť a urychlit hydrolýzu. Tato metoda je použitelná pro všechny tuky, oleje nebo MK výjimkou těch, které obsahují minerální kyseliny [32]. Rafinované oleje mají obvykle nižší AN v důsledku odstranění volných MK během procesu rafinace. Toto číslo má význam hlavně u surových olejů, které neprošly rafinací. Jejich přítomnost může být brána jako ukazatel čistoty oleje. Udržováním nízké hodnoty kyselosti lze zlepšit kvalitu a použitelnost tuků a olejů [48–51].

Při stanovení je vzorek tuku rozpuštěn v polární směsi organických rozpouštědel (zneutralizovaný ethanol a diethylether) a následně titrován ethanolickým roztokem 0,1M hydroxidu draselného na indikátor fenolftalein do zružovění nebo thymolftalein do modrého zbarvení. U vzorku s tmavou barvou, kde by se velmi špatně odhadoval barevný přechod indikátoru, lze použít potenciometrickou titraci [39,52].

AN se vypočte dle rovnice (1).

$$AN = 56,11 \cdot c_{KOH} \cdot V_{KOH} / m \quad (1)$$

AN – číslo kyselosti [mg/g]

c_{KOH} – molární koncentrace KOH [mol/l]

V_{KOH} – spotřeba při titraci vzorku [ml]

m – hmotnost vzorku [g]

Rozdíl mezi 2 souběžnými stanovení čísla kyselosti by neměl přesahovat 0,1 % u rafinovaného tuku a u surových tuků a MK 1,5 % [39].

5.3.2 Číslo zmydlení

Číslo zmydlení (SN) je ukazatelem obsahu veškerých MK. Vyjadřuje se jako hmotnost KOH potřebného k neutralizaci MK (volných MK i vázaných MK) a hydrolýze jejich esterů v 1 g vzorku [45,46].

Při stanovení se vzorek tuku se převede zahřátím do kapalného stavu. Filtrací přes filtrační papír se zbaví veškerých nečistot a zbytků vlhkosti. Vzorek se zmýdelní známým množstvím (přebytkem) KOH v anorganickém rozpouštědle po dobu 30 minut až několika hodin. Po ochlazení se přidá fenolftaleinový indikátor a nespotřebovaný KOH se titruje kyselinou chlorovodíkovou, dokud se barva nezmění z růžové na bezbarvou. Postup je opakován pro slepý pokus, kde je místo vzorku použita voda. Slepý vzorek se titruje pro stanovení obsahu KOH [46,47].

SN se vypočte podle rovnice (2).

$$SN = 56,11 \cdot c_{HCl} \cdot (V_{slepý} - V_{titr}) / m \quad (2)$$

SN – číslo zmýdelnění [mg/g]

c_{HCl} – molární koncentrace HCl [mol/l]

$V_{slepý}$ – objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci slepého pokusu [ml]

V_{titr} – objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci vzorku [ml]

m – hmotnost vzorku [g]

5.3.3 Esterové číslo

Jedná se o ukazatel obsahu esterově vázaných MK v tuku. Je rozdílem mezi číslem zmýdelnění a kyselosti. Vyjadřuje se jako hmotnost KOH v mg potřebného k hydrolyze esterů mastných kyselin v 1 g vzorku [50,51].

5.3.4 Jodové číslo

Jodové číslo (IN) je ukazatelem míry nenasycenosti oleje [50]. Podle definice je IN vyjádřeno jako množství jódu v gramech spotřebovaného na 100 gramů vzorku [48,52]. Čím vyšší je hodnota IN, tím větší je počet dvojných vazeb mezi uhlíky [54]. Metoda je vhodná pro všechny tuky a oleje. Je však nevhodná pro oxidované nebo polymerované oleje. Existuje mnoho druhů stanovení IN. Nejvíce používané jsou postupy podle Hanuše, Wijse a Hübla [39,53]. Postupy dle Hübla a Hanuše dávají shodné výsledky. Nejsprávnější výsledky dává metoda dle Wijse.

Podle hodnoty IN lze dělit rostlinné oleje na vysychavé, polovysychavé a nevysychavé. Velký význam má tato hodnota pak u hodnocení technických rostlinných olejů. Vysychavý olej, jako lněný, makový nebo konopný olej, mají vysoké jodové číslo s hodnotami nad 130 g/100 g vzorku tuku. Oleje s hodnotami IN mezi 100 až 130 se nazývají polovysychavé. Řadí se sem například slunečnicový, kukuřičný, bavlníkový a sezamový olej. Nevysychavé oleje mají hodnoty IN menší než 100 [39].

Při stanovení je adována interhalogenová sloučenina na vzorek tuku a titračně stanoven v nadbytek činidla.

Metoda dle Wijse – Na roztok vzorku oleje v chloridu uhličitým působí roztok chloridu jodného v kyselině octové. Nezreagovaný chlorid jodný se převede se na jód pomocí jodidu draselného. Jód se následně titruje 0,1M roztokem thiosíranu sodného [43,51].

Metoda dle Hanuše – Na roztok vzorku oleje v chloroformu působí roztok bromidu jodného v kyselině octové. Přebytek bromidu jodného se následně titruje 0,1M roztokem thiosíranu sodného. Za stejných podmínek jako u vzorku je proveden i slepý pokus [43].

IN se vypočte podle rovnice (3).

$$IN = 100 \cdot c_{Na_2S_2O_3} \cdot (V_{slepý} - V_{titr}) \cdot 0,1269/m \quad (3)$$

IN – jodové číslo [mg/g]

$c_{Na_2S_2O_3}$ – molární koncentrace odměrného roztoku $Na_2S_2O_3$ [mol/l]

$V_{slepý}$ – objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci slepého pokusu [ml]

V_{titr} – objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci vzorku [ml]

m – hmotnost vzorku [g]

V dnešní době je IN stále více nahrazováno profilováním složení MK. Metoda spočívá v kvantitativním zmýdlněním triacylglyceridů a současně transesterifikaci MK na jejich methylestery. Tyto methylestery jsou následně stanoveny plynovou GC s detektorem FID nebo MS. Tento způsob poskytuje podrobnější informace a vyžaduje méně chemikálií a času [51,54].

5.3.5 Hydroxylové číslo

Jedná se o měřítko obsahu hydroxylových skupin. Hydroxylové číslo (HN) je definováno jako počet mg KOH ekvivalentních obsahu hydroxylových skupin v 1 g neacetylovaného vzorku [8].

Je definováno jako množství KOH nutné k neutralizaci kyseliny octové, která je vázána acetylací acetanhydridu kyseliny octové s 1 g vzorku. V kombinaci s číslem kyselosti a číslem zmýdlnění tato analýza popisuje složení vzorku, zejména stupeň esterifikace [51].

Vzorek je rozpuštěn v pyridinu, který slouží i jako katalyzátor. Následně je vzorek acetylován známým množstvím acetanhydridu. Vzorek se zahřívá 1 h na vodní lázni pod zpětným chladičem a nezreagovaný acetanhydrid se nechá reagovat vodou. Stanoví se kyselina octová, která není chemicky vázaná na vzorek, titrací KOH na fenolftalein do zružování. Číslo kyselosti se odečte, a to za účelem korekce volných MK ve vzorku. Pro stanovení množství přidaného acetanhydridu se používá slepý pokus bez vzorku [51].

HN se vypočte podle rovnic (4) a (5).

$$HN = \check{c}.z_{acet.vz} - \check{c}.z_{vz} \quad (4)$$

HN – hydroxilové číslo [mg/g]

$SN_{acet.vz}$ – číslo zmýdelnění acetylovaného vzorku tuku [mg/g]

SN_{vz} – číslo zmýdelnění vzorku tuku [mg/g]

$$HN = (56,11 \cdot c_{KOH} \cdot (V_{titr} - V_{slepý})/m) - AN \quad (5)$$

HN – hydroxilové číslo [mg/g]

AN – číslo kyselosti [mg/g]

c_{KOH} – molární koncentrace odměrného roztoku KOH [mol/l]

V_{titr} – objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci vzorku [ml]

$V_{slepý}$ – objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci slepého pokusu [ml]

m – hmotnost vzorku [g]

5.4 Stanovení oxidační stability tuků

Oxidace je významným faktorem degradace kvality tuků a olejů, která vede ke žluknutí. Oxidační stupeň poskytuje důležité informace o kvalitě a stabilitě oleje, může odhalit nestandardní uchovávání vstupních olejnatých surovin, nevhodné podmínky přepravy a skladování oleje. S postupující oxidací dochází k různým změnám jako je nepříjemná charakteristická chuť a zápach. Dále dochází ke změnám barvy, viskozity, hustoty a rozpustnosti. Kromě toho dochází ke ztrátě esenciálních mastných kyselin, degradaci vitaminů a provitaminů. Oxidace proto významně ovlivňuje sensorické vlastnosti, toxicitu a výživovou hodnotu jedlého oleje. Proces oxidace závisí na řadě faktorů. Náchylnost jedlých olejů k oxidaci závisí na stupni nenasycení MK, obsahu a druhu antioxidantů, teplotě, přítomnosti kyslíku, vlhkosti, světla, stopových kovů a mikroorganismy. Jedním z důležitých úkolů při výrobě jedlých olejů je kontrolovat tyto faktory po dobu, kdy je možné očekávat nepříznivé změny.

