

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2025

Bc. Kateřina Kopecká

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Analýza rostlinných a živočišných olejů

Bc. Kateřina Kopecká

Diplomová práce
2025

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Kateřina Kopecká**
Osobní číslo: **C23249**
Studijní program: **N0531A130028 Analytická chemie**
Téma práce: **Analýza rostlinných a živočišných olejů**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši na téma rostlinné a živočišné oleje a jejich použití ve veterinárních doplncích. Mimo jiné se zaměřte i na vlastnosti a charakterizaci olejů.
2. V experimentální části analyzujte různé rostlinné a živočišné oleje a vybrané výživové doplňky pro psy z hlediska mastných kyselin a těkavých látek s cílem určit, na základě kterých olejů jsou analyzované výživové doplňky postaveny.
3. Získané výsledky vyhodnoťte.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Tomáš Bajer, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **7. února 2025**
Termín odevzdání diplomové práce: **11. května 2026**

L.S.

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.
děkan

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

V Pardubicích dne 20. února 2026

Prohlašuji:

Práci s názvem “Analýza rostlinných a živočišných 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 6. 11. 2025

Bc. Kateřina Kopecká

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří panu doc. Ing. Tomášovi Bajerovi, Ph.D. za odborné vedení, ochotu, cenné rady a připomínky při vypracování mé diplomové práce. Také děkuji mé rodině a mému příteli za podporu po celou dobu studia. Zvláštní poděkování patří chovné stanici Mystery Guest za umožnění experimentu a za poskytnutí potřebných informací a materiálů.

ANOTACE

Diplomová práce se zaměřuje na analýzu veterinárních doplňků stravy. V teoretické části je zpracována rešerše dostupné literatury týkající se doplňků stravy pro psy, jako jsou vitamíny, oleje nebo řasy, s důrazem na jejich fyziologické účinky a využití v doplncích určených pro zvířata.

Experimentální část je věnována analýze vybraných olejů metodou plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií, jejímž cílem bylo zjistit, zda některý z testovaných olejů odpovídá složením vybraným veterinárním suplementům. V rámci měření byly stanoveny profily esterů mastných kyselin a následně také těkavé složky jednotlivých vzorků, aby bylo možné porovnat jejich chromatografické záznamy a určit podobnosti či rozdíly mezi nimi. Výsledky umožnily určit olej, který svým složením nejvíce odpovídá testovaným suplementům, a zároveň přispěly k lepšímu pochopení složení a zpracování veterinárních doplňků stravy obsahujících mastné kyseliny a vitamíny.

KLÍČOVÁ SLOVA

Doplňky stravy, veterinární doplňky stravy, mastné kyseliny, esterifikace, estery mastných kyselin, plynová chromatografie, hmotnostní spektrometrie.

TITLE

Analysis of vegetable and animal oils

ANNOTATION

This thesis focuses on the analysis of veterinary dietary supplements. The theoretical part reviews the available literature on dietary supplements for dogs, such as vitamins, oils, and algae, with an emphasis on their physiological effects and use in supplements intended for animals.

The experimental part is devoted to the analysis of selected oils using gas chromatography with mass spectrometry, the aim of which was to determine whether any of the tested oils correspond to the composition of selected veterinary supplements. As part of the measurements, the profiles of fatty acid esters and subsequently also the volatile components of individual samples were determined in order to compare their chromatographic records and identify similarities or differences between them. The results made it possible to identify the oil whose

composition most closely matched the tested supplements and also contributed to a better understanding of the composition and processing of veterinary dietary supplements containing fatty acids and vitamins.

KEYWORDS

Dietary supplements, veterinary dietary supplements, fatty acids, esterification, fatty acid esters, gas chromatography, mass spectrometry.

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ.....	12
SEZNAM TABULEK.....	13
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK.....	14
ÚVOD	16
1 TEORETICKÁ ČÁST	17
1.1 Potravinové doplňky a doplňky stravy	17
1.2 Doplňky stravy pro zvířata	17
1.2.1 Doplňky stravy na podporu kloubů a pohybového aparátu	18
1.2.2 Vitamíny	18
1.2.2.1 Vitamín A	19
1.2.2.2 Vitamín D.....	19
1.2.2.3 Vitamín E	19
1.2.2.4 Biotin.....	19
1.2.3 Oleje.....	20
1.2.3.1 Omega-3 mastné kyseliny	21
1.2.3.2 Omega-6 mastné kyseliny	22
1.2.3.3 Rybí olej	23
1.2.3.4 Lněný olej.....	23
1.2.3.5 Konopný olej a CBD olej	24
1.2.3.6 Pupalkový olej.....	24
1.2.3.7 Olivový olej.....	25
1.2.3.8 Kokosový olej.....	25
1.2.4 Doplňky stravy na bázi řas.....	26
1.2.4.1 Spirulina	26
1.2.4.2 Chlorella	27
1.2.4.3 Kelpa	27
1.2.5 Komerční doplňky stravy pro zvířata	27

1.3	Mastné kyseliny	28
1.3.1	Stanovení mastných kyselin.....	30
1.3.1.1	Esterifikace	30
1.3.1.2	Silylace	32
1.4	Silice	32
1.4.1	Stanovení silic.....	33
1.4.1.1	Mikroextrakce tuhou fází	33
1.4.1.2	Superkritická fluidní extrakce	33
1.4.1.3	Destilace vodní parou.....	34
1.5	Plynová chromatografie.....	34
1.5.1	Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií.....	36
1.5.1.1	Hmotnostní spektrometrie	37
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	40
2.1	Přístroje, zařízení a pomůcky.....	40
2.2	Chemikálie	40
2.3	Analyzované oleje a veterinární doplňky stravy.....	40
2.4	Analýza profilu mastných kyselin	41
2.4.1	Derivatizace vzorků olejů a veterinárních doplňků stravy	41
2.4.2	GC/MS podmínky separace	42
2.5	Analýza profilu těkavých látek	42
2.5.1	Extrakce těkavých látek	42
2.5.2	GC/MS podmínky separace	43
2.6	Zpracování experimentálních dat.....	43
3	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	44
3.1	Analýza profilů MK.....	44
3.1.1	Optimalizace analýzy profilů mastných kyselin.....	44
3.1.2	Analýza profilů mastných kyselin v olejích a doplňcích stravy	45
3.1.2.1	Analýza profilů MK ve vzorku 1	51

3.1.2.2	Analýza profilů MK ve vzorku 2	52
3.2	Analýza těkavých látek olejů	52
3.2.1	Porovnání vláken pro HS-SPME GC/MS	52
3.2.2	Optimalizace extrakčních podmínek pro HS-SPME GC/MS	54
3.2.3	Analýza profilů těkavých látek	57
3.3	Pozorování účinků veterinárních doplňků stravy	57
	ZÁVĚR	62
	POUŽITÁ LITERATURA	63
	PŘÍLOHY	82

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Struktura kyseliny alfa-linolenové.....	21
Obrázek 2: Struktura kyseliny eikosapentaenové	21
Obrázek 3: Struktura kyseliny dokosahexaenové	21
Obrázek 4: Struktura kyseliny linolové.....	22
Obrázek 5: Struktura kyseliny arachidonové	22
Obrázek 6: Struktura kyseliny gama-linolenové	22
Obrázek 7: Rovnice kyseliny katalyzované esterifikace MK.....	30
Obrázek 8: Rovnice bazicky katalyzované esterifikace MK.....	31
Obrázek 9: Rovnice esterifikace MK diazomethanem.....	32
Obrázek 10: Rovnice silylace MK trimethylchlorsilanem	32
Obrázek 11: Schéma plynového chromatografu [147].....	34
Obrázek 12: Schéma plamenově-ionizačního detektoru [152]	36
Obrázek 13: Schéma hmotnostního spektrometru [154].....	37
Obrázek 14: Schéma elektronové ionizace [155].....	38
Obrázek 15: Schéma chemické ionizace [155]	38
Obrázek 16: Schéma kvadrupólového analyzátoru [147]	39
Obrázek 17: Schéma elektronového násobiče [147]	39
Obrázek 18: 3D proložený model závislosti počtu píků na teplotě a času extrakce	56
Obrázek 19: Lhagalore Milky Way v dorosteneckém věku se světlým čumákem	58
Obrázek 20: Lhagalore Milky Way 28. 9. 2025; den přerušení suplementace vzorkem 1	59
Obrázek 21: Lhagalore Milky Way po týdenní suplementaci pupalkovým olejem.....	59
Obrázek 22: Lhagalore Milky Way po desetidenní suplementaci pupalkovým olejem..	60
Obrázek 23: Lhagalore Milky Way 14. den suplementace pupalkovým olejem; čumák postupně ztrácí pigment	60
Obrázek 24: Lhagalore Milky Way po týdenní suplementaci doplňkem stravy označeným jako vzorek 2.....	61

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled mastných kyselin [116; 117].....	29
Tabulka 2: Analyzované veterinární doplňky stravy	41
Tabulka 3: Podmínky pro GC/MS analýzu extraktů s obsahem FAME	42
Tabulka 4: Podmínky pro GC/MS analýzu těkavých látek.....	43
Tabulka 5: Přehled přidávaného množství činidel	44
Tabulka 6: GC/FID podmínky separace.....	45
Tabulka 7: Obsah FAME v jednotlivých olejích a doplňcích stravy – 1. část (“n.d.“ – nebyl detekován).....	46
Tabulka 8: Obsah FAME v jednotlivých olejích a doplňcích stravy – 2. část (“n.d.“ – nebyl detekován).....	48
Tabulka 9: Vzorce a názvy MK	50
Tabulka 10: Porovnání obsahu FAME v doplňku stravy 1 s pupalkovým a konopným olejem (“n.d.“ – nebyl detekován)	51
Tabulka 11: Navážky a teploty extrakce směsného vzorku	53
Tabulka 12: Podmínky pro HS-SPME GC/MS analýzu	54
Tabulka 13: Počty píků při daných extrakčních podmínkách	55
Tabulka 14: Faktorová analýza ANOVA (1 – teplota, 2 – čas)	56
Tabulka 15: Kritické hodnoty pro extrakci podle počtu píků	57