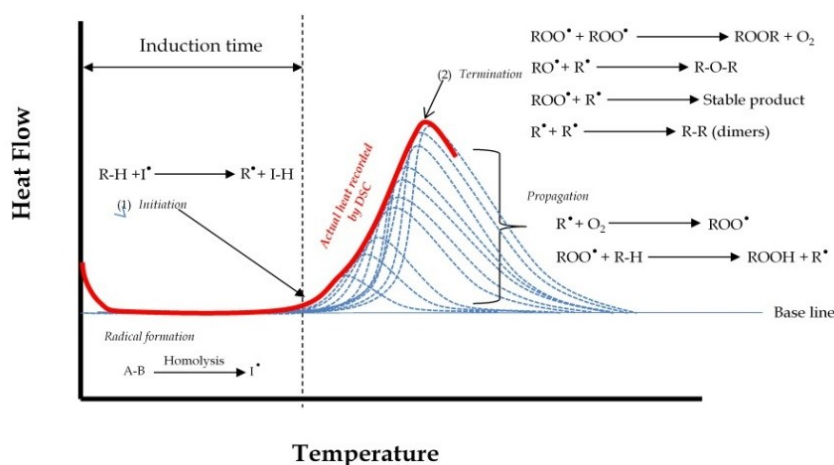
Oxidace u jedlých olejů začíná dvojnými vazbami MK triacylglycerolu. Prvními produkty jsou hydroperoxydy, které jsou bez chuti a zápachu, a nějak významně nezhoršují sensorickou kvalitu. Metody stanovení primárních produktů jsou popsány v kapitole 5.5.4. Hydroperoxydy jsou však obecně nestabilní, což vede k tvorbě sekundárních oxidačních produktů, jako jsou ketony, aldehydy, alkoholy, laktony, uhlovodíky, estery a další. Některé z těchto sloučenin mají velmi výraznou vůni nebo chuť, jejich přítomnost je tedy velmi rychle zřejmá. Při rozkladu těchto hydroperoxidů vznikají ve vyšších koncentracích sloučeniny s potenciální toxicitou.

Produkty oxidačních procesů mohou dále reagovat s dalšími složkami, jako jsou aminokyseliny nebo bílkoviny v komplexních potravinách, což vede ke změnám textury nebo barvy. Hlavním způsobem vzniku hydroperoxidů jsou autooxidace, fotooxidace, enzymatická oxidace. Způsoby se liší tvorbou radikálů, ale následný mechanismus je shodný.

Chemické posouzení oxidace je pouze částí celého procesu. Jde-li o chuť a zápach, je důležité posoudit výchozí látky i produkty oxidace a její průběh. Žluklá chuť nebo vůně mohou výrazně ovlivnit senzoričné hodnocení tuku, až do té míry, že je vnímají jako dva různé materiály. Oxidační testy jsou empirické metody předpovědi budoucího chování tuků [50,54,55].

5.4.1 Schaalův test

Schaalův test je jednou z prvních metod stanovení oxidace lipidů. Při této metodě se olej ponechá v otevřené nádobě v termostatu při teplotě 63 nebo 70 °C po určitou dobu. Vzorky se odebírají k analýze pravidelně v denních nebo týdenních intervalech. Analýza se provádí vyškoleným degustátorem, nebo lépe pomocí peroxidového čísla. Výsledky peroxidového čísla se vnášejí do grafu v závislosti na čase a vzniká typická IP křivka. IP neboli indukční perioda je doba, kterou trvá iniciační fáze oxidace. Tato obecná křivka je zobrazena v obrázku 3 a je typická pro všechny metody, které měří IP, včetně modernějších metod Rancimat a metody OSI (viz následující kapitoly) [56].



Obrázek 3: Příklad IP křivky [57]

5.4.2 Sylverův test

V Sylverově testu se uplatňuje jiný přístup. Vzorek je umístěn do uzavřené nádoby při teplotě 100 °C a neustále protřepáván. Kyslík v prostoru nad olejem se promísí s olejem, a nakonec dojde k oxidaci oleje. Při tomto procesu je kyslík spotřebováván a tlak v nádobě klesá. Vynesemím grafu poklesu tlaku v závislosti na čase se získá typická IP křivka [56].

5.4.3 Metoda aktivního kyslíku

Swiftův test (známý také jako metoda aktivního kyslíku) funguje na základě metody aktivního kyslíku. Metoda se od těch předchozích testů liší v tom, že vzduch je vháněn do oleje při 98 °C. V určitých kritických intervalech jsou odebírány vzorky a je měřeno peroxidové číslo. Hodnoty se následně vynesou do grafu v závislosti na čase, čímž se opět získá křivka IP [56].

5.4.4 Metoda Rancimat

Metoda Rancimat do značné míry navazuje na Swiftův test. Zahrnuje probublávání vzorku vzduchem při zvýšené teplotě. Tato zkouška a zkouška OSI jsou do značné míry průmyslovými standardy pro měření IP. Rozdíl mezi touto zkouškou a zkouškou Swift spočívá v tom, že poskytuje kontinuální měření. Pro měření PV není nutné odebírat periodicky vzorky. V zařízení Rancimat společnosti Metrohm probublává vzduch olej a poté přechází do nádoby s destilovanou vodou. Měří se vodivost této vody a vykresluje se graf typický pro průběh IP. Měření mohou zkreslovat neoxidované těkavé látky, jako jsou volné MK. Způsobují zvýšení vodivosti, ale je a pozvolné ve srovnání s prudším zvýšením oxidačními produkty. IP se měří z grafu zapisovače tak, že se po skončení IP odečtou tečny jak k základní linii, tak k prudšímu sklonu [56].

5.4.5 Index stability oleje

Metoda OSI (Oil Stability Index) je principiálně velmi podobná metodě Rancimat. Vzorek tuku se umístí do nádoby přístroje a zahřívá na teplotu 100–130 °C. Vzorkem probublává vzduch, který přenáší těkavé látky do nádoby s destilovanou vodou. V této nádobě je neustále měřena vodivost. Výsledkem měření je graf s IP křivkou. Jedním z hlavních rozdílů je použití jednorázového laboratorního skla a hadiček. Tím odpadá jedna z nevýhod metody Rancimat, která spočívá v důkladném umytí použitého laboratorního náčiní mezi jednotlivými měřeními. Jakékoliv stopy nečistot, starého oleje apod. mohou výrazně ovlivňovat výsledky testu [56].

5.4.6 Metoda absorpce kyslíku

Testy OSI a Rancimat měří změny vodivosti způsobené těkavými iontovými organickými kyselinami, a to automaticky a kontinuálně. Metoda adsorpce kyslíku zahrnuje zahřívání vzorku oleje vystaveného vzduchu nebo kyslíku, což má za následek pokles tlaku uvnitř reakční nádoby. Změna tlaku se měří elektronicky pomocí tlakových převodníků a konečný bod testu je dosažen, když tlak uvnitř nádoby vykazuje výrazný pokles. Vzhledem ke složitosti příslušných chemických procesů se doporučuje sledovat postup oxidace tuků a olejů více než

jednou metodou, včetně alespoň jednoho testu pro každý z primárních a sekundárních produktů oxidace lipidů [55].

5.5 Stanovení stupně žluklosti tuků

Výsledkem žluknutí volných a vázaných MK je široká řada těkavých a netěkavých produktů. Oxidační stabilita jedlých olejů však nezávisí pouze na podmínkách během skladování, ale také na historii suroviny a použitým způsobu zpracování [55].

Úroveň oxidace lipidů lze měřit různými způsoby:

- měřením spotřeby kyslíku přijatého olejem/tukem,
- změny reaktantů,
- množství primárních oxidačních produktů,
- množství sekundárních oxidačních produktů,
- jinými metodami.

Množství kyslíku přijímaného vzorkem lipidů lze posoudit měřením přírůstkem hmotnosti vzorku nebo spotřeby kyslíku v headspace prostoru. Měření změny reaktantů zahrnuje především stanovení změny specifické koncentrace mastných kyselin. Mastné kyseliny lze snadno měřit po transesterifikaci na odpovídající metylestery plynovou chromatografií s FID nebo s MS detektorem. Primární oxidační produkty lze vyjádřit pomocí peroxidového čísla (PV). PV se může stanovit jodometrickou titrací, spektrofotometricky reakcí s komplexem železitých iontů a infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací. Podrobné informace o struktuře a množství specifických hydroperoxidů lze získat pomocí HPLC. Alternativně lze stanovit dieny a trieny (vznikající při tvorbě hydroperoxidů z nenasycených mastných kyselin) měřením nárůstu absorpance zkoušeného vzorku při 233 nm (dieneny) a 268 nm (trieny) [53].

5.5.1 Autooxidace

Autooxidace je samokatalyzovaná reakce radikálového mechanismu. Existují některé faktory, prooxidanty, jako jsou těžké kovy, které ji urychlují, a jiné faktory, antioxidanty, které ji zpomalují. Produkty autooxidace jsou hydroperoxy. Má tři hlavní fáze: iniciaci, propagaci a terminaci. Jakmile se hydroperoxy vytvoří, mohou se dále rozkládat na aldehydy a ketony. Právě tyto produkty rozkladu mají chuť a vůni spojenou s oxidačním žluknutím. První fáze autooxidace je obvykle poměrně pomalá. Trvá značnou dobu, než se iniciační fáze spustí, označuje se jako indukční perioda. Jakmile se tuk dostane do fáze propagace, rozklad probíhá

mnohem rychleji. V iniciační fázi se z molekuly triacylglycerolu odštěpí atom vodíku jako volný radikál a vznikne tzv. volný triglyceridový radikál. Obvykle je to jeden z atomů vodíku na jednom z řetězců mastných kyselin, a pokud je přítomna nenasycená MK, pak je to často jeden z atomů vodíku na methylenové skupině vedle dvojné vazby. Při oxidaci oleje methylenová skupina ztratí atom vodíku a dvojná vazba vedle methylenové skupiny se posune podél řetězce, což u vysoce nenasycených olejů vede ke konjugaci, a tím ke změně absorpčního spektra [57].

5.5.2 Fotooxidace

Fotooxidace je reakce mezi světlem aktivovaným singletovým kyslíkem a nenasycenými MK s následnou tvorbou hydroperoxidů. Reakce může nastat za přítomnosti světla a fotosenzibilizátoru. Tato reakce se liší mechanismem od autooxidace a nevykazuje inhibiční periodu. Ve svém normálním stavu, tj. dva nespárované elektrony v magnetickém poli, není kyslík příliš reaktivní. Musí tedy dojít k jeho tvorbě jeho reaktivnějšího stavu reakcí tripletového kyslíku se světlem v přítomnosti senzibilizátoru, jako jsou ionty těžkých kovů (např. železo, měď), chlorofyl, riboflavin, myoglobin, erytrosin nebo methylenová modř. Produktem je vysoce reaktivní singletový kyslík, který má všechny elektrony spárované a nemá žádný magnetický moment. Následně reaguje singletový kyslík s dvojnými vazbami v MK. Tento typ oxidace se od autooxidace liší hned v několika ohledech. Nejedná se o radikálový mechanismus. Produkty jsou sice podobné, ale ve své struktuře nejsou identické. Tato oxidace je rychlejší, což souvisí s počtem dvojných vazeb [58]. Existují dva typy fotooxidace.

Při fotooxidaci typu I dochází k excitaci senzitizeru pomocí světla. Následně se vytváří intermediát, který reaguje s tripletovým kyslíkem, čímž vznikají produkty oxidace.

Fotooxidace typu II je založena na přímé reakci se singletovým kyslíkem, který se vytváří při interakci senzitizeru s normálním tripletovým kyslíkem a v přítomnosti viditelného a ultrafialového světla. Singletový kyslík se následně může vázat na dvojně vazby v molekulách nenasycených MK [57].

5.5.3 Enzymatická oxidace

Enzymatická oxidace je v principu stejná jako autooxidace. Liší se přítomností enzymu lipoxygenáza, který je vysoce specifický pro substrát a reakci. Lipoxygenáza jsou globuliny s molekulovou hmotností mezi $0,6-1 \cdot 10^5$ Da, obsahující jeden atom železa v molekule. Ta může katalyzovat oxidativní změny v semenech. Lipoxygenázy prvního typu je možné najít v mnoha přírodních zdrojích, jako jsou rajčata nebo brambory, které mají jako nejlepší substrát

kyselinu linolovou. Kyselina linolová se oxiduje na hydroperoxydy. Tyto hydroperoxydy podléhají fragmentaci na sloučeniny s krátkým řetězcem (hexanal, 2-nonenal, ...), z nichž některé mají velmi výrazný a charakteristický zápach.

Lipoxygenázy druhého typu je možné najít v angreštu, sóji nebo luštěninách. Tento typ katalyzuje oxidaci acylglycerolů, ale může docházet k oxidaci i dalších rostlinných složek jako jsou karotenoidy. V tomto případě hydroxyperoxydy podléhají enzymaticky katalyzovaným reakcím za vzniku směsi produktů oxidačního rozkladu, jako jsou aldehydy.

Enzymatická oxidace může být problematická jak pro trvanlivost olejů, tak pro zpracovatele olejů a tuků. To znamená, že část oleje v semeni je oxidována ještě před jeho extrakcí. Při extrakci oleje se s ním také extrahují hydroperoxydy a jejich rozkladné produkty. Většina komerčních olejů a tuků prochází rafinací, která odstraňuje oxidační produkty vzniklé katalýzou lipoxygenázy. Jen velmi málo olejů a tuků se používá bez rafinace. Mezi hlavní patří kakaové máslo nebo olivový olej, i když se na trhu objevuje stále více panenských speciálních olejů, jako panenský řepkový olej a panenský kokosový olej.

Rafinace oleje se skládá z tří hlavních fází – neutralizací volných MK, bělením k odstranění pigmentů a deodorací chuťových a pachových látek. Oxidační produkty jsou většinou eliminovány při fázi bělení absorpcí na aktivní uhlí. Zbytek a téměř všechny těkavé produkty rozkladu oxidace se odstraní během deodorizace. Novější proces fyzikální rafinace odstraňuje i oxidační produkty. Rafinace může také odstranit i některé přírodní antioxidanty, jako jsou tokoferoly a tokotrienoly. Téměř 38 % z nich bylo odstraněno při rafinaci a významné množství bylo možné získat z deodorizačního destilátu. Enzymatická oxidace je spíše problémem pro zpracovatele oleje, kteří se musí těchto vedlejších produktů zbavit než pro výrobce potravin, kteří obecně používají rafinovaný olej [57,58,60].

5.5.4 Primární oxidační produkty

5.5.4.1 Metoda s hexakynoželeznanem

Jako alternativní metodu určení PV je možné použít stanovení lipidových hydroperoxidů hexakynoželeznanem. Tato metoda je založena na principu redukce hydroperoxidů železnatými ionty Fe^{2+} , které jsou oxidovány na Fe^{3+} . Ionty Fe^{3+} jsou následně převedeny na thiokyanatan železitý.

Hydroperoxydy reagují s chloridem železnatým v přítomnosti thiokyanátu amonného za vzniku thiokyanátu železitého červené barvy. Tato barva je pak spektrofotometricky proměřena při 500 nm. Intenzita absorbance je přímo úměrná koncentraci hydroperoxidů ve vzorku. Tato

metoda se v posledních letech stala oblíbenější zvláště u měření oxidace v emulzních systémech [58].

Průběh stanovení je popsán pomocí rovnic (6), (7) a (8).



5.5.4.2 Peroxidové číslo

Stanovení peroxidové číslo (PV) je metoda sledující primární produkty oxidace. Je to jedna z nejběžnějších metod měření žluknutí tuků. Jde o ukazatel milivalentního obsahu kyslíku na 1 kilogram tuku nebo oleje. Metoda je rychlá a aplikovatelná na všechny tuky a oleje. Jedná se o vysoce empirickou metodu, nicméně výsledky mohou být ovlivněny strukturou a reaktivitou hydroperoxidů stejně jako reakční teplotou a časem. Test je založen na redukci hydroperoxidových skupin jodidem. Koncentrace přítomných peroxidů je úměrná množství uvolněného jódu. Uvolněný jód je stanoven titrací vzorku standardizovaným roztokem thiosíranu sodného do odbarvení indikátoru, kterým je škrobový maz [59,61].

Průběh stanovení je popsán rovnicemi (9) a (10). Hodnota PV se vypočte podle (11).



$$PV = 100 \cdot c_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \cdot (V_{\text{titr}} - V_{\text{slepý}}/m) \quad (11)$$

PV – peroxidové číslo [mmol (1/2 O₂). kg⁻¹]

$c_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ – molární koncentrace odměrného roztoku Na₂S₂O₃ [mol/l]

V_{titr} – objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci vzorku [ml]

$V_{\text{slepý}}$ – objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci slepého pokusu [ml]

m – hmotnost vzorku [g]

Povolená hodnota peroxidového čísla u čerstvě rafinovaných tuků a olejů by se měla pohybovat mezi hodnotami 1–3 mmol 1/2 O₂ na 1 kg vzorku [58].

5.5.5 Sekundární produkty oxidace

Jednou z nejčastějších metod je reakce s 2,4-dinitrofenylhydrazinem (2,4-DNPH), následovaná stanovením 2,4-dinitrofenylhydrazonů pomocí HPLC s UV. Některé z těchto sloučenin, jako je 4-hydroxy-2E-nonenal (4-HNE), mají toxikologický význam, protože jsou reaktivní

s biomolekulami, jako jsou bílkoviny a enzymy, a inhibují syntézu DNA, RNA a proteinů. Tato metoda poskytuje spolehlivé výsledky pro hodnocení tvorby toxikologicky významných látek v jedlých olejích. Je však náročná na manipulaci a vyhodnocení chromatogramu může být obtížné kvůli velkému množství detekovaných sloučenin. Přestože vzniklé hydrazony jsou stabilní a netěkavé, je manipulace se sloučeninami zdlouhavá. Celkově je tato metoda vhodná pro hodnocení kvality tuků [55].

Analýza s plynovým chromatografem (GC) je často používána k určení sekundárních oxidačních produktů a složení těkavých sloučenin uvolňovaných z oleje. Tato analýza může poskytnout informace o celkovém obsahu těkavých sloučenin nebo jednotlivých sloučeninách zodpovědných za oxidační proces. Mezi klíčové sloučeniny pro hodnocení oxidační degradace patří hexanal, který se používá především pro oleje bohaté na ω -6 mastné kyseliny, a propanal, který slouží jako spolehlivý indikátor pro oleje s vysokým obsahem ω -3 MK. Další typické reakční produkty oxidačních procesů v potravinách zahrnují aldehydy, jako jsou pentenal, 2,4-heptadienal a 2,4-dekadienal [55].

Existuje několik metod pro stanovení těkavých sloučenin pomocí GC, ale nejoblíbenější je dynamická headspace analýza, (známá také jako „purge and trap“). Při této metodě se vzorek umístí do vyhřívané a uzavřené nádoby, která se propláchne vodou a inertním plynem, aby se odstranily možné interferenty. Těkavé látky se pak koncentrují na vhodně zvoleném sorbentu, například na tenaxu nebo dřevěném uhlí, který se následně zahřeje, aby se analyt desorboval. Tato GC analýza a stanovení těkavých sloučenin je důležitá při posuzování kvality jedlých olejů a dalších potravin [55].

5.5.5.1 *p*-anisidinové číslo

Ukazatelem sekundárních produktů oxidace olejů a tuků je *p*-anisidinové číslo (AV). Testem se stanovuje množství aldehydů (především 2-alkenů a 2,4-alkedienů) v tucích.

Aldehydy přítomné v olejích reagují s *p*-anisidovým činidlem v kyselém prostředí za vzniku žlutých produktů, které mají své absorpční maximum při 350 nm. Hodnota AV je definována jako 100násobek naměřené absorbance vzorku v 1 cm kyvetě při 350 nm z reakce 1 gramu tuku nebo oleje ve 100 ml roztoku obsahujících činidla i vzorek [58].

Vysoká míra tvorby hydroperoxidů nemusí vždy znamenat vysokou míru tvorby sekundárních oxidačních produktů [63]. Navíc v určitých vzorcích oleje, jako je olivový a řepkový olej, začíná tvorba sekundárních oxidačních produktů téměř současně s tvorbou hydroperoxidů a v jiných, jako je slunečnicový olej, začíná rozklad hydroperoxidů, když koncentrace primárních

sloučenin začíná být znatelná. Podobně je stanovení AV užitečné pro hodnocení kvality produktů, jako jsou oleje na smažení, které mají často nízké hodnoty PV. Lepší obraz o celkovém stavu kvality oleje poskytuje celková hodnota oxidace TOTOX [62,63].

Hodnota TOTOX se vypočte podle rovnice (12).

$$TOTOX = 2 \cdot (PV) + AV \quad (12)$$

TOTOX – celková hodnota oxidace

PV – peroxidové číslo

AV – *p*-anisidinové číslo

5.5.5.2 Thiobarbiturové číslo

Thiobarbiturové číslo (TBA) je jedno z nejpoužívanějších zjištění lipidové peroxidace. Test je založen na stanovení malonaldehydu, který je považován za velmi důležitý produkt oxidace lipidů v potravinách a biologických systémech [58].