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AA	Kyselina arachidonová
ALA.....	Kyselina alfa-linolenová
CBD.....	Kanabidiol
CI.....	Chemická ionizace
DHA	Kyselina 4,7,10,13,16,19-dokosahexaenová
DI-SPME	Přímá mikroextrakce tuhou fází
EFA	Esenciální mastné kyseliny
EI	Elektronová ionizace
EPA	Kyselina 5,8,11,14,17-eikosapentaenová
FAME.....	Methylestery mastných kyselin (Fatty acids methyl esters)
FID.....	Plamenově-ionizační detektor (Flame ionization detector)
FTICR.....	Cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací (Fourier-transform ion cyclotron resonance)
GC	Plynová chromatografie (Gas chromatography)
GLA.....	Kyselina gama-linolenová
GLC	Chromatografie s kapalnou stacionární fází (Gas-liquid chromatography)
GSC	Chromatografie s pevnou stacionární fází (Gas-solid chromatography)
HS-SPME	Head-space mikroextrakce tuhou fází
LA.....	Kyselina linolová
MCT	Triglycerol nasycených mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (Medium-chain triglyceride)
MK.....	Mastné kyseliny
MS	Hmotnostní spektrometrie (Mass spectrometry)
PLOT	Chromatografická kolona s vrstvou adsorbentu (Porous layer open tubular)
PUFA.....	Polynenasycené mastné kyseliny (Polyunsaturated fatty acids)
SCOT.....	Chromatografická kolona s vrstvou náplně (Support-coated open tubular)
SFE	Superkritická fluidní extrakce
SPME.....	Mikroextrakce tuhou fází

THC Tetrahydrokanabidiol
WCOT Chromatografická kolona s filmem stacionární fáze (Open tubular wall-coated)
 ω -3 Omega-3 mastné kyseliny
 ω -6 Omega-6 mastné kyseliny

ÚVOD

Výživa představuje jeden ze základních faktorů ovlivňujících zdraví a celkový stav organismu. V posledních desetiletích se zvyšuje zájem o její kvalitní složení a o možnosti cíleného ovlivnění fyziologických funkcí prostřednictvím specifických živin. Doplnky stravy se tak staly nedílnou součástí moderního přístupu k prevenci onemocnění a podpoře zdraví.

Podobný vývoj lze v posledních letech pozorovat i v oblasti veterinární výživy. Rostoucí zájem o výživové potřeby zvířat a snaha zlepšit jejich celkovou kondici vedou k častějšímu využívání doplňků stravy i u domácích mazlíčků. Tyto přípravky obsahují různé účinné složky jako vitaminy, minerální látky, esenciální mastné kyseliny, aminokyseliny či rostlinné extrakty a jsou určeny k podpoře specifických funkcí organismu, například imunity, zdraví kůže a srsti, kloubního aparátu nebo metabolismu.

S rostoucím zájmem o tuto oblast se zároveň rozšiřuje i nabídka produktů na trhu. Výrobci reagují na poptávku po přirozených a funkčních složkách a uvádějí na trh stále širší spektrum přípravků určených pro různé věkové kategorie, plemena či zdravotní stavy zvířat. Veterinární doplňky stravy se tak stávají významnou součástí péče o zdraví zvířat a jejich správné zařazení do krmného režimu může pozitivně ovlivnit celkový stav a vitalitu organismu.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Potravinové doplňky a doplňky stravy

Potravinové doplňky jsou v dnešní době běžnou součástí životního stylu mnoha lidí po celém světě. Hlavním důvodem použití potravinových doplňků a doplňků stravy je skutečnost, že současný životní styl (stres, nevhodné životní prostředí, zpracované potraviny) spolu s nedostatečnou výživou nedokážou zajistit dokonalé zdraví a dostatečný příjem důležitých látek nezbytných pro tělo [1].

Mezi potravinové doplňky se řadí takové produkty, které nepatří mezi léčiva, ovšem zajišťují dostatečný příjem konkrétní látky, která v běžné stravě chybí. Doplňkem stravy se rozumí produkt, který je kombinací více potravinových doplňků [1].

Doplňky stravy se rozdělují na vitamíny (např. vitamín A, D, E), minerální látky (např. železo, zinek), antioxidanty (např. extrakt z ginko biloby), doplňky na povzbuzení (např. koenzym Q10), probiotika (produkty mléčného kvašení), enzymy (např. trávicí enzymy, laktáza), hormony (např. melatonin), doplňky obsahující mastné kyseliny (např. omega-3, omega-6, pupalkový olej) a doplňky pro sportovce (např. kreatin, aminokyseliny, proteinové výrobky) [1; 2; 3].

1.2 Doplňky stravy pro zvířata

Stejně jako lidé, tak i zvířata, včetně domácích mazlíčků, mohou mít prospěch z cíleného doplňování stravy. V několika posledních letech se zájem o doplňky stravy pro psy exponenciálně zvýšil, což vedlo k rozvoji trhu s potravinovými doplňky právě pro domácí mazlíčky. Tento trend je poháněn narůstajícími znalostmi o nutričních potřebách zvířat, zlepšenou veterinární péčí a rostoucím uvědoměním majitelů o tom, jak důležitou roli hraje správná výživa ve zdraví psů. Základem výživy je vyvážená strava, doplňky stravy však mohou pomoci potřebné živiny doplnit [4; 5].

Potravinové doplňky pro psy jsou navrhovány tak, aby buď podporovaly celkové zdraví, řešily specifické nutriční nedostatky nebo obecně zlepšovaly kvalitu života zvířete. Veterinární lékaři často doporučují doplňky stravy pro zlepšení již předepsané léčby, nebo pomáhají snížit výskyt některých onemocnění nebo jim předcházet, jako například artritidě [4].

Mezi běžné typy doplňků patří produkty na podporu kloubů (např. glukosamin v kombinaci s chondroitinem a methylsulfonylmethanem), imunity (např. řasy a sinice, oleje, antioxidanty, multivitaminy a minerály), srsti a kůže (např. oleje, biotin), trávicího systému

(probiotika, pivovarské kvasnice) nebo doplňky na redukci stresu a zlepšení duševního zdraví (např. aminokyseliny [6], α -kazozepein [7], CBD oleje [8; 9]) [4; 5; 10; 11].

1.2.1 Doplnky stravy na podporu kloubů a pohybového aparátu

Přípravky podporující obnovu a funkci kloubů obvykle obsahují tyto tři sloučeniny: glukosamin, chondroitin a methylsulfonylmethan [4; 5; 10]. Doplnky stravy s těmito sloučeninami napomáhají hojení kloubní chrupavky a podporují tvorbu tekutiny, která klouby promazává. Často se podávají psům s dysplazií neboli vývojovou abnormalitou kloubů, osteoartrózou [12; 13], poškozením chrupavky nebo uvolněnými klouby. Ovšem aby se projevil účinek takovýchto doplňků stravy, je potřeba je užívat dlouhodobě [4].

Glukosamin je aminocukr přirozeně se nacházející v kostech, kostní dřeni, měkkých částech a houbách [14]. Pomáhá tělu vytvářet kloubní pojivovou tkáň nacházející se především na kostech v oblasti kloubu a podporuje tak funkci kloubů a stavbu chrupavky [5; 10; 14]. V doplňcích stravy se většinou podává ve formě sulfátu, může se ovšem vyskytovat i ve formě hydrochloridu nebo N-acetylglukosaminu [15].

Zdraví kloubů napomáhá také chondroitin, cukerná bílkovina nacházející se v kloubní chrupavce, kde se podílí na pružnosti chrupavky a její schopnosti odolat tlaku. V doplňcích stravy se vyskytuje většinou ve formě sulfátu [5; 16; 17].

Methylsulfonylmethan je sloučenina obsahující síru, která se vyskytuje v rostlinách, zvířatech a lidech. Často se používá jako doplněk stravy v alternativní medicíně, zejména pro zdraví kloubů, a to díky své roli při syntéze kolagenu a potenciálním protizánětlivým vlastnostem. Methylsulfonylmethan se často používá pro zmírnění bolesti kloubů, zmírnění zánětů a posílení imunity [18; 19].

Doplňky mohou obsahovat další sloučeniny, jako například hydrolyzovaný kolagen, hyaluronan sodný nebo vitamín C. Tyto produkty se běžně prodávají, nejčastěji pod značkou ALAVISTM [20; 21].

1.2.2 Vitamíny

Vitamíny jsou jedním z mnoha výživových faktorů, které ovlivňují mimo jiné i vnější vzhled psa. Vitamíny se dělí na vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K) a vitamíny rozpustné ve vodě (komplex vitamínů B a C) [22; 23]. Většina vitamínů je pro psy nezbytná a musí být přijímána v potravě, s výjimkou vitamínu C, který se syntetizuje v játrech z D-glukózy [22; 24].

1.2.2.1 Vitamín A

Vitamin A (retinol) byl úspěšně použit u psů k perorální léčbě seborey. Lokální léčba byla použita u několika kožních onemocnění a ukázala se jako prospěšná u pacientů s výrazným ucpaním folikulů a hyperkeratózou [25; 26; 27; 28]. Seborea neboli seboroická dermatitida nebo seboroický ekzém je kožní onemocnění charakterizované nadměrnou tvorbou kožního mazu, zánětem a tvorbou nažloutlých šupinek, které se projevuje zejména na pokožce hlavy, hrudníku a zad [29]. Vitamín A také napomáhá zlepšení klinických příznaků, včetně úrovně svědění, množství šupin, alopecie a celkové kvality srsti [27; 28; 30; 31; 32]. Nedostatek tohoto esenciálního vitamínu může vést k celé řadě zdravotních problémů, včetně zhoršeného zraku, oslabené imunitní funkce a reprodukčních abnormalit [33].

1.2.2.2 Vitamín D

Suplementace vitamínem D je u psů velmi specifická, protože na rozdíl od lidí si ho psi nedokážou syntetizovat v kůži ze slunečního záření a musí ho přijímat výhradně z potravy. To má velký význam pro zdraví kostí, metabolismu a imunity. Vitamin D hraje důležitou roli v regulaci metabolismu vápníku a ve vývoji a udržování zdraví kostry [24; 34; 35].

Vitamín D se u psů podává pouze v přesně dávkované formě, protože jeho nedostatek může vést k poruchám kostí a imunity, ale předávkování je toxické (hyperkalcémie, poškození ledvin). Kvalitní komerční granule nebo konzervy obsahují vitamín D₃ ve formě cholekalciferolu. Například AAFCO (Association of American Feed Control Officials) stanovuje minimální a maximální limity vitamínu D v krmivu [24; 36].