Malonaldehyd reaguje s kyselinou thiobarbiturovou ve stechiometrickém poměru 1 ku 2. Reakce probíhá při zahřevu v kyselém prostředí za vzniku růžově barevného komplexu Schiffovy báze. Intenzita zbarvení je měřena spektrofotometricky ve viditelné oblasti (540 nm) nebo pomocí fluorescence (excitační vlnová délka - 515 nm, emisní v.d. - 553 nm) [64].

Hodnota absorbance přímo souvisí s koncentrací malonaldehydu v původním vzorku. Výsledky je ukazatelem μmol malonaldehydu přítomného v 1 g tuku. Potraviny s TBA nad 1–2 μmol malonaldehydu ekv. na 1 g tuku budou mít pravděpodobně žluklou příchuť [46].

Obsah reaktivních látek je velmi malý, řádově 10–2000 pg/kg. Proto by se měla použít kritéria přesnosti, která jsou obvyklá u stopové analýzy. Oxidované žluklé tuky a oleje jsou navíc velmi komplikované směsi mnoha relativně nestabilních oxidačních produktů, které se různým způsobem rozkládají zahříváním nebo mohou do reakce zasahovat. Hodnoty opakovatelnosti stanovené na základě statistické analýzy výsledků ukazují, že stanovení hodnoty TBA lze provádět s přijatelnou mírou přesnosti. Stanovení hodnoty TBA může být ovlivněno hydroperoxydy, kyslíkem, antioxidanty a stopovými kovy. Pečlivým dodržováním postupu a používáním chemikálií vysoké čistoty lze většinu těchto vlivů vyloučit nebo udržet na stejné úrovni a získat dostatečně opakovatelné výsledky [65].

5.6 Stanovení konjugovaných dienových a trienových mastných kyselin UV spektrometrií

Oxidace polynenasycených MK je doprovázeno zvýšením absorpce v oblasti ultrafialového záření. Absorpční maximum oxidovaných produktů lipidů je při 233 nm s druhotným maximem trienů v rozmezí 260–280 nm. Přítomnost konjugovaných dienů je způsobena posunem dvojné vazby po ataku volných radikálů na vodíky methylenových skupin, které oddělují dvojné vazby ve sloučeninách. Toto stanovení je citlivější ve vzorcích, kde je více přítomný linoleát obsahující právě konjugované dvojné vazby. Aby se předešlo interferencím s látkami absorbujícími při stejné vlnové délce (např. karotenoidy), lze hydroperoxy převést na konjugované chromofory a následně změřit jejich absorpenci [53,58].

5.7 Stanovení *trans*-nenasycených mastných kyselin infračervenou spektrometrií

Tato metoda je vhodná pro přírodní, rafinované i hydrogenované tuky a oleje. Její použití je vhodné i u mastných kyselin a jejich methylesterů. V přítomnosti derivátů s konjugovanými dvojnými vazbami, oxidovaných kyselin a jiných dává metoda méně vyhovující výsledky.

Vzorek se nejprve převede na methylestery mastných kyselin. Následně se tyto estery spektrometricky proměří při 970 cm^{-1} . Při této vlnové délce dochází k deformačním vibracím vazby uhlík-vodík na uhlíku s izolovanou *trans*-dvojnou vazbou.

Obsah složek s těmito vazbami se vyjadřuje procentem methylesteru elaidové kyseliny v celkovém množství methylesterů [39].

5.8 Stanovení doprovodných látek lipidů

Doprovodné látky lipidů se označují jako nezmýdelnitelné látky. Jedná se o látky nerozpustné ve vodě a rozpustné v lipidových rozpouštědlech po zmýdelnění vzorku.

Stanovení celkového obsahu je možné pomocí dvou metod extrakce. Petroletherová metoda se používá při předpokládaném nižším obsahu nezmýdelnitelných látek a diethyletherová metoda při vyšším obsahu. Petroletherová a diethyletherová metoda se významně liší výsledky. Obě metody prvotně zmýdelňují vzorek tuku varem s 1M ethanolickým roztokem KOH po dobu 1 hodiny. Následně je extrahována nezmýdelněné lipofilní látky petroletherem nebo diethyletherem. Rozpouštědlo je odpařeno a odparek zvážen [39].

5.8.1 Chromatografické separace

Chromatografie je účinnou metodou pro separaci a analýzu směsí molekul. Při chromatografické analýze se směs molekul prochází kolonou obsahující matrici. Molekuly s různou afinitou k matrici jsou odděleny, přičemž molekuly s vyšší afinitou se pohybují pomaleji. Nejčastěji se pro separaci používá HPLC [37].

Tenkvrstvá chromatografie je metodou, která se používala zejména ke separaci a stanovení koncentrace různých lipidových skupin v potravinách. Dnes je tato metoda již zastaralá [37].

5.8.2 Tokoferoly a tokotrienoly

Tokoferoly a tokotrienoly jsou důležité bioaktivní složky rostlinných olejů. Jedná se o vitamín E odvozený od chromanolové struktury. Primárním prekurzorem vitamínu E je α -tokoferol. Mezi nejsilnější antioxidanty se řadí δ - a γ -tokoferoly. Ve většině rostlinných olejů se tokoly vyskytují pouze v nízkém množství, vyšší obsah je v palmovém oleji, kukuřičném oleji a oleji z rýžových otrub.

Obsah tokolů v oleji je důležité měřit jak z hlediska nutriční kvality, tak z hlediska oxidační stability. Kromě toho se obsah tokoferolů může použít jako identifikační znak oleje. Stanovení tokoferolů a tokotrienolů se provádí pomocí HPLC. Kalibrační křivky jsou sestaveny pro každý tokoferol ze standardů a kalibrační faktory pro tokotrienoly jsou považovány za ekvivalentní s odpovídajícími tokoferoly. K oddělení tokolových píků se nejčastěji používají HPLC v systému s normálními fázemi, kde je možné rozlišit i β -tokoferol a γ -tokoferol. Metody HPLC v systému s obrácenými fázemi toho jsou schopny jen v určitých kolonami jako je kolona pentafluorofenylovou fází. Mezi běžnými a modifikovanými oleji jsou patrné jen malé rozdíly v rozmezí složení s výjimkou obsahu α -tokoferolů [38].

5.8.3 Stanovení sterolů

Stanovení sterolů je velmi důležité při identifikaci původu oleje a tuků. Každý olej má charakteristickou určitou směs několika fytosterolů. Mezi fytosteroly je řazen i cholesterol. Přirozeně se vyskytuje v mnoha olejích. Jeho obsah je však velmi nízký, takže ve výživové bilanci nemá praktický význam. Velkou roli při falšování oleje má poměr sitosterolu a směsi kampesterolu se stigmasterolem. Přítomnost řepkového oleje je indikován vyšším podílem brasikasterolu a přítomnost živočišného tuku zase vyšším podílem cholesterolu [38,66].

Velmi častá instrumentální metoda pro stanovení sterolů je GC. Využitím vysokoteplotních kapilárních kolon, jako např. fenylmetylsilica, je možné dosáhnout vysoké citlivosti a dobrého rozlišení při analýze. GC analýzy jsou často spojeny s plamenově ionizační detekcí pro

sledování analytů ve výstupu z kolony, nebo s MS pro identifikaci a kvantifikaci struktury. Méně často se používají detektory elektronového záhytu nebo tepelně vodivostní detektory [38].

Klasickou metodou je vážkové stanovení celkových sterolů v lipidech digitoninovou metodou. Metoda je použitelná pro tuky a oleje, je vhodné vycházet z nezmýdelnitelného podílu. Lipidy jsou zmýdelněny takovým způsobem, aby došlo i k zmýdelnění přítomných esterů sterolu. Volné steroly jsou vysráženy digitoninem. Vzniklé digitonidy jsou přečištěny a následně vážkově stanoveny. Při stanovení se naváženému množství vzorku přidá roztok KOH a 95% ethanolu. Navážka se volí podle předpokládaného procentuálního množství sterolu ve vzorku tuku. Vzorek se ponechá zmýdelňovat pod zpětným chladičem 1520 minut. K reakční směsi se následně přidá voda, trojnásobek objemu vody 95% ethanolu a směs se zahřeje na 50 °C. Poté se přidá roztok 1% ethanolického roztoku digitoninu. Celá směs se ponechá stát přes noc. Vyloučené krystaly se zfiltrují přes zvážený skleněný kelímek a promyjí jednou vodou, několikrát ethanolem a trochou diethyletheru. Kelímek s krystalkami se nechá sušit do konstantní hmotnosti při 105 °C a následně zvážit. 1 g navážených digitonidů je ekvivalentní 0,25 g sterolů [39].

5.8.4 Fosfolipidy

Fosfolipidy jsou důležitými minoritními složkami surových olejů, které jsou v různé míře odstraňovány během zpracování oleje. Fosfolipidy v surových sójových olejích mají malý vliv na změnu ve složení mastných kyselin ve srovnání s tradiční kontrolou. Příkladem je množství fosfatidylcholinu a kyseliny fosfatidové, který byl vyšší v surovém řepkové oleje než v běžném řepkové oleje. U typu sóji, vyšlechtěného, aby byl odolný vůči herbicidům na bázi glyfosátu, nebyly zaznamenány žádné rozdíly v množství fosfolipidů oproti běžnému surovému sójovému oleji [38].

Pro kvantifikaci fosfolipidů je nejvhodnější ^{31}P NMR. Nevýhodou je potřeba směsi rozpouštědel pro získání vysoce rozlišených píků. Používají se detergenty, jako je cholát sodný, SDS a Triton X-100, a soli jako je EDTA nebo CDTA. Optimální systém rozpouštědel, teplota, koncentrace lipidů, pH a koncentrace chelátů ovlivňují chemický posun fosfolipidů. Tato metoda umožňuje identifikaci a kvantifikaci fosfolipidů. Pro dosažení kvantitativních výsledků NMR je důležité dodržet chemickou inertnost rozpouštědla [40].

5.9 Instrumentální metody při analýze a autentizaci tuků

Instrumentální metody poskytují velmi podrobné informace o složení a kvalitě. Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) spojená s chemometrií je široce používaná technika pro autentifikační analýzu tuků a olejů v potravinářských produktech [67]. FTIR spektroskopie s charakteristickým spektrem v oblasti otisků prstů umožňuje rozlišení a charakterizaci různých olejů, což z ní dělá cennou metodu pro hodnocení pravosti rostlinných olejů. Plynová chromatografie se široce používá pro rozlišení olejů bohatých na ω -3 MK [68]. Tato technika s dalšími metodami, jako infračervená absorpce, nukleární magnetická rezonance a hmotnostní spektrometrie, byla klíčová ve studiích klasifikace, profilování a ověřování rostlinných olejů. Identifikace a kvantifikace těkavých sloučenin v olejích semen, jako jsou ty extrahované z různých odrůd máku, byla provedena pomocí mikroextrakce tuhou fází využívající specifické typy vláken pro zvýšení citlivosti a selektivity [69]. Stanovení polyfenolů v olivových olejích bylo zjištěno pomocí různých analytických technik, jako GC, HPLC a kapilární elektroforézy [70]. Tyto metody nabízejí pohled na obsah antioxidantů v rostlinných olejích, což přispívá k jejich nutriční hodnotě a stabilitě. Pro detekci aflatoxinů v rostlinných potravinových doplncích a kosmetických olejích byla vyvinuta rychlá metoda pomocí HPLC pro zajištění bezpečnosti a kvality rostlinných olejů [71]. Použitím pokročilých analytických metod, jako je Ramanova spektroskopie a chemometrie, lze kvantitativně posoudit falšování panenských olivových olejů a v oleji z lískových oříšků [72]. Profily triacylglycerolů jsou cílem pro detekci falšovacích látek v rostlinných olejích [73]. Tyto metody poskytují rychlé a přesné výsledky, které jsou nezbytné pro detekci potenciálních příměsí v rostlinných olejích. Kromě toho aplikace FTIR kombinovaná s chemometrií byla nápomocná při analýze falšování olejů [74]. Tyto techniky nabízejí rychlé a spolehlivé výsledky, které jsou nezbytné pro udržení kvality a integrity rostlinných olejů v různých aplikacích.

6 Tuky v lidské výživě

6.1 Nutriční hodnoty a výživa

Tuky se společně s bílkovinami a sacharidy řadí do skupiny makronutrientů. Jsou hlavními zdroji energie pro lidský organismus [5,75]. Denní příjem tuků stravou je větší než 100 mg/den. Doporučený denní příjem tuků je 30 % ze všech živin. V západním světě tvoří tuky v lidské stravě přibližně 40 % energetického příjmu [[4]]. Energetická hodnota po oxidaci je 9 kcal na 1 g tuku. V našem organismu mají tuky nezastupitelnou roli nejen jako zásobárna energie, ale i jako součást buněčných membrán, a substrát pro syntézu žlučových kyselin [75]. Za normálních okolností je trávicí systém schopen strávit a vstřebat TAG s více než 95% účinností. Ztráty ve stolici nad 5 % tuku v potravě ukazují na patologický stav malabsorpce [4]. Vstřebatelnost TAG ovlivňuje také délka řetězce, počet dvojných vazeb, stereospecifita jednotlivých MK v molekule. [16,76].

6.2 Zdravotní rizika

Zdravotní rizika jsou spjata hlavně s příjmem nasycených tuků a cholesterolu. Vliv na hladinu cholesterolu byl přisuzován hlavně konzumaci živočišných tuků. Nasycené tuky přispívají k ukládání tuků v cévách, což vede k ateroskleróze a případnému infarktu [58]. Problém vysokého obsahu nasycených tuků ve stravě se v minulosti řešil nahrazováním živočišných tuků částečně hydrogenovanými rostlinnými oleji. Vedlejším produktem hydrogenace jsou *trans*-mastné kyseliny (TFA). V potravinách TFA pochází nejen z průmyslového ztužování olejů ale i z živočišných produktů. Ve srovnání s nehydrogenovanými oleji jsou tuky obsahující průmyslově vyráběné TFA pevné a skladovatelné při pokojové teplotě, mají také technické výhody při zpracování potravin a delší trvanlivost. TFA může tvořit až 60 % tuků v některých průmyslově zpracovaných potravinách. TFA jsou spojovány se zvýšeným rizikem ischemické choroby srdeční, aterosklerózy, mrtvice, cukrovky druhého typu a rakoviny, pokud jsou konzumovány ve velkém množství. Doporučený denní příjem TFA by neměl překračovat 2 g. Mnoho potravin obsahuje až 0,5 g TFA. Nadměrný příjem TFA ve stravě zvyšuje hladinu škodlivých lipoproteinů o nízké hustotě (LDL-C). V mléčných a masných výrobcích se TFA vyskytují přirozeně, a proto je obtížné vyřadit je z jídelníčku [76–78].

6.3 Biologická cesta tuků v těle

Tuky přijaté stravou do se z 90 % skládají z frakce TAG. Velké množství mastných kyselin se z nich uvolňuje štěpením TAG lingvální lipázou v ústech a žaludečními lipázami [4].

Zbývající TAG jsou téměř úplně hydrolyzovány v proximálním tenkém střevě (ve dvanáctníku) sn-1,3 stereospecifickou pankreatickou lipázou na 2 volné MK a 2-monoacylglycerol. Takto je uvolněno 50–70 % MK přijatých stravou [78,79]. Obě tyto sloučeniny jsou dále smíchány se žlučovými kyselinami za vzniku smíšených micel s fosfolipidy. Až 95 % těchto MK je absorbováno epiteliálními buňkami v tenkém střevě. Tyto MK jsou nadále resyntetizovány a reesterifikovány převládající cestou 2-monoacylglycerolu za vzniku nového TAG v distálním tenkém střevě. Plazmatické TAG jsou naplněny cholesterolem, apoproteiny a fosfolipidy, což vede k vzniku chylomikronů, které jsou absorbovány krevním a lymfatickým systémem. Zbylé MK se dostávají až do tlustého střeva, kde jsou metabolizovány přítomnou střevní mikroflórou [80].

6.4 omega-3 a omega-6 mastné kyseliny

Omega-3 polynenasycené mastné kyseliny jsou mastné kyseliny, jejichž chemická struktura má dvojnou vazbu na třetím atomu od koncové methylové skupiny. Jsou nezbytnou součástí biotransformace lipidů u savců. Přibližně 50–60 % hmotnosti mozku tvoří lipidy, z nichž 35 % tvoří ω -3. V lidském mozku jsou nejdůležitější tři hlavní typy ω -3 MK, kterými jsou kyselina dokosaheptaenová (DHA), kyselina α -linolenová (ALA) a kyselina eikosapentaenová (EPA). DHA tvoří přibližně 40 % všech mastných kyselin v mozku, zejména v šedé hmotě, zatímco EPA tvoří méně než 1 %. Přítomnost DHA je největší během pozdních fází těhotenství a prvních 18 měsíců života. DHA je součástí novorozenecké výživy kvůli podílu na vývoji zraku a kognitivnímu růstu. Omega-3 MK podporují kognici, zachování neuronů a ochraňují před neurodegenerací. Rovněž zmírňují apoptózu mozku některými mechanismy, např. snížením reakcí na reaktivní formy kyslíku, které mají antiapoptotický účinek, nebo zvýšením regulace exprese antiapoptotických proteinů a snížením exprese apoptotických proteinů, což vede ke zpomalení reakce apoptózy [81].

Poměr ω -6 MK ku ω -3MK je ve stravě západního světa 15:1 až 16,7:1. Optimální poměr ω -6 k ω -3 MK je mezi 1:1 a 4:1, v závislosti na onemocnění. Vyvážený poměr těchto kyselin může snížit potřebu léků a je důležitý pro prevenci a léčbu chronických onemocnění. Omega-6 a omega-3 MK jsou výchozími sloučeninami pro produkci eikosanoidů. Eikosanoidy z ω -6 MK mají opačné vlastnosti než eikosanoidy z EPA. Zvýšení příjmu ω -6 EPA v potravě mění fyziologický stav na protrombotický, prokonstrikční a prozánětlivý. Mnoho chronických onemocnění, jako jsou srdeční choroby, diabetes, rakovina, obezita, autoimunitní choroby, artritida, astma a deprese, souvisí se zvýšenou produkcí zánětlivých látek. Tyto látky se zvyšují

při vyšším příjmu ω -6 MK a snižují se při vyšším příjmu ω -3 MK (jako jsou ALA, EPA, DHA). Je proto nezbytné snížit příjem ω -6 a zvýšit příjem ω -3 MK. Rovnováha mezi ω -6 a ω -3 MK je klíčová pro celkové zdraví a správný vývoj, a proto by měla být při výživových doporučeních zohledněna. Kromě toho je rovnováha ω -6 a ω -3 mastných kyselin velmi důležitá pro homeostázu a normální vývoj. Základní strava při vyváženém poměru ω -6 MK ku ω -3 MK snižuje dávku léků. Proto je třeba při tvorbě výživových doporučení brát v úvahu přiměřené množství ω -6 a ω -3 mastných kyselin v poměru přibližně 1–2:1 odpovídajícím doporučenému přiměřenému příjmu a tyto dvě třídy omega MK by měly být na etiketách potravin rozlišovány, protože jsou metabolicky a funkčně odlišné [82]. Doplnky obsahující ω -3 ≥ 60 % v dávkovém rozmezí 200 až 2200 mg ω -3 MK v převaze nad DHA byly účinné proti primární depresi [83]. Významný klinický přínos má ω -3 MK při podpůrné léčbě depresivních poruch. Na konečnou klinickou účinnost mělo vliv použití především EPA v rámci přípravku, nikoliv DHA. Významnou klinickou účinnost mělo použití ω -3 MK spíše jako doplňková léčba než samotné monoterapii depresivních poruch [84].