1.2.2.3 Vitamín E

Vitamín E patří mezi klíčové antioxidanty, které hrají zásadní roli v ochraně buněčných membrán před poškozením volnými radikály. U psů přispívá k udržení zdravé kůže a lesklé srsti, podporuje správnou funkci imunitního systému a podílí se na ochraně svalové a nervové tkáně [37]. Jeho dostatečný příjem má prokazatelný vliv na zlepšení imunitní odpovědi, zejména u starších psů, a působí i jako podpůrný faktor při zánětlivých onemocněních, například osteoartróze. Významná je také jeho úloha v reprodukci a ochraně zraku. Nedostatek vitamínu E se může projevit svalovou slabostí, neurologickými problémy, oslabenou imunitou či kožními potížemi [24; 28; 38].

1.2.2.4 Biotin

Biotin je esenciální vitamín B₇, jinak známý také jako vitamín H, který působí jako kofaktor enzymů důležitých pro metabolismus tuků, bílkovin a sacharidů ve všech živých

buňkách. Je to vitamín rozpustný ve vodě, což znamená, že se v buňkách neukládá a je tedy třeba ho doplňovat stravou [39; 40; 41]. Je přirozeně obsažen v některých potravinách (orgánové maso, vejce, ryby atd) a je k dispozici jako doplněk stravy [42].

Biotin je základní živina pro psy, která hraje klíčovou roli v jejich celkovém zdraví, včetně kůže, srsti, polštářků tlapek, drápů a metabolických funkcí [43]. Biotin se podílí na metabolismu tuků, sacharidů a bílkovin, které jsou nezbytné pro zásobování organismu energií. Bílkoviny jsou nezbytné pro obnovu tkání, vývoj svalů a celkový růst a vývoj, včetně udržení zdravé svalové hmoty. Biotin hraje také klíčovou roli při tvorbě glukózy, která je pro tělo zdrojem energie. Doplnky stravy s biotinem mohou být prospěšné také psům s alopecií, protože pomáhají funkci mazových žláz a mohou zlepšit vzhled jejich srsti [40; 44; 45].

1.2.3 Oleje

Oleje jsou zvířatům podávány především kvůli zdraví prospěšným esenciálním mastným kyselinám (EFA), vitamínům a antioxidantům. Esenciální mastné kyseliny bývají často ukazatelem optimální výživy. Tyto živiny mohou zlepšit kvalitu kůže a srsti, podpořit imunitu a funkci kloubů, zlepšit trávení, podpořit kardiovaskulární pohodu a zvýšit celkovou vitalitu. Při jejich nedostatku se kůže a srst začne jevit jako matná a zanedbaná. Mezi další klinické projevy nedostatku EFA patří špatný růst, neplodnost, šupinatá kůže, slabé kožní cévy, které snadno praskají a snížení hojení ran [46; 47; 48].

Dvě hlavní skupiny polynenasycených mastných kyselin (PUFA) užívaných ve veterinární medicíně jsou omega-3 (ω -3) a omega-6 (ω -6) mastné kyseliny. Stejně jako všechny mastné kyseliny se ω -3 i ω -6 skládají z dlouhých řetězců atomů uhlíku s karboxylovou skupinou na konci. Tyto kyseliny se od nasycených a mononenasycených mastných kyselin liší přítomností dvou nebo více dvojných vazeb mezi uhlíky v řetězci mastné kyseliny [49].

Omega mastné kyseliny vytvářejí důležité hormony, které regulují průtok krve a záněty. ω -3 se nacházejí především ve studenovodních rybách, korýších, rostlinných a ořechových olejích a lněném semínku. ω -3 také pomáhá vyvažovat ω -6 mastné kyseliny, které se běžně vyskytují ve zpracovaných potravinách a většině obilovin. Vzhledem k tomu, že mnoho výrobců krmiv pro psy používá maso ze zvířat krmených kukuřicí, která má vysoký obsah ω -6, mají jich psi ve stravě často nadbytek. Organismus potřebuje ω -6 mastné kyseliny, ale dnešní strava jich často obsahuje příliš mnoho a tělo potřebuje obojí ve správné rovnováze [50].

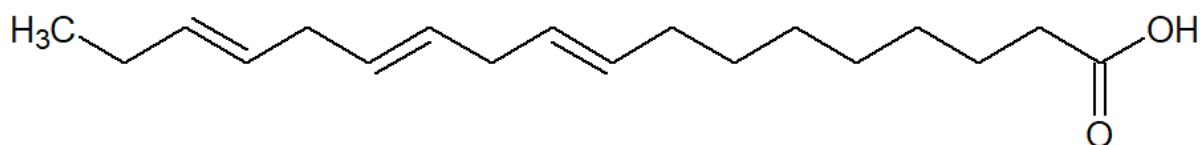
Experimentální důkazy [28; 51] vypovídají o tom, že specifický poměr ω -3 a ω -6 mastných kyselin má příznivé protizánětlivé účinky. Nižší poměr ω -6/ ω -3 mastných kyselin, ideálně 1:1 až 3:1, je vhodnější pro snížení rizika mnoha chronických onemocnění. Nadměrné

množství ω -6 a velmi vysoký poměr ω -6/ ω -3 podporují patogenezi mnoha onemocnění, včetně kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny a zánětlivých a autoimunitních onemocnění, zatímco zvýšené hladiny ω -3, tedy nižší poměr ω -6/ ω -3, mají potlačující účinky. Ovšem existuje argument, že za potenciální zdravotní přínosy je zodpovědné spíše absolutní množství přijímaných ω -3 mastných kyselin než jejich poměr.

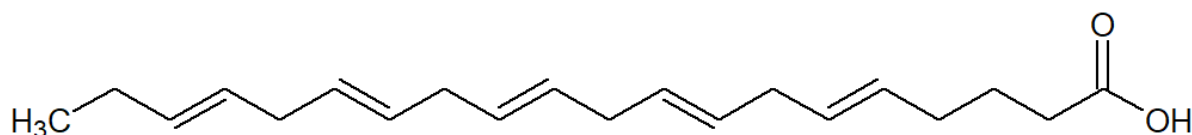
1.2.3.1 Omega-3 mastné kyseliny

Omega-3 mastné kyseliny, mají dvojnou vazbu umístěnou tři uhlíky od methylového konce řetězce. ω -3, jsou obsaženy v některých potravinách, jako jsou rybí oleje (např. lososový, sardinkový) nebo v rostlinných zdrojích (např. lněná semínka, chia semínka, konopí). ω -3 jsou také složkou některých krmiv a doplňků stravy a mohou pomoci při léčbě psí artritidy a chronického onemocnění ledvin [49; 50; 52].

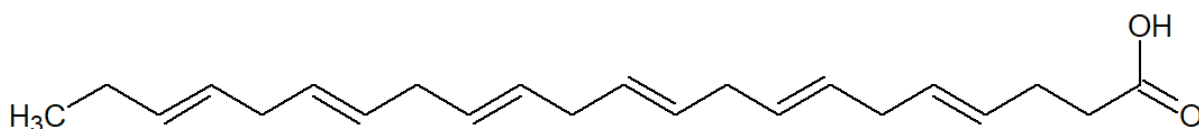
Mezi hlavní ω -3 kyseliny patří kyselina alfa-linolenová (ALA, C18:3^{A9,12,15}), kyselina eikosapentaenová (EPA, C20:5^{A5,8,11,14,17}) a kyselina dokosahexaenová (DHA, C22:6^{A4,7,10,13,16,19}) [49; 53].



Obrázek 1: Struktura kyseliny alfa-linolenové



Obrázek 2: Struktura kyseliny eikosapentaenové



Obrázek 3: Struktura kyseliny dokosahexaenové

Organismus může vytvářet dvojnou vazbu mezi uhlíky pouze za devátým uhlíkem od methylového konce mastné kyseliny [54]. Proto je ALA považována za esenciální mastnou kyselinu a musí tak být získávána ze stravy [55]. ALA může být přeměněna na EPA a následně na DHA, ale tato přeměna, ke které dochází především v játrech, je velmi omezená, uvádí se

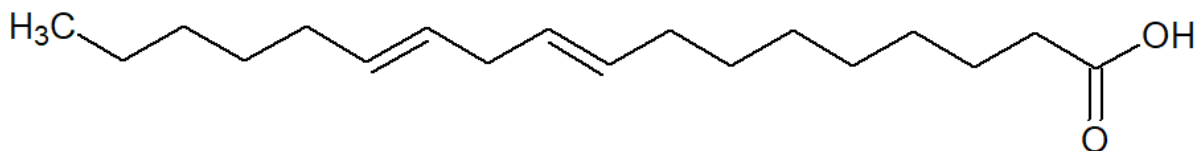
méně než 15 %. Proto je získávání EPA a DHA přímo z potravin nebo doplňků stravy jediným praktickým způsobem, jak zvýšit hladinu těchto mastných kyselin v těle [56; 57].

ALA je přítomna v rostlinných olejích, jako je lněný, sójový a řepkový olej. DHA a EPA jsou přítomny v rybách, rybích olejích a olejích z krillu, ale původně je syntetizují mikrořasy v základně mořského potravního řetězce, nikoli ryby. Jakmile se mikrořasy dostanou na vyšší úroveň potravního řetězce, ryby získávají ω -3 a hromadí je ve svých tkáních [56].

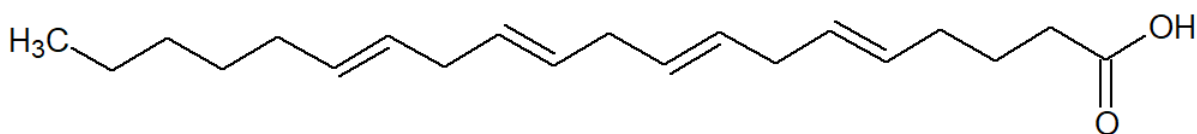
DHA napomáhá správnému vývoji mozku a očí štěňat a může také zlepšit kognitivní funkce u starších psů, kteří se potýkají s kognitivní dysfunkcí. Mozek samotný se skládá z 50 % z tuku a DHA tvoří 10–20 % všech tuků a více než 90 % dlouhých řetězců PUFA nacházejících se v mozku. To vysvětluje, proč se obecně věří, že DHA ovlivňuje pozornost, paměť a schopnost učení [57; 58; 59].