Příjem ω -3 MK zlepšuje učení, paměťové schopnosti, kognitivní pohodu a průtok krve v mozku. Léčba ω -3 mastnými kyselinami je prospěšná, dobře snášená a velmi málo riziková. Osamělejší lidé, starší lidé a lidé s nižší spotřebou zdravých potravin obsahujících ω -3 MK mohou mít z konzumace potravinových doplňků s obsahem ω -3 MK prospěch. Nejvyšší koncentrace DHA a EPA mají ryby. Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) doporučuje konzumovat 3 g ω -3 MK denně, přičemž doplňky stravy dodávají až 2 g denně. Předchozí výzkum zjistil, že konzumace DHA způsobuje výrazný pokles srdeční frekvence, což by mohlo pomoci snížit riziko srdečních příhod. FDA tvrdí, že na etiketách potravin by mělo být uvedeno, že konzumace ω -3 MK v potravinách nebo dietních výrobcích může snížit riziko vysokého krevního tlaku a koronárních onemocnění. Doporučují také, aby dospělí přijímali maximálně 3 g ω -3 MK denně, přičemž doplňky stravy by neměly dodávat více než 2 g [81].

Důkazy naznačují, že obvyklý nedostatek ω -3 MK ve stravě, zejména během perinatálního vývoje, může představovat rizikový faktor depresivních poruch (MDD). Dospívající a dospělí pacienti s MDD vykazují ve srovnání se zdravými významný deficit ω -3 MK v krvi. Prospektivní důkazy dále naznačují, že vyšší hladina ω -3 MK v periferním krevním oběhu chrání před počátečním rozvojem MDD. Nedostatek ω -3 MK ve stravě je upravitelným rizikovým faktorem MDD. Proto může být k maximální ochraně před počátečním rozvojem MDD potřebná včasná detekce a léčba nedostatku ω -3 MK. Suplementace rybím tukem zabraňuje nebo oddaluje vznik psychózy u mladých lidí [84].

6.5 Záněty

Zánět je součástí řady akutních a chronických lidských nemocí. Je charakteristický produkcí zánětlivých složek, jako jsou cytokiny a eikosanoidy odvozené od kyseliny arachidonové a další zánětlivé mediátory. ω -3 MK jsou potenciálně silné protizánětlivé substance. Polynenasycené ω -3 MK s dlouhým řetězcem snižují produkci zánětlivých mediátorů, jako jsou eikosanoidy, cytokiny a reaktivní formy kyslíku. Působí jak přímo, tak i nepřímo. Přímým účinkem je nahrazování kyseliny arachidonové jako substrátu eikosanoidů a inhibice jejího metabolismu. Nepřímo ω -3 MK snižují expresi zánětlivých genů prostřednictvím účinků na aktivaci transkripčních faktorů. Kromě toho mohou ω -3 MK podporovat tvorbu protizánětlivých mediátorů zvaných resolviny. Mohou mít terapeutické využití u různých zánětlivých stavů. Terapeutický potenciál byl prokázán u některých onemocnění, jako je revmatoidní artritida, ale důkazy o jejich účinnosti u jiných onemocnění, jako jsou zánětlivé onemocnění střev a astma, jsou omezené. Prekurzor ω -3 MK, kyselina α -linolenová, zřejmě nemá při dosažitelném příjmu stejné protizánětlivé účinky. Protizánětlivá účinnost ω -3 MK se může zlepšit, pokud se sníží příjem ω -6 MK, zejména kyseliny arachidonové [85].

6.6 Kardiovaskulární onemocnění

Součástí rostlinných olejů a tuků jsou fytoosteroly (PSS). Do této skupiny se řadí rostlinné steroly (PSE) a stanoly (PSA). Jedná se o sloučeniny podobné cholesterolu přirozeně se vyskytující v různých potravinách, což usnadňuje jejich zařazení do stravy. Zdrojem PSS jsou rostlinné oleje, margaríny na bázi rostlinných olejů, semena, ořechy, obilné produkty, zelenina, luštěniny a ovoce vedle různých forem potravin a doplňků stravy s přidavkem rostlinných PSE a PSA. Průměrný příjem PSS z přirozených zdrojů se pohybuje mezi 200–400 mg/den při běžném typu stravování [86], ale u osob dodržujících veganskou nebo vegetariánskou stravu může být až 600 mg/den. Vyššího příjmu lze dosáhnout konzumací potravin obohacených o PSS, jako jsou pomazánky, margaríny, mléko, jogurty a jogurtové nápoje, které obvykle obsahují 0,75 až 2 g PSS na porci. Studie prokázaly závislost mezi dávkou a účinkem, přičemž při příjmu PSS až 3 g denně dochází ke snížení hladiny LDL-C o 6–12 % [66]. Vyšší příjem PSS byl spojen s nižší hladinou celkového cholesterolu a nižším LDL-C, zejména u mužů a u osob se zvýšeným rizikem ischemické choroby srdeční. Denní příjem 2 g PSS může vést k průměrnému snížení hladiny LDL-C o 10 %, což by potenciálně mohlo snížit celkové riziko ischemické choroby srdeční přibližně o 9 % [86,87]. Při příjmu do 3 g PSS denně jsou rostlinné PSE i PSA stejně účinné při snižování LDL-C. O příjmu PSS nad 4 g denně je však k dispozici

jen omezené množství údajů, takže je obtížné zjistit, zda jsou PSS účinné. Není však jasné, zda se účinnost PSA na snižování cholesterolů liší při vyšších dávkách ve srovnání se PSE. Vzhledem k přesvědčivým důkazům o jejich účincích byly PSS mezi prvními látkami, které obdržely povolení o zdravotní tvrzení regulačními orgány, jako jsou EFSA a FDA.

Mezi účinností volných a esterifikovaných PSS neexistuje žádný rozdíl. Volba dietních PSS nebo jejich zdrojů nemá na jejich účinnost významný vliv. Ve srovnání s vícenásobným denním příjmem se příjem PSS jednou denně, zejména ráno s lehkou snídaní, zdá být optimální pro snížení LDL-C. Pro optimalizaci účinků potravin a doplňků stravy s přidavkem PSS na snižování LDL-C je také důležité složení konzumovaného jídla, zejména obsah tuku. Příjem jídla a složení jídla, tj. obsah tuku v jídle, jsou kritickými faktory pro optimální účinnost u potravinách a doplňcích stravy s přidaným PSS. Konzumace alespoň 2 g/den PSS ve formě obohacených potravin nebo potravinových doplňků jako další doplněk ke zdravé výživě patří mezi doporučené dietní zásahy k léčbě dyslipidemie [66,87,88].

Rostlinné PSE částečně brání vstřebávání cholesterolu z potravy. Správně rozpuštěné rostlinné PSE mohou být zdraví prospěšné pro srdce, pokud jsou konzumovány v přiměřených dávkách z různých zdrojů, včetně přírodních a jako součást zdravé stravy a životního stylu. Zařazení rostlinných PSE do zdravé stravy by měla být podporována pro všechny osoby a konzumace rostlinných PSE v obohacených potravinách a doplňcích stravy by měla být konzultována s lékařem. Kromě svých vlastností snižujících cholesterol mají rostlinné steroly další slibné účinky, včetně protirakovinných, protizánětlivých, antiaterogenních a antioxidačních aktivit. Rostlinné PSE mají i negativní účinky, jako je snižování hladiny karotenoidů u dospělých jedinců. Tento faktor lze napravit zvýšeným příjmem potravy bohaté na karotenoidy. Denní příjem rostlinných PSE pro prevenci chronických onemocnění by se měl pohybovat mezi 0,8–1,0 g u dospělého jedince [66,87,88].

6.7 Střevní mikrobiom

Manipulace se stravou ovlivňuje složení střevní mikrobioty. Obvyklý příjem tuků obměňuje druhy bakterií a jejich metabolity v různých zeměpisných lokalitách a etnických skupinách. Tyto rozdíly jsou patrné v různých zeměpisných lokalitách, přičemž u městské populace převažují určité bakterie, jako jsou bakterie rodu *Bacteriodes*, *Fyfaecalibacterium* a *Ruminococcus*, díky nadměrnému příjmu průmyslově zpracovaných potravin. Naproti tomu venkovské populace mají díky rostlinné stravě rozmanitější bakteriální druhy. Nevyvážené bakteriální složení, známé jako střevní dysbióza, je spojeno se stravou s vysokým obsahem

tuků. Zejména strava s vysokým obsahem živočišných tuků indukuje růst patogenních bakterií a podobné bakteriální profily se vyskytují u obézních dospělých a pacientů s chronickým onemocněním, jako je diabetes 2. typu, poruchy zažívání a kardiovaskulární choroby. Naopak strava s vysokým obsahem rostlinných tuků zvyšuje počet prospěšných bakterií. K dysbióze však může vést i nadměrná konzumace palmového oleje, který obsahuje nasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem. Dietní intervence využívající různé stupně nasycení mastnými kyselinami ukázaly, že strava s vysokým obsahem nasycených mastných kyselin snižuje bakteriální diverzitu, zatímco strava s vysokým obsahem mononenasycených mastných kyselin ji zvyšuje. Strava s vysokým obsahem polynenasycených mastných kyselin však vykazuje velké rozdíly v bakteriální diverzitě. Celkově tato zjištění naznačují, že tuky ve stravě mají vliv na složení střevní mikroflóry [10].

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zaměřuje na vlastnosti a analýzu rostlinných olejů, s důrazem na jejich chemické složení, nutriční hodnotu a metody analýzy. Hlavním cílem bylo porozumět různým typům mastných kyselin obsažených v rostlinných olejích, jejich zdravotním přínosům a rizikům, a zhodnotit různé analytické metody používané k hodnocení kvality olejů.

Rešeršní práce poukazuje na to, že rostlinné oleje bohaté na polynenasycené a mononenasycené mastné kyseliny mají prokazatelné zdravotní přínosy, například snížení hladiny cholesterolu v krvi. Naopak, nasycené mastné kyseliny a *trans*-mastné kyseliny jsou spojovány se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních nemocí.

Analytické metody, jako plynová chromatografie, vysokoúčinná kapalinová chromatografie a infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací, se ukázaly být klíčovými nástroji pro přesnou analýzu složení olejů a tuků. Tyto metody umožňují identifikaci a kvantifikaci jednotlivých mastných kyselin a nahrazují tak metody, jako je stanovení peroxidového čísla a dalších ukazatelů kvality tuků a olejů.

Práce zdůrazňuje přítomnost antioxidantů v rostlinných olejích, které přispívají k jejich stabilitě a prodlužují trvanlivost zpomalením oxidace. Kontaminanty, jako jsou aflatoxiny a těžké kovy, představují významné riziko pro bezpečnost potravin, což podtrhuje nutnost důkladného testování a regulace jejich obsahu.

Závěrem lze konstatovat, že rostlinné oleje mají významné zdravotní přínosy, pokud jsou správně zpracovány. Pokračující inovace v oblasti analytických metod jsou klíčové pro kontrolu jejich kvality a bezpečnosti.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] VELÍŠEK, J. a J. HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [2] ČEPIČKA, J. *Obecná potravinářská technologie*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-708-0239-1
- [3] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-3-7.
- [4] MU, H. The digestion of dietary triacylglycerols. *Progress in Lipid Research*. 2004, 43(2), 105–133.
- [5] ZHOU, Y., W. ZHAO, Y. LAI, B. ZHANG a D. ZHANG. Edible Plant Oil: Global Status, Health Issues, and Perspectives. *Frontiers in Plant Science*. 2020, 11, 1315.
- [6] ZHANG, H., H. ZHAO, Y. ZHANG, Y. SHEN, H. SUN, J. JIN, Q. JIN a X. WANG. Characterization of Positional Distribution of Fatty Acids and Triacylglycerol Molecular Compositions of Marine Fish Oils Rich in Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *BioMed Research international*. 2018, 2018, 3529682.
- [7] Vyhláška č. 397/2016 Sb. *Vyhláška o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje*. In: *Zákony pro lidi* [online]. AION CS, 2010–2024 [cit. 2024-03-14]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397#cast3>
- [8] *Vegetable oils in food technology Composition, Properties and Uses*. 2002. Boca Raton, FL 33431, USA: Blackwell Publishing, 2002. ISBN 1-84127-331-7.
- [9] *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry volume 14*. 7. vyd. Wiley, 2011. ISBN 978-3-527-32943-4.
- [10] YAP, S. Y. Association of dietary fats with gut microbiota profile: How does palm oil fit in? *Journal of Oil Palm Research*. 2021, 2021-02-15, 34(3), 411–426.
- [11] *Gossypol*. Bezpečnost potravin [online]. [cit. 2024-03-12]. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/termin/gossypol/>
- [12] NAŘÍZENÍ KOMISE (EHS) č. 2568/91 ze dne 11. července 1991 o charakteristikách olivového oleje a olivového oleje z pokrutin a o příslušných metodách analýzy Ve znění: (Úř. věst. L 248, 5.9.1991, s. 1) [cit. 2024-03-14]. Dostupné z: <https://eur->

lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1991R2568:20120809:CS:P
[DF](#)

- [13] EVROPSKÁ KOMISE. *Olivový olej* [online]. [2023] [cit. 2024-03-14]. Dostupné z: https://agriculture.ec.europa.eu/farming/crop-productions-and-plant-based-products/olive-oil_cs
- [14] KADLEC, P., K. MELZOCH a M. VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2012. ISBN 978-80-7418-145-0.
- [15] KUČEROVÁ, J., M. PELIKÁN a L. HŘIVNA. *Zpracování a zbožiznalství rostlinných produktů*. Dotisk 2010. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007. ISBN 978-80-7375-088-6.
- [16] WALLACE, S. K. a D. MOZAFFARIAN. Trans-fatty acids and nonlipid risk factors. *Current Atherosclerosis Reports*. 2009, 11(6), 423–433.
- [17] WANNIARACHCHI, P. CH., T. G. G. UTHPALA a K. K. D. S. RANAWEERA. Aflatoxin Occurrence, Contamination, Detection, and Decontamination with Special Emphasis on Coconut Oil: A Review. *Journal of Agricultural Sciences – Sri Lanka*. 2023, 18(1), 101–128.
- [18] MAO, X., A. YAN, Y. WAN, D. LUO a H. YANG. Dispersive Solid-Phase Extraction Using Microporous Sorbent UiO-66 Coupled to Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry: A QuEChERS-Type Method for the Determination of Organophosphorus Pesticide Residues in Edible Vegetable Oils without Matrix Interference. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019, 67(6), 1760–1770.
- [19] TANG, Z., Z. GONG, W. JIA, W. SHEN, Q. HAN, F. FANG a Ch. PENG. Occurrence and exposure risk assessment of phthalate esters in edible plant oils with a high-frequency import rate in west China. *RSC Advances*. 2022, 12(12), 7383–7390.
- [20] CUSTODIO-MENDOZA, J. A., A.M. CARRO, M. A. LAGE-YUSTY, A. HERRERO, I. M. VALENTE, J. A. RODRIGUES a R. A. LORENZO. Occurrence and exposure of 3-monochloropropanediol diesters in edible oils and oil-based foodstuffs from the Spanish market. *Food Chemistry*. 2019, 270, 214–222.

- [21] ZIO, S., H. CISSE, O. ZONGO, F. GUIRA, F. TAPSOBA, N. SIOURIME SOMDA, F. HAMA-BA, L. TOULSOUMDE SONGRE-OUATTARA, Ch. ZONGO, Y. TRAORE a A. SAVADOGO. The Oils Refining Process and Contaminants in Edible Oils: A Review. *Journal of Food Technology Research*. 2020, 7(1), 9–47.
- [22] SOLOMON, E. B., S. YARON a K. R. MATTHEWS. Transmission of *Escherichia coli* O157: H7 from Contaminated Manure and Irrigation Water to Lettuce Plant Tissue and Its Subsequent Internalization. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002, 68(1), 397–400.
- [23] MOH, M. H., T. S. TANG a G. H. TAN. Quantitative determination of diesel oil in contaminated edible oils using high-performance liquid chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2001, 78(5), 519–525.
- [24] ANDRIYA, N.N., H. HAMIM, S. SULISTIJORINI a T. TRIADIATI. The phytoremediation potential of non-edible oil-producing plants for gold mine tailings. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 2019, 20(10), 2949–2957.
- [25] XIA, Q., Z. DU, D. LIN, L. HUO, L. QIN, W. WANG, L. QIANG, Y. YAO a Y. AN. Review on contaminants in edible oil and analytical technologies. *Oil Crop Science*. 2021, 6(1), 23–27.
- [26] GUTIERREZ R. A. V., M. HESTRÖM. Screening of self-assembled monolayer for aflatoxin B1 detection using immune-capacitive sensor. *Biotechnology Reports (Amsterdam, Netherlands)*. 2015, 8, 144–151.
- [27] SCHRENK, D., M. BIGNAMI, L. BODIN, F. SCHRENK, J. K. CHIPMAN, J. del MAZO, B. GRASL-KRAUPP, Ch. HOGSTRAND, L. HOOGENBOOM, J.C. LEBLANC, C. S. NEBBIA, E. NIELSEN, E. NTZANI, A. PETERSEN, S. SAND, T. SCHWERDTLE, Ch. VLEMINCKY, D. MARKO, I. P. OSWALD, A. PIERSMA, M. ROUTLEDGE, J. SCHLATTER, K. BAERT, P. GERGLOVA a H. WALLACE. Risk assessment of aflatoxins in food. *EFSA Journal*. 2020, 18(3), 6040.
- [28] Revised safe intake for 3-MCPD in vegetable oils and food. EFSA [online]. 10 January 2018n. l. [cit. 2024-06-16]. Dostupné z: <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/180110>

- [29] GIULIANI, A., M. ZUCCARINI, A. CICHELLI, H. KHAN a M. REALE. Critical Review on the Presence of Phthalates in Food and Evidence of Their Biological Impact. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020, 17(16).
- [30] McQueen, CH. A. Bond et al. *Comprehensive Toxicology*, Volumes 1–14 2nd ed. Kidlington: Elsevier, 2010. ISBN 978-0-08-046884-6
- [31] SEAMAN, V. Y., D. H. BENNETT a T. M. CAHILL. Indoor acrolein emission and decay rates resulting from domestic cooking events. *Atmospheric Environment*. 2009, 43(39), 6199–6204.
- [32] VELÍŠEK, J. a J. HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin 2*. 3. roz. a prep. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [33] Malondialdehyde. *The Merck Index online* [online]. White Station (New Jersey) Royal Society of Chemistry, 2024. [cit. 2024-06-04]. Dostupné z: https://merckindex.rsc.org/monographs/m7043_32
- [34] *Bisphenol A in food is a health risk*. EFSA [online]. 19 April 2023n. 1. [cit. 2024-06-16]. Dostupné z: <https://www.efsa.europa.eu/en/news/bisphenol-food-health-risk>
- [35] TAPER, M. Towards Greener Preservation of Edible Oils: A Mini-review. *Asian Journal of Applied Chemistry Research*. 2019, 4(1), 18.
- [36] VELÍŠEK, J. Aditivní látky. V knize: VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-5-3.
- [37] MCCLEMENTS, J. *Analysis of Lipids* [online]. 2003 [cit. 2024-06-14]. Dostupné z <http://people.umass.edu/~mcclemen/581Lipids.html>
- [38] WARNER, K. Methods of analysis to determine the quality of oils. In: GUNSTONE, Frank D., ed. *Modifying lipids for use in food*. Woodhead Publishing, 2006, s. 114125.
- [39] DAVÍDEK, J. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2. vyd. Praha: SNTL, 1981.
- [40] HOREL, J. *Chemicko-technologické rozborý zemědělských plodin*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1956.
- [41] ZYGLER, A., M. SŁOMIŃSKA a J. NAMIEŚNIK. Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec. V knize: Pawliszyn J. (ed.). *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*. Elsevier, 2012, s. 6582.