1.2.3.2 Omega-6 mastné kyseliny

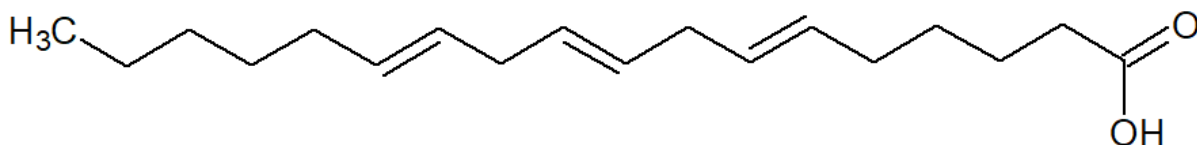
Omega-6 mastné kyseliny mají dvojnou vazbu, která je vzdálena šest uhlíků od methylového konce mastné kyseliny. Mezi hlavní ω -6 mastné kyseliny se řadí kyselina linolová (LA; C18:2 ^{Δ 9,12}), kyselina arachidonová (AA; C20:4 ^{Δ 5,8,11,14}) a kyselina gama-linolenová (GLA; C18:3 ^{Δ 6,9,12}) [49].



Obrázek 4: Struktura kyseliny linolové



Obrázek 5: Struktura kyseliny arachidonové



Obrázek 6: Struktura kyseliny gama-linolenové

LA hraje u zvířat důležitou roli při tvorbě lipidové bariéry v kůži, která zabraňuje nadměrnému úniku vody, snadněji udržuje hydrataci, pružnost a celistvost pokožky. Nedostatek

LA je neobvyklý a projevuje se jako suchá, šupinatá kůže, zvýšené línání nebo zhoršená kvalita srsti. Mohou se také vyskytnout reprodukční problémy [60].

AA reguluje proliferaci neboli obnovu epidermis [28; 60; 61], ovšem její nadbytek může způsobit zánětlivou reakci [60]. Nadbytek AA vede ke vzniku mediátorů eikosanoidů (tromboxany, leukotrieny a příbuzné metabolity). Tyto látky mají samy o sobě zánětlivé účinky a také regulují produkci dalších mediátorů, včetně zánětlivých cytokinů, což jsou látky přenášející informace mezi buňkami a mají vliv na růst a dělení buněk [62]. Konzumace ω -3 mastných kyselin snižuje množství AA v buněčných membránách, a tím i množství dostupné pro produkci eikosanoidů [63].

GLA v organismu metabolizuje na kyselinu dihomogama-linolenovou, ta je následně metabolizována na kyselinu 15-(S)-hydroxy-8,11,13-eikosatrienovou a prostaglandin E1. Tyto sloučeniny mají jak protizánětlivé, tak antiproliferační vlastnosti [64]. GLA má tendenci zvyšovat hladinu energie u psů, pomáhá udržovat metabolismus na vysoké úrovni a spalovat více tuků, psi jsou poté aktivnější a méně náchylní k obezitě [65]. GLA také snižuje příznaky artritidy [66; 67; 68].

1.2.3.3 Rybí olej

Rybí olej je jedním z nejlepších doplňků stravy pro psy z kategorie olejů. Rybí olej podporuje zdraví srdce psa, podporuje hedvábnou srst, snižuje svědění a šupinatění kůže a může pomoci zmírnit alergie a bolesti kloubů [69]. Dokonce může pomoci posílit imunitní systém a může mu pomoci v boji proti rakovině [50; 52; 70].

Rybí olej je bohatý na ω -3 mastné kyseliny. Stejně jako lidé, ani psi si ω -3 mastné kyseliny nedokážou sami vyrobit a musí je získávat ze stravy [11; 50; 52].

Bylo zjištěno, že rybí olej snižuje zranitelnost srdce při vzniku nepravidelného rytmu, tzv. fibrilace síní [71]. Rybí olej může navíc působit jako antikoagulant a zabraňovat tvorbě krevních sraženin u psů s onemocněním srdce [52; 72].

1.2.3.4 Lněný olej

Lněná semínka, jsou malá semínka s ořechovou chutí, která mají pro psy mnoho zdravotních výhod. Lněný olej, který se vyrábí z mletých a lisovaných lněných semínek, má podobné zdravotní vlastnosti, jako rybí olej. Tento olej má vysoký obsah kyseliny alfa-linolenové (až 60 %). Lněný olej se často používá jako rostlinná alternativa k rybímu oleji, hlavně v případech, kdy pes má alergii nebo nesnášenlivost na ryby nebo rybí bílkoviny, pes

nechce rybí olej kvůli chuti/zápachu, či když majitel preferuje rostlinný zdroj ω -3 mastných kyselin v kombinaci s vegetariánskou dietou [73; 74; 75; 76].

Lněná semínka také obsahují lignany, sloučeniny nacházející se v rostlinách, které mohou zlepšit kardiovaskulární zdraví a pomáhat v boji proti rakovině. Protizánětlivé vlastnosti lněných semínek mohou pomoci zmírnit příznaky artritidy, snížit krevní tlak, zlepšit funkci ledvin a udržovat zdravou kůži a srst u psů [76].

1.2.3.5 Konopný olej a CBD olej

Konopný olej i CBD olej jsou dva produkty ze stejného druhu rostliny, *Cannabis sativa*, každý však pochází z různých částí rostliny a každý z nich má zcela odlišné vlastnosti [66].

Konopný olej je extrahovaný ze semen konopí, která neobsahují kanabidiol (CBD) ani psychoaktivní tetrahydrokanabinol (THC) [77; 78]. Jedná se tedy o bezpečný, nenávykový produkt vhodný pro psy. Olej získaný z konopných semen obsahuje až 90 % PUFA a vyznačuje se velkým množstvím dvou esenciálních mastných kyselin: kyseliny linolové (průměrné množství 56 %) a kyseliny alfa-linolenové (průměrné množství 16 %) [77; 79]. Poměr ω -6: ω -3 v konopném oleji se obvykle pohybuje mezi 2:1 a 3:1, což je považováno za optimální pro zdravý organismus [80; 81]. Konopný olej také obsahuje vysoké množství metabolitů LA a ALA, jako je kyselina GLA a kyselina stearidonová (C18:4) [77; 81].

Mastné kyseliny spolu s vitamíny a minerály obsaženými v konopném oleji mohou zvýšit lesk a hebkost srsti [77; 78]. Konopná semena se používají v kosmetických přípravcích a mýdlech, protože olej může pronikat do vnitřních vrstev kůže a podporovat zdravý růst buněk [82].

CBD olej na rozdíl od oleje z konopných semen obsahuje kanabidiol, jednu z více než 60 chemických látek, které tvoří konopnou rostlinu. Obsah THC v marihuaně se obvykle pohybuje mezi 10 a 15 %, CBD olej však musí mít obsah THC 0,3 % nebo méně. CBD není psychoaktivní, ale má řadu příznivých farmakologických účinků, včetně protizánětlivých a antioxidantních vlastností [83; 84]. Mimo jiné může CBD olej pomoci při léčbě řady zdravotních potíží, včetně rakoviny. Mezi další zdravotní přínosy patří snížení úzkosti, pomáhá zvládat záchvaty a epilepsii, zmírňuje bolest, zvyšuje chuť k jídlu a pomáhá při nevolnosti [66; 67; 68].

1.2.3.6 Pupalkový olej

Pupalkový olej se získává ze semen pupalky dvouleté (*Oenothera biennis*). Obsahuje vysoké množství EFA, které mají klíčovou roli ve zdraví kůže, srsti a celkovém metabolismu

psů. Nejvýznamnější složky oleje jsou kyselina linolová (65–75 %) a kyselina gama-linolenová (8–11 %) [85; 86; 87]. Pupalkový olej také obsahuje menší množství kyseliny olejové, vitamínu E a fytosterolů, které mají antioxidační a imunomodulační efekt [85].

1.2.3.7 Olivový olej

Olivový olej se psům dává méně často než třeba lososový nebo lněný, ale i on má své důvody, proč se přidává do krmiva. Je často doporučován pro alergické psy, kteří nemohou užívat jiný druh olejů, jako například rybí [88].

Olivový olej obsahuje převážně mononenasyčené mastné kyseliny omega-9, hlavně kyselinu olejovou (C18:1, až 80 %), které jsou prospěšné pro kardiovaskulární zdraví [89]. Může také pomoci zvlhčit suchou kůži a podpořit lesklou srst. Olivový olej je také známý pro své antioxidační vlastnosti, které mohou podpořit celkové zdraví [90].

Olivový olej může mít i přes své benefity negativní důsledky pro psy, kteří už trpí zdravotními problémy, jako je zánětlivé onemocnění střev nebo pankreatitida. Přidání olivového oleje do psího krmiva může působit jako projímadlo [91].

Mimo jiné se olivový olej může používat lokálně přímo na srst. Je pro srst prospěšný, zvlhčuje suchou a svědivou pokožku, zlepšuje lesk a zářivost srsti, snižuje tvorbu lupů a šupinatost, zabraňuje zacuchávání srsti a pomáhá zklidnit podráždění pokožky nebo drobná poranění. Ovšem je důležité ho používat střídavě a správným způsobem. Nanesením přílišného množství olivového oleje na srst může dojít k přílišné mastnotě nebo dokonce k podráždění kůže [92].

1.2.3.8 Kokosový olej

Kokosový olej se získává z bílé dužiny kokosového ořechu, který roste na kokosové palmě. Tento olej se extrahuje a dělí se na dva druhy: rafinovaný kokosový olej a nerafinovaný kokosový olej. Rafinovaný kokosový olej má jemnou chuť a lze jej používat při vysokých teplotách, například při vaření. Tento olej se poté zpracovává do přípravků pro pokožku nebo pro orální užití. Nerafinovaný kokosový olej, někdy nazývaný panenský kokosový olej, je minimálně zpracovaný a zachovává si svou chuť. Je nejvhodnější pro doplnění stravy psů, zejména pokud je lisovaný za studena [93].

Kokosový olej se z 91 % skládá z triglycerolů nasycených mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (MCT), které jsou odolné vůči peroxidaci a proto pomalu žluknou. Hlavní mastnou kyselinou kokosového oleje je kyselina laurová (C12:0, 43–53 %), poté kyselina myristová (C14:0, 16–21 %) a kyselina palmitová (C16:0, 7,5–10,2 %) [94; 95; 96].

Kyselina laurová má antibakteriální [97] a protiplísňové [98] účinky, proto je možné kokosový olej podávat orálně pro redukci zubního plaku a zápachu z tlamy [74; 94; 99]. Vzhledem k vysokému obsahu MCT se kokosový olej používá ke zlepšení kognitivních funkcí a obecně ke zlepšení funkcí mozku, zejména u starších psů [100; 101].

Kokosový olej lze přidávat přímo do krmiva, nanášet na pokožku nebo užívat ve formě doplňků stravy [74; 93]. Ovšem kvůli vysokému obsahu MCT hrozí riziko příbytku váhy a všech zdravotních problémů, které s ní souvisejí, jako kardiovaskulární onemocnění [102; 103]. Proto se u psů kokosový olej využívá spíše k zevnímu použití. Často se používá k hydrataci kůže, zmírnění zánětů a pro své antibakteriální a protiplísňové vlastnosti. Je možné ho aplikovat i na polštářky tlapek, pro jejich lepší hydrataci a redukci šupinatění [93; 94; 97; 98]. Vzhledem k přítomnosti středně dlouhých mastných kyselin má také repelentní účinek a odpuzuje tak například komáry, klíšťata nebo blechy [104]. Ovšem je nutné dbát na použité množství. Při nadměrném požitém množství může dojít k podráždění pokožky nebo k vyvolání alergické reakce [93].

1.2.4 Doplnky stravy na bázi řas

Řasy jsou vodní organismy, které žijí ve sladké nebo mořské vodě. Mohou být jednobuněčné (mikrořasy nebo fytoplankton) nebo mnohobuněčné (makrořasy). Řasy jsou důležitým zdrojem bílkovin, esenciálních mastných kyselin (ω -3 a ω -6), vitamínů, minerálů a antioxidantů. Mají vysokou nutriční hodnotu a nízký obsah kalorií. Obsahují velké množství jódu, zinku a mědi a 10krát více minerálů než zelenina. Mohou pomoci při střevních potížích, kožních problémech a problémech se štítnou žlázou [105; 106].

1.2.4.1 Spirulina

Spirulina je modrozelená mikrořasa bohatá na bílkoviny a antioxidanty, stimuluje imunitní systém a má protizánětlivé účinky [105]. Může obsahovat 60–70 % bílkovin, což z ní činí bohatý zdroj aminokyselin pro udržení svalové hmoty. Obsahuje také značné množství vitamínů B (včetně analogů B12), beta-karotenu (prekurzoru vitamínu A), vitamínu K a minerálů (např. železo, hořčík, jod). Spirulina mimo jiné obsahuje fykocyanin, modrý pigment s antioxidačními a protizánětlivými vlastnostmi, a kyselinu gama-linolenovou, která podporuje zdraví kůže a srsti. Spirulina je také bohatá na chlorofyl, který může napomáhat detoxikaci, a polysacharidy, které mohou stimulovat imunitní funkce. Je velmi šetrná k zažívacímu traktu, neobsahuje mnoho vlákniny, takže je snadno stravitelná a může podporovat zdravý mikrobiom

[107; 108; 109]. Kromě pomoci s metabolismem a problémy se štítnou žlázou pomáhají také psům s artritidou nebo srdečními chorobami [105].

Obsah GLA a vitamínů ve spirulině přispívá k lesklejší srsti a redukci suché, svědivé kůže. Zároveň má protizánětlivé účinky [107].

1.2.4.2 Chlorella

Chlorella (*Chlorella vulgaris*) je zelená sladkovodní mikrořasa, která obsahuje velké množství chlorofylu, který má přirozené antibiotické účinky a je známý pro své detoxikační schopnosti. Obsahuje asi 50–60 % bílkovin, různé vitamíny (zejména vitamín A, vitamín C a vitamíny skupiny B) a minerály (jako železo a zinek) [105; 107].

Chlorella se často používá jako detoxikační prostředek. Dokáže vázat těžké kovy a chemikálie ve střevech, brání jejich vstřebávání a napomáhá jejich vylučování. To může být užitečné pro psy, kteří absolvovali lékařský zákrok, který zanechává rezidua. Má také protizánětlivé účinky [107; 110].

1.2.4.3 Kelpa

Kelpa je druh hnědé mořské řasy bohatý na živiny. Obsahuje vysoké množství jodu, nezbytného pro funkci štítné žlázy, dále vitamíny A, B, C, D, E, K, minerály jako vápník, železo, selen, hořčík, zinek, aminokyseliny a antioxidanty (např. karotenoidy, flavonoidy, fucoidan) [111; 112].

Jód je pro psy velmi důležitý. Mají velmi aktivní metabolismus štítné žlázy a potřebují jód v dostatečném množství, mnohem vyšším než lidé. V případě, že nemají ve stravě dostatek jódu, může u zvířat vzniknout syndrom zvaný All-Meat-Syndrom, alergie na maso savců, a v dlouhodobém horizontu mohou dosáhnout hypotyreózy, snížené funkce štítné žlázy [105].

1.2.5 Komerční doplňky stravy pro zvířata

V posledních letech doplňky stravy pro psy už nejsou jenom opatření při nemoci, ale součástí každodenní péče. Největší podíl mají přípravky na podporu kloubů, kůže a srsti, následované multivitaminy a probiotiky. Stále více se také používají uklidňující doplňky, například s CBD či přírodními adaptogeny (přírodními látkami, které zvyšují odolnost organismu proti stresovým faktorům, ať už fyzickým nebo psychickým) a produkty cílené na specifické potřeby starších psů, jako je podpora imunity nebo kognitivních funkcí. Z hlediska forem dominují měkké žvýkácí tablety a tzv. soft chews, což jsou měkké žvýkácí pamlsky obsahující konkrétní aktivní látky. Na popularitě získávají i prášky mísitelné s krmivem. Významným trendem je orientace na přírodní složení, tzv. clean-label produkty, tedy doplňky

bez umělých aditiv, často s rostlinnými výtažky či ω -3 mastnými kyselinami z mořských řas [113; 114; 115].

1.3 Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou monokarboxylové kyseliny s hydrofobním většinou nerozvětveným alkylovým řetězcem dlouhým od 4 do 24 uhlíků. V Tabulce 1 jsou uvedeny mastné kyseliny rostlinného i živočišného původu [116; 117].

Fyzikálně-chemické vlastnosti MK jsou výrazně ovlivněny délkou uhlíkového řetězce a přítomností dvojných či trojných vazeb. V organismu se mohou vyskytovat buď ve volné formě, nebo jako součásti komplexních lipidů, přičemž jejich forma závisí na konkrétní struktuře. Kyseliny s řetězcem delším, než deset uhlíků se obvykle nacházejí vázané v lipidech, protože volné formy s dlouhým řetězcem mohou díky své vysoké povrchové aktivitě narušovat buněčné membrány [117; 118; 119; 120].

MK mají amfipatický charakter, jejich molekuly obsahují hydrofilní karboxylovou skupinu a hydrofobní uhlíkový řetězec, díky čemuž jsou MK se středně dlouhým až dlouhým řetězcem dobře rozpustné v nepolárních rozpouštědlech, ale málo rozpustné ve vodě [120].

V lidském těle plní MK řadu nezastupitelných funkcí. Jsou nedílnou součástí všech tuků, a tedy i procesů spojených s metabolismem lipidů. MK přijaté z potravy představují významný zdroj energie a podílejí se na tvorbě tukové tkáně i na transportu energie ve formě triacylglycerolů. Dále jsou strukturální součástí fosfolipidů buněčných membrán, kde zejména polynenasycené mastné kyseliny ovlivňují aktivitu enzymů navázaných na membrány. Kromě toho působí jako prekurzory signálních molekul a biologicky aktivních látek, například prostaglandinů, které se účastní hormonální regulace a procesů srážení krve [119].

MK lze rozdělit na nasycené a nenasycené, podle přítomnosti dvojných vazeb na alkylovém řetězci. Nasycenými mastnými kyselinami jsou například kyselina palmitová nebo stearová. Nenasycené MK obsahují jednu nebo více dvojných vazeb na alkylovém řetězci. Mezi nenasycené kyseliny patří například kyselina olejová nebo linolová [116; 117; 118].

Dále lze kyseliny rozdělit podle esenciality. Esenciální mastné kyseliny jsou pro organismus nepostradatelné a je nutné je přijímat v potravě nebo pomocí doplňků. Neesenciální mastné kyseliny je organismus schopný syntetizovat a není tedy nutné je přijímat ve stravě [55; 116; 117].

Mastné kyseliny se vyskytují v *cis* a *trans* izomerii. Většina nenasycených mastných kyselin se vyskytuje v *cis* izomerii. Tato konfigurace je důležitá pro prostorové uspořádání lipidů v buněčných membránách. Mastné kyseliny v *cis* konfiguraci zaujímají více prostoru

a činí buněčnou membránu fluidnější. Nenasycené mastné kyseliny v *trans* konfiguraci nacházejících se v potravinách jsou spojovány se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních chorob a s cukrovkou (*diabetes mellitus*) [116; 117].

Tabulka 1: Přehled mastných kyselin [116; 117]

Název kyseliny	Počet uhlíků	Počet dvojných vazeb	Poloha dvojných vazeb	Délka řetězce
Máselná	4	0		Krátký řetězec
Valerová	5	0		
Kapronová	6	0		
Kaprylová	8	0		Středně dlouhý řetězec
Kaprinová	10	0		
Laurová	12	0		Dlouhý řetězec
Myristová	14	0		
Palmitová	16	0		
Stearová	18	0		
Olejová	18	1	9	
Linolová	18	2	9, 12	
Alfa-linolenová	18	3	9, 12, 15	
Gama-linolenová	18	3	6, 9, 12	
Arachidová	20	0		Velmi dlouhý řetězec
Arachidonová	20	4	5, 8, 11, 14	
Eikosapentaenová	20	5	5, 8, 11, 14, 17	
Behenová	22	0		
Eruková	22	1	13	
Dokosahexaenová	22	6	4, 7, 10, 13, 16, 19	
Lignocerová	24	0		
Nervonová	24	1	15	

Mastné kyseliny mají široké spektrum komerčních využití. Používají se například nejen při výrobě mnoha potravinářských produktů, ale také v mýdlech, čisticích prostředcích a kosmetice. Mýdla jsou sodné a draselné soli mastných kyselin. Některé produkty pro péči o pleť obsahují mastné kyseliny, které pomáhají udržovat zdravý vzhled a funkci pokožky [118].

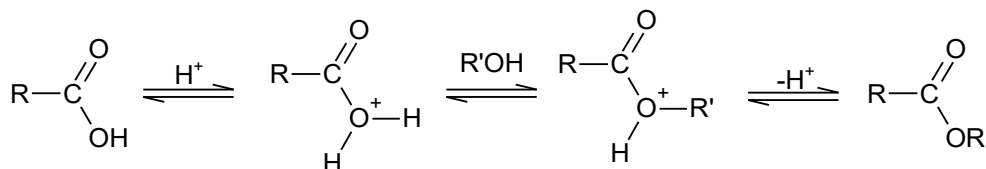
1.3.1 Stanovení mastných kyselin

Mastné kyseliny se stanovují nejčastěji pomocí techniky plynové chromatografie (GC) spojené buď s plamenově-ionizačním detektorem (FID) nebo hmotnostní spektrometrií (MS). Samotnému stanovení ovšem musí předcházet úprava vzorků olejů, derivatizace. Mastné kyseliny se běžně derivatizují za vzniku methylesterů mastných kyselin (FAME) nebo silyl derivátů [121; 122; 123].

1.3.1.1 Esterifikace

Jedním z možných způsobů úpravy vzorků olejů pro analýzu pomocí plynové chromatografie je esterifikace MK. Tyto esterifikace mohou být buď kyselé nebo bazicky katalyzované [123].

Jako derivatizační činidlo se běžně používá methanol a jako katalyzátor se používá například kyselina chlorovodíková (HCl), acetylchlorid (CH₃COCl), kyselina sírová (H₂SO₄) a trifluorid boritý (BF₃). Tyto reaktanty vstupují do reakce jako katalyzátory a zároveň vytváří kyselé prostředí a tím aktivují karboxylovou skupinu MK [123; 124].

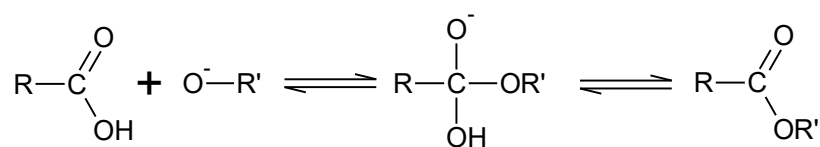


Obrázek 7: Rovnice kyselě katalyzované esterifikace MK

Derivatizace za katalýzy HCl je jednou z nejběžněji používaných metod analýzy mastných kyselin, a to díky své jednoduchosti. Ke vzorku se přidá roztok methanolu s HCl a roztok se po určitou dobu zahřívá. Při použití tohoto postupu však může být nutné před derivatizací přidat druhé rozpouštědlo [125]. Při použití metody derivatizace za katalýzy acetylchloridem se acetylchlorid přidá do methanolického roztoku vzorku a vzorek je zahříván při teplotě 95–100 °C po dobu 60 minut. Po derivatizaci se vzorky neutralizují a FAME se extrahují organickým rozpouštědlem pro další GC analýzu [126]. Při použití metody derivatizace acetylchloridem je třeba zvážit některé potenciální problémy. Konkrétně tato

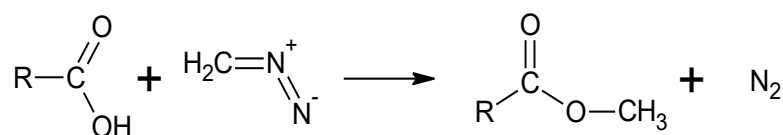
reakce je exotermická a některé PUFA jsou relativně nestabilní při vysokých teplotách, což může vést k nepřesným výsledkům kvantifikace [127]. Metoda derivatizace katalyzované pomocí H_2SO_4 je široce používána pro analýzu mastných kyselin v biologických vzorcích, ovšem protože H_2SO_4 je silné oxidační činidlo, tato metoda se nedoporučuje pro analýzu PUFA. Derivatizační metoda katalyzovaná BF_3 se používá pro analýzu mastných kyselin různých biologických vzorků. Derivatizace s BF_3 se provádí přidáním směsi BF_3 -methanol a zahřátím na 80–100 °C po dobu 45–60 minut. Nakonec se FAME extrahují organickým rozpouštědlem a analyzují pomocí GC [120; 123; 124; 128].

Dalším způsobem esterifikace MK je derivatizace 0,5–2M methanolickým roztokem methanolátu sodného (NaOCH_3) nebo draselného (KOCH_3). Tato derivatizace je rychlá, jednoduchá a používá se při ní méně agresivní činidla [124]. Obvykle se ke vzorku přidá 0,5M NaOCH_3 v bezvodém methanolu a roztok se nechá reagovat při teplotě 45 °C po dobu 5 minut. Poté se roztok neutralizuje pomocí 15% NaHSO_4 . Nakonec se FAME extrahují organickým rozpouštědlem a analyzují pomocí GC. Hydroxid draselný (KOH) lze také použít v základních derivačních metodách. Postup je jednoduchý a reakční doba je krátká. Při použití KOH se ke vzorku přidá 2M metanolový KOH a směs se inkubuje při pokojové teplotě nebo se zahřeje na 50 °C na několik minut pro derivatizaci MK. Poté se přidá bisulfát sodný a horní organická vrstva se odebere a analyzuje pomocí GC [123; 128].



Obrázek 8: Rovnice bazicky katalyzované esterifikace MK

Methylestery mastných kyselin lze připravit i s pomocí diazometanu. Diazometan rychle reaguje s MK za vzniku FAME. Reakce však není okamžitá, pokud není přítomno malé množství methanolu jako katalyzátoru. Ovšem při derivatizaci MK pomocí diazometanu se doporučuje postupovat v minimálním potřebném měřítku a vzniklé FAME ihned analyzovat. Diazometan je žlutý toxický a výbušný plyn a při jeho přípravě i používání je třeba postupovat s velkou opatrností, zejména je třeba se vyvarovat přístrojům s broušenými skleněnými spoji a kontaktu se silným světlem [124].

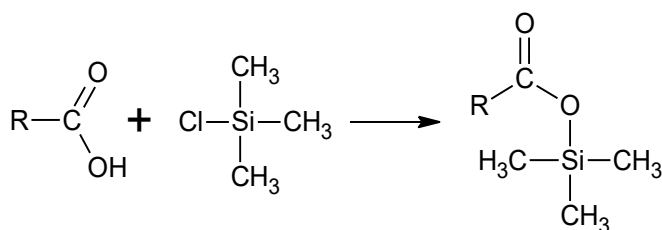


Obrázek 9: Rovnice esterifikace MK diazomethanem

1.3.1.2 Silylace

Dalším způsobem derivatizace je vznik silyl derivátů, kdy se aktivní vodík v karboxylové skupině MK nahradí silylovou skupinou. Obvykle se používá přebytek silylačního činidla v bezvodém rozpouštědle a derivatizace často probíhá za mírného zahřátí nebo v inertní atmosféře v uzavřených nádobách. Tyto silyl deriváty jsou stabilnější při vyšších teplotách. Nejčastěji používaná silylační činidla jsou trimethylchlorsilan, hexamethyldisilazan nebo hexamethyldisiloxan [129; 130; 131].

Silylace MK se běžně neprovádí, protože silyl deriváty jsou hygroskopické, náchylné na čistotu činidel a činidla jsou dražší a toxičtější [132].



Obrázek 10: Rovnice silylace MK trimethylchlorsilanem

1.4 Silice

Silice jsou přírodní směsi těkavých organických látek, které se nacházejí v různých částech rostlin, nejčastěji v listech, květech, plodech, kůře, kořenech nebo pryskyřicích. Jsou zodpovědné za charakteristickou vůni rostlin (např. máta, levandule, tymián, rozmarýn, eukalyptus) a mají i významnou biologickou aktivitu (např. antimikrobiální, repelentní, antioxidační účinky) [133; 134; 135].

Silice nejsou jednotlivé látky, ale komplexní směsi desítek až stovek různých sloučenin. Nejčastěji obsahují, terpeny a terpenoidy (např. limonen, pinen, linalool, menthol, geraniol, thymol), fenolické sloučeniny (např. eugenol, karvakrol) a aldehydy, ketony, estery, alkoholy (např. citronellal, menthon, borneol) Tyto sloučeniny jsou těkavé a lipofilní, takže se snadno odpařují a rozpouštějí v tucích. Rostliny silice produkují jako sekundární metabolity, tedy látky, které nejsou nezbytné pro jejich přežití, ale zvyšují jejich šance na růst v přírodě. Jejich

vlastnostmi může být ochrana proti hmyzu, houbám a bakteriím, přilákání opylovačů díky vůni, omezení růstu konkurenčních rostlin (allelopatie) nebo snížení ztrát vody [135].

Vzhledem k vůni a účinkům, mají silice široké využití, například ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu (masti, parfémy, aromaterapeutické a masážní oleje), v potravinářství jako ochucovadla či konzervační látky nebo v zemědělství jako přírodní pesticidy a repelenty [133].

1.4.1 Stanovení silic

Silice se stanovují pomocí techniky plynové chromatografie spojené buď s plamenově-ionizačním detektorem nebo hmotnostní spektrometrií. Nejdříve je ale potřeba silice extrahovat z matrice vzorku. Mezi nejpoužívanější metody extrakce silic patří mikroextrakce tuhou fází (SPME), superkritická fluidní extrakce (SFE) nebo destilace vodní parou.

1.4.1.1 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází je založena na rovnovážné adsorpci analytů z matrice vzorku na tenkou polymerní vrstvu sorbentu (nejčastěji polydimethylsiloxanu) nanesenou na křemenném vláknu, které je připevněno ke speciální jehle. Existují dva typy této extrakce: přímá SPME (DI-SPME) a headspace SPME (HS-SPME). Při přímé SPME je vlákno ponořeno přímo do kapalného vzorku. Při HS-SPME je nejprve vzorek zahříván, aby došlo k odpaření analytu z matrice. Teprve poté je vlákno vloženo nad vzorek do prostoru naplněného parami analytu. Poté, co se látky z matrice naváží na sorbent, je vlákno vloženo do dávkovače plynového chromatografu, kde se ohřeje a adsorbované látky se teplem desorbují a následně analyzují. [136; 137]

1.4.1.2 Superkritická fluidní extrakce

Dalším způsobem extrakce silic je superkritická fluidní extrakce. Jedná se o účinnou metodu pro izolaci těkavých sloučenin z komplexních přírodních matric. Extrakce se provádí tekutinou v nadkritickém stavu, kdy její vlastnosti leží mezi kapalinou a plynem. Tato tekutina má hustotu podobnou kapalině, viskozitu podobnou plynu a difúzní schopnost mezi kapalinou a plynem. Má vyšší difúzní schopnost a nižší viskozitu než kapalně rozpouštědlo, funguje tedy mnohem lépe než kapalně rozpouštědlo jako extrahující činidlo a mobilní fáze při extrakci a chromatografii. V SFE se jako extrakční činidlo používá převážně oxid uhličitý, kvůli jeho nízké kritické teplotě (31 °C) a nízkému kritickému tlaku (7,38 MPa), zanedbatelné toxicitě, nehořlavosti a nízké reaktivitě. Analýza probíhá tak, že se vzorek vloží do extrakční cely, kterou proudí nadkritická tekutina. Ta protéká skrz materiál a rozpouští cílené látky. Směs poté

vstupuje do separační kolony, kde se tlak sníží a tím přejde oxid uhličitý do plynného stavu a oddělí se od extraktu [120; 138; 139; 140].

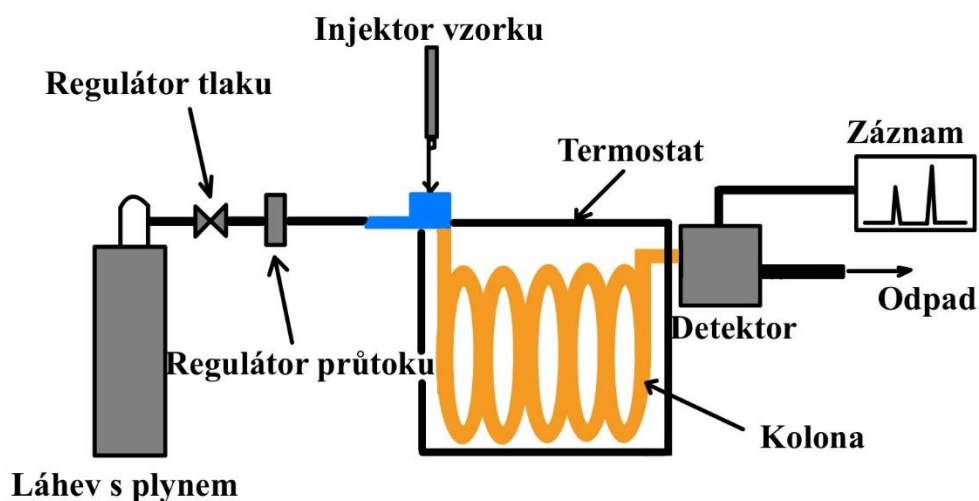
1.4.1.3 Destilace vodní parou

Destilace vodní parou je metoda, která slouží k oddělení těkavých látek, které nejsou ve vodě rozpustné, ale nejsou stabilní při vysoké teplotě a při klasické destilaci by se rozložily [141; 142].

Postup destilace vodní parou je podobný jako u klasické destilace. Látka, která se má destilovat, se umístí do varné baňky. V oddělené nádobě se vyvíjí vodní pára, která se pak vede do baňky s destilovanou směsí. Jelikož celkový tlak nad dvěma vzájemně nemísitelnými kapalinami je součtem jejich parciálních tlaků, při zahřívání tento součet tlaků dosáhne dříve rovnováhy s okolním tlakem vzduchu, a proto je teplota varu směsi nižší než teploty varu jednotlivých čistých složek. Směs par se poté vede do chladiče, kde se ochlazuje a zkapalní. Získaný destilát se po kondenzaci oddělí [142; 143; 144].

1.5 Plynová chromatografie

Jednou z nejpoužívanějších analytických technik pro stanovení MK je plynová chromatografie. Tato metoda je určena k separaci a stanovení směsi plynů. Směs plynů se rozděluje mezi dvě fáze, mobilní (pohyblivou) a stacionární (nepohyblivou). Jako mobilní fáze se využívá inertní plyn, např. dusík, helium, argon nebo vodík. Tento plyn slouží pouze jako nosný, se vzorkem nijak nereaguje [145; 146].



Obrázek 11: Schéma plynového chromatografu [147]

Separace probíhá následovně. Vzorek je nastříknut přes septum do vyhřívaného prostoru, který je vyhříván na teplotu o přibližně 50 °C vyšší, než je teplota varu vzorku. Zde se vzorek odpaří a v plynné fázi je unášen nosným plynem do kolony, která je umístěna v termostatovaném prostoru, díky čemuž lze regulovat teplotu plynu pomocí předem nastaveného teplotního gradientu. Složky vzorku se sorbují na povrch stacionární fáze a následně desorbují stále proudícím tokem nosného plynu. Nosný plyn unáší směs až na konec kolony a poté na detektor, který monitoruje složení proudu plynu, který vystupuje z kolony a nese separované složky [146; 148].

V současnosti se v plynové chromatografii používají převážně kapilární kolony, které díky své vysoké účinnosti a rychlosti separace téměř zcela nahradily dříve běžné náplňové kolony. Kapilární kolony jsou vyráběny z křemenného skla, jehož povrch je zpevněn ochrannou vrstvou polyimidu, aby byla kolona ohebná a lépe se s ní manipulovalo. Jejich průměr se obvykle pohybuje v rozmezí 0,1–0,75 mm a délky dosahují až několik desítek metrů [148; 149].

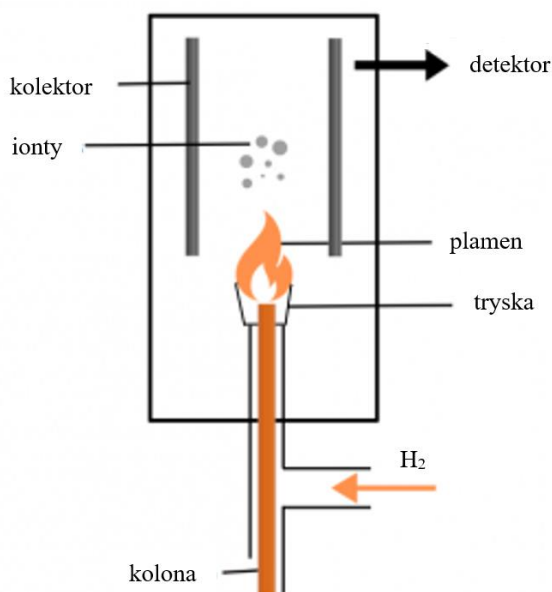
Na vnitřní stěně kapilární kolony je nanese stacionární fáze ve formě tenké vrstvy polymeru. Podle způsobu její aplikace se rozlišují dva základní typy kolon: open tubular wall-coated (WCOT), kdy je stacionární fáze tvořena tenkou vrstvou kapaliny nanesenou přímo na stěnu kolony a porous layer/support-coated open tubular (PLOT/SCOT), kdy je stacionární fáze impregnována do porézní vrstvy nosící materiál na vnitřní straně kolony. Pokud je stacionární fáze pevná látka, jedná se o systém plyn-pevná látka (GSC). Separace je založena na adsorpčním mechanismu, při němž se jednotlivé složky vzorku liší schopností adsorbovat se na povrchu stacionární fáze. Pokud je stacionární fází kapalina, je to systém plyn-kapalina a jedná se o absorpční mechanismus (GLC). V tomto systému probíhá separace na základě těkavosti a rozdílné rozpustnosti analytů ve stacionární a mobilní fázi [148; 149].

Jedním z klíčových faktorů ovlivňujících separaci látek v plynové chromatografii je polarita stacionární fáze. Retenční chování analytů je do značné míry určováno vztahovou podobností polarit mezi analyzovanou sloučeninou a stacionární fází. Pokud mají obě složky podobnou polaritu, dochází k silnější interakci analytu se stacionární fází, což vede k delším retenčním časům. Naopak, pokud je polarita odlišná, sloučenina se se stacionární fází méně váže a kolonou prochází rychleji. Typ stacionární fáze je tedy volen s ohledem na polaritu analyzovaných látek. Málo polární stacionární fáze jsou většinou založeny na methylpolysiloxanech, do jejichž struktury se pro zvýšení polarit přidává určité množství fenylových skupin. Polárnější stacionární fáze mohou obsahovat například kyselinu nitrotereftalovou vázanou polyethylenglykolem nebo kyanopropylfenylové skupiny

v kombinaci s methylpolysiloxanem. Kyanopropylové kolony se používají pro analýzu FAME, jelikož umožňují přesné rozlišení podle délky řetězce, počtu dvojných vazeb, včetně separace *cis/trans* izomerů a polohových izomerů dvojných vazeb [128; 150; 151].

Detektory používané v plynové chromatografii jsou plamenově-ionizační, tepelně-vodivostní, termo-ionizační, detektor elektronového záchytu a hmotnostní detektor.

Velmi často používaným detektorem ve spojení s GC je plamenově-ionizační detektor. FID je citlivý a má široký dynamický rozsah, díky čemuž je vhodný pro detekci široké škály organických sloučenin. Princip fungování detektoru spočívá ve spalení a následné ionizaci eluátu z kolony plamenem vodík-vzduch. Nad plamenem je umístěn plamenový ionizační detektor s kolektorovou elektrodou. Ionty a elektrony vznikající během spalování jsou přitahovány ke kolektorové elektrodě působením elektrického proudu. Po dosažení kolektorové elektrody vytvářejí proud úměrný koncentraci zionizované organické látky [152].



Obrázek 12: Schéma plamenově-ionizačního detektoru [152]

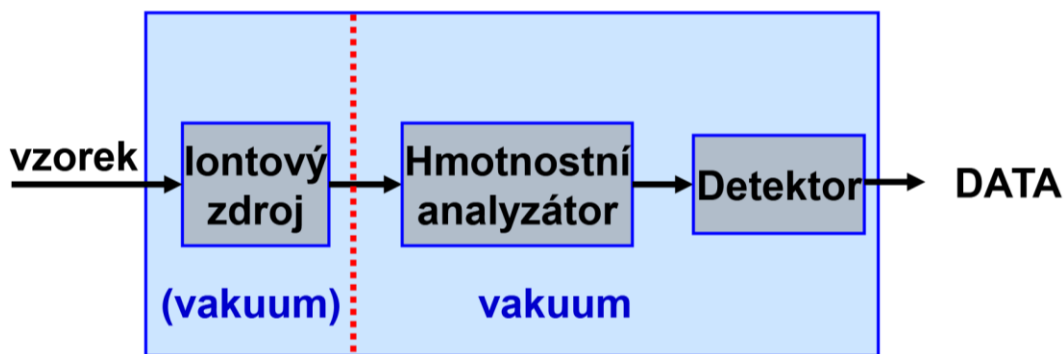
1.5.1 Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií

Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC/MS) je v dnešní době naprosto standardní záležitostí. Výhodou spojení GC/MS je možnost v jedné analýze zároveň separovat, identifikovat a kvantifikovat složitou směs látek [153].

1.5.1.1 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometr umožňuje analýzu sloučenin v různých vzorcích, jako je krev, tkáň, potraviny, zemina aj. převedením molekul na ionty, rozlišení těchto iontů podle poměru hmotnosti ku náboji (m/z) a následnému záznamu intenzit jednotlivých iontů [154].

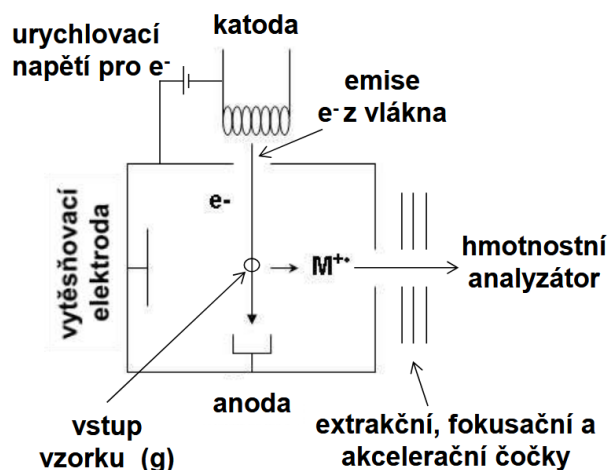
Hmotnostní spektrometr se skládá ze tří částí: z iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru a detektoru. Celý systém je umístěn ve vakuové komoře, která zajišťuje, aby ionty mohly volně procházet přístrojem bez nežádoucích interakcí s molekulami vzduchu [154].



Obrázek 13: Schéma hmotnostního spektrometru [154]

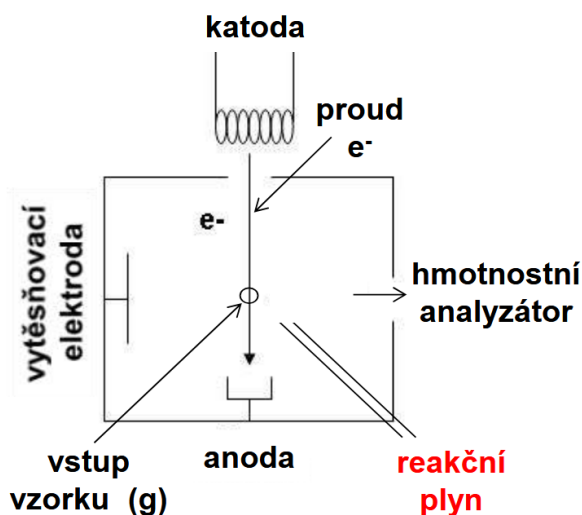
Vzorek vstupuje do iontového zdroje, kde dochází k jeho ionizaci. Nejčastější ionizační technikou ve spojení s CG je elektronová ionizace (EI) nebo chemická ionizace (CI) [153].

EI patří mezi tvrdé ionizační techniky a probíhá za vysokého vakua. Během procesu ionizace získává molekula značné množství vnitřní energie, což vede k fragmentaci molekulového iontu na menší části. Princip spočívá v tom, že žhavené vlákno (obvykle z wolframu nebo rhenia) funguje jako katoda a emituje elektrony, které přitahovány směrem k anodě. V reakčním prostoru dochází ke srážkám mezi těmito elektrony a molekulami plynného vzorku, čímž vzniká radikálový kationt ($M^{\cdot+}$). Tento iont bývá zpravidla nestabilní a dále se rozpadá na menší fragmentové ionty, které nesou informace o struktuře původní molekuly. Tyto fragmenty jsou pomocí vytěšňovací elektrody vypuzeny z iontového zdroje do hmotnostního analyzátoru. Výhodou použití EI je možnost přímého porovnání naměřených spekter s knihovnou referenčních spekter látek, což umožňuje jednoznačnou identifikaci látek při použití urychlovacího napětí 70 eV [154; 155].



Obrázek 14: Schéma elektronové ionizace [155]

CI je měkká ionizační technika velmi podobná předchozí EI. Rozdíl je v tom, že do reakčního prostoru je vháněn reakční plyn, většinou methan, který je ionizován jako první. Ionizovaný reakční plyn následně pomocí ion-molekulárních reakcí ionizuje molekuly analytu [155].

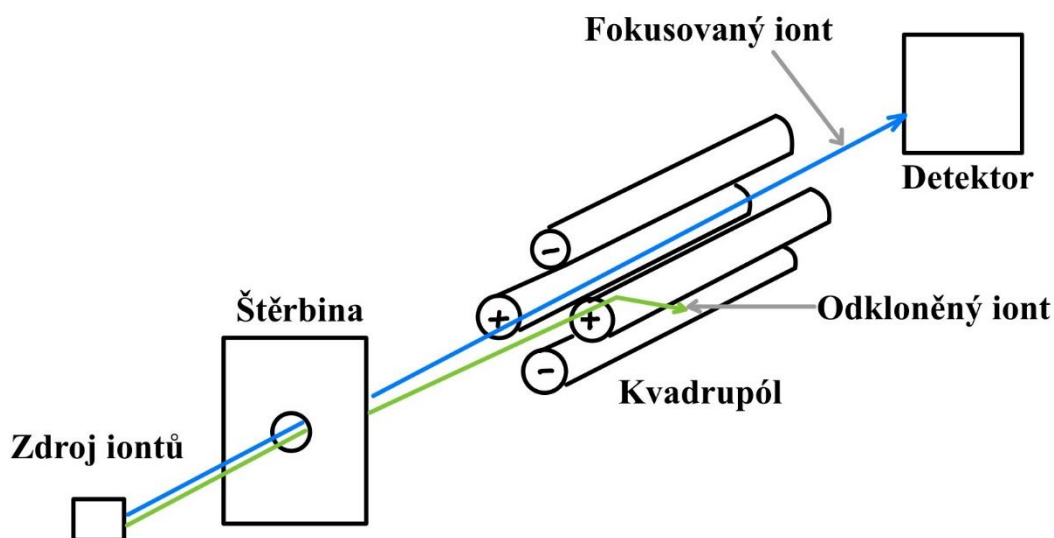


Obrázek 15: Schéma chemické ionizace [155]

Ionizovaný vzorek dále proudí do hmotnostního analyzátoru, kde jsou ionty látky děleny podle jejich poměru hmotnosti ku náboji (m/z) za vysokého vakua. Jako hmotnostní analyzátor se využívá kvadrupólový analyzátor (popřípadě trojitý kvadrupól), iontová past nebo analyzátor doby letu. Je možné také použít orbitrap nebo cyklotronovou rezonanci s Fourierovou transformací (FTICR) [154; 156].

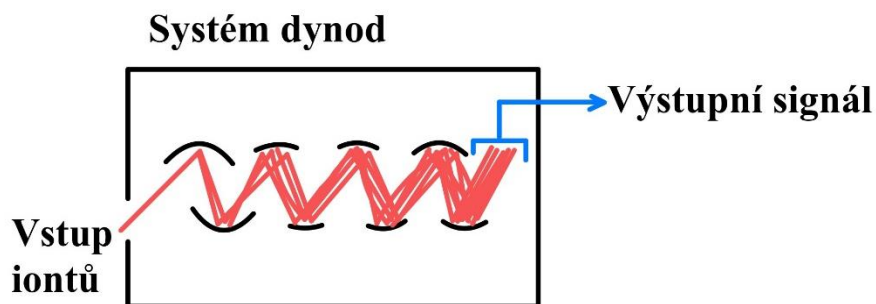
Kvadrupólový analyzátor se skládá ze čtyř kovových tyčí ze stejného materiálu kruhového průřezu a jsou dlouhé 20–30 cm. Na dvě protilehlé tyče je vloženo kladné

stejnosemné napětí, na zbyvajících dvě napětí záporné. Zároveň je na všechny tyče superponováno vysokofrekvenční střídavé napětí. Ionť přivedený do analyzátoru začne oscilovat a díky kombinaci střídavého a stejnosměrného napětí je průchod umožněn pouze iontům se stabilními oscilacemi. Kvadrupól je velmi jednoduchý a relativně levný hmotnostní analyzátor vhodný pro spojení se separačními technikami [154; 156].



Obrázek 16: Schéma kvadrupólového analyzátoru [147]

Ionťy po rozdělení v hmotnostním analyzátoru dopadají na detektor, pokud není detektorem samotný hmotnostní analyzátor, jako je orbitrap nebo FTICR. Nejběžnějším detektorem v MS je elektronový násobič, což je systém dynod, který funguje jako elektronový multiplikátor sekundárních elektronů. Každá dynoda násobí počet elektronů, což vede k zesílení signálu až o osm řádů [153].



Obrázek 17: Schéma elektronového násobiče [147]

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Přístroje, zařízení a pomůcky

- Analytické váhy HR-120 (ADInstruments, Dunedin, Nový Zéland)
- Aurosampler COMBI PAL (CTC Analytics AG, Zwingen, Švýcarsko)
- Plynový chromatograf GC-2010 s hmotnostním spektrometrem MS-QP2010 Plus (Shimadzu, Kjóto, Japonsko)
- Plynový chromatograf GC-2010 s plamenově-ionizačním detektorem (Shimadzu, Kjóto, Japonsko)
- Termoblok Evaterm (Labicom, Olomouc, Česká republika)
- Automatické pipety 100–1000 μ l, 1–5 ml a 1–10 ml
- Mikrostříkačka 10 μ l
- Kádinky různých velikostí
- Nálevka
- Odměrné baňky 100 ml a 500 ml
- Odměrné válce 50 ml a 100 ml
- Vialky 20 ml, 50 ml a 100 ml pro uchování vzorků a extraktů
- Vialky 2 ml pro analýzu GC-MS, víčka se septem
- Vialky 20 ml pro analýzu HS-SPME GC-MS, víčka se septem

2.2 Chemikálie

- Hexan $\geq 99,9$ % (Honeywell, Charlotte, USA)
- Methanolát sodný (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- Chlorid sodný (Lach-ner, Neratovice, Česká republika)
- Methanol $\geq 99,0$ % (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- Standard uhlovodíků C8 – C40 (CPAchem, Stara Zagora, Bulharsko)

2.3 Analyzované oleje a veterinární