- [42] GERHARDOVA, I., T. JANKECH, P. MAJEROVA, J. PIESTANSKY, D. OLESOVA, A. KOVAC a J. JAMPILEK. Recent Analytical Methodologies in Lipid Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024, 25(4), 2249.
- [43] CHRISTIE, W. W. a X. HAN. *Lipid analysis*. 4 ed. Woodhead Publishing Limited, 2010. ISBN 978-0-95525-124-5.
- [44] LI, J., T. VOSEGAARD a Z. GUO. Applications of nuclear magnetic resonance in lipid analyses: An emerging powerful tool for lipidomics studies. *Progress in Lipid Research*. 2017, 68, 37–56.
- [45] ČÁSLAVSKÝ, J. a J. G. K. ŠEVČÍK. *Organická analýza*. Český Těšín: 2 Theta, 2022. ISBN 978-80-88279-17-4
- [46] WASHBURN, K. W. A Modification of the Folch Method of Lipid Extraction for Poultry. *Poultry Science*. 1989, 68(11), 1425–1427.
- [47] MACDOUGALL, K. M., J. MCNICHOL, P. J. MCGINN, S. J. B. O'LEARY a J. E. MELANSON. Triacylglycerol profiling of microalgae strains for biofuel feedstock by liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011, 401(8), 2609–2616.
- [48] SIKORSKI, Z. E. a A. KOLAKOWSKA, (ed). *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. CRC Press, 2003. ISBN 1-58716-105-2.
- [49] PATTERSON, H.B.W. Quality and Control. In: PATTERSON, H.B.W. *Hydrogenation of Fats and Oils: Theory and Practice*. 2 ed. AOCS Press, 2009, s. 330-333. ISBN 978-1-61344-255-5.
- [50] NORN, V. Analysis of Emulsifiers. V knize: NORN, V. *Emulsifiers in Food Technology*. 2 ed. Wiley, 2015, s. 322-324. ISBN 978-1-5231-1065-0.
- [51] DUDI, L., N. V. JILLELLAMUDI, CH. CHANDA a G. KANURI. Assessment of Quality Parameters in Edible Vegetable Oils. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2021, 11(3), 296–299.
- [52] YILDIZ, Y., M. A. ALFEEN a B. YILDIZ. Determination of iodine value in triisocetyl citrate (Citmol-316) by United States Pharmacopeia Hanus Method. 72 (2019). *International Journal Of Chemical and Physical Sciences*. 2019, 7(2), 38–41.

- [53] GÖKMEN, V. *Acrylamide in Food – Analysis, Content and Potential Health Effects*. Elsevier, 2016, s. 320–322.
- [54] DECKER, E. A., R.J. ELIAS a D.J. MCCLEMENTS, (ed.) *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications Volume 2: Management in different industry sectors*. Woodhead Publishing, 2010. ISBN 978-0-85-709033-1.
- [55] SALDANA, M. D. A. a S. I. MARTINEZ-MONTEAGUDO. Oxidative Stability of Fats and Oils Measured by Differential Scanning Calorimetry for Food and Industrial Applications. In: ELKORDY, Amal Ali, ed. *Applications of Calorimetry in a Wide Context – Differential Scanning Calorimetry, Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry*. InTech, 2013.
- [56] SUBRAMANIAM, P. *Stability and Shelf Life of Food*. 2nd ed. Elsevier, 2016 ISBN 978-0-08-100436-4.
- [57] YILDIZ, F. (ed.). *Advances in food biochemistry*. Boca Raton: CRC Press, 2010. ISBN 978-0-8493-7499-9.
- [58] CHOE, E. a D. B. MIN. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2006, 5(4), 169–186.
- [59] SOLDÓ, B., M. ŠPRUNG, G. MUŠAC, M. PAVELA-VRANČIĆ a I. LJUBENKOV. Evaluation of Olive Fruit Lipoxygenase Extraction Protocols on 9- and 13-Z, E-HPODE Formation. *Molecules*. 2016, 21(4), 506.
- [60] KARDASH-STROCHKOVA, E, Y.I. TUR'YAN a I. KUSELMAN. Redox-potentiometric determination of peroxide value in edible oils without titration. *Talanta*. 2001, 54(2), 411–416.
- [61] WAI, W. T., B. SAAD a B. P. LIM. Determination of TOTOX value in palm oleins using a FI-potentiometric analyzer. *Food Chemistry*. 2009, 113(1), 285–290.
- [62] GUILLÉN, M.D. a N. CABO. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry*. 2002, 77(4), 503–510.
- [63] ABEYRATHNE, E.D.N.S., K. NAM a D.U. AHN. Analytical Methods for Lipid Oxidation and Antioxidant Capacity in Food Systems. *Antioxidants*. 2021, 10(10), 1587.

- [64] POKORNY, J. a A. DIEFFENBACHER. Determination of 2-thiobarbituric acid value: direct method - results of a collaborative study and the standardised method. *Pure and Applied Chemistry*. 1989, 61(6), 1165–1170.
- [65] TRAUTWEIN, E., M. VERMEER, H. HIEMSTRA a R. RAS. LDL-Cholesterol Lowering of Plant Sterols and Stanols—Which Factors Influence Their Efficacy? *Nutrients*. 2018, 10(9), 1262.
- [66] ROHMAN, A., M.A.B. GHAZALI, A. WINDARSIH, I. IRNAWATI, S. RIYANTO, F.M. YUSOF a S. MUSTAFA. Comprehensive Review on Application of FTIR Spectroscopy Coupled with Chemometrics for Authentication Analysis of Fats and Oils in the Food Products. *Molecules*. 2020, 25(22), 5485.
- [67] ARAUJO, P., Y. ZENG, Z. DU, T. NGUYEN, L. FRØYLAND a B. GRUNG. Discrimination of n-3 Rich Oils by Gas Chromatography. *Lipids*. 2010, 45(12), 1147–1158.
- [68] KITTS, D. D., A. SINGH, F. FATHORDOOBADY, B. DOI a A. PRATAP SINGH. Plant Extracts Inhibit the Formation of Hydroperoxides and Help Maintain Vitamin E Levels and Omega-3 Fatty Acids During High Temperature Processing and Storage of Hempseed and Soybean Oils. *Journal of Food Science*. 2019, 84(11), 3147–3155.
- [69] CARRASCO-PANCORBO, A, L CERRETANI, A BENDINI, A SEGURA-CARRETERO, T GALLINA-TOSCHI a A FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ. Analytical determination of polyphenols in olive oils. *Journal of Separation Science*. 2005, 28(9–10), 837–858.
- [70] MAHONEY, N a R J MOLYNEUX. Rapid Analytical Method for the Determination of Aflatoxins in Plant-Derived Dietary Supplement and Cosmetic Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58(7), 4065–4070.
- [71] LÓPEZ-DÍEZ, E C, G BIANCHI a R GOODACRE. Rapid Quantitative Assessment of the Adulteration of Virgin Olive Oils with Hazelnut Oils Using Raman Spectroscopy and Chemometrics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51(21), 6145–6150.
- [72] WANG, X, P LI, X LIU, Y LIU, Q ZHANG, L ZHANG a B MATTHÄUS. Detection of Edible Plant Oil Adulteration by Triacylglycerol Profiles Using an Atmospheric Pressure Chemical Ionization Source and MS³ Ion Trap Mass Spectrometry. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2019, 121(12), 1900029.

- [73] YULIANI, F, S RIYANTO a A ROHMAN. Application of FTIR spectra combined with chemometrics for analysis of candlenut oil adulteration. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2018, 10(5), 54-59.
- [74] ZLATOHLÁVEK, L. Základní složky potravy. V knize: ZLATOHLÁVEK, L. *Klinická dietologie a výživa*. Druhé rozšířené vydání. Praha: Current media, [2019], s. 31-37. ISBN 978-80-88-129-44-8.
- [75] ISLAM, A., M. N. AMIN, S. A. SIDDIQUI, P. HOSSAIN, F. SULTANA a R. KABIR. Trans fatty acids and lipid profile: A serious risk factor to cardiovascular disease, cancer and diabetes. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2019, 13(2), 1643–1647.
- [76] STENDER, S., J. DYERBERG, A. BYSTED, T. LETH a A. ASTRUP. A trans world journey. *Atherosclerosis Supplements*. 2006, 7(2), 47–52.
- [77] RAMÍREZ, M., L. AMATE a A. GIL. Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. *Early Human Development*. 2001, 65(2), S95–S101.
- [78] ROGALSKA, E., S. RANSAC a R. VERGER. Stereoselectivity of lipases. II. Stereoselective hydrolysis of triglycerides by gastric and pancreatic lipases. *The Journal of Biological Chemistry*. 1990, 265(33), 20271–20276.
- [79] BAUER, E., S. JAKOB a R. MOSENTHIN. Principles of Physiology of Lipid Digestion. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2005, 18(2), 282–295.
- [80] DIGHRIRI, I. M., A. M. ALSUBAIE, F. M. HAKAMI, D. M. HAMITHI, M. M. ALSHEKH, F. A. KHOBRANI, F. E., DALAK, A. A. HAKAMI, E. H. ALSUEAADI, L. S. ALSAAWI, S. F. ALSHAMMARI, A. S. ALQAHTANI, I. A. ALAWI, A. A. ALJUAID a M. Q. TAWHARI. Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Brain Functions: A Systematic Review. *Cureus*. 2022, 14(10), e3009.
- [81] SIMOPOULOS, A. P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2002, 56(8), 365–379.
- [82] SUBLETTE, M. E., S. P. ELLIS, A. L. GEANT a J. J. MANN. Meta-Analysis of the Effects of Eicosapentaenoic Acid (EPA) in Clinical Trials in Depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2011, 72(12), 1577–1584.

- [83] GROSSO, G., A. PAJAK, S. MARVENTANO, S. CASTELLANO, F. GALVANO, C. BUCOLO, F. DRAGO, F. CARACI a G. MALAGA. Role of Omega-3 Fatty Acids in the Treatment of Depressive Disorders: A Comprehensive Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *PLoS ONE*. 2014, 9(5), e96905.
- [84] MCNAMARA, R. K. Role of Omega-3 fatty acids in the etiology, treatment, and prevention of depression: Current status and future directions. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*. 2016, 5, 96–106.
- [85] CALDER, P. C. N-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2006, 83(6), 1505S-1519S.
- [86] RAS, R. T., Y. T. VAN DER SCHOUW, E. A. TRAUTWEIN, I. SIOEN, G. W. DALMEIJER, P. L. ZOCK a J. WJ. BEULENS. Intake of phytosterols from natural sources and risk of cardiovascular disease in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-the Netherlands (EPIC-NL) population. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2015, 22(8), 1067–1075.
- [87] BERGER, A., P. JH. JONES a S. S. ABUMWEIS. Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients. *Lipids in Health and Disease*. 2004, 3(1), 5.
- [88] KATAN, M. B., S. M. GRUNDY, P. JONES, M. LAW, T. MIETTINEN a R. PAOLETTI. Efficacy and Safety of Plant Stanols and Sterols in the Management of Blood Cholesterol Levels. *Mayo Clinic Proceedings*. 2003, 78(8), 965–978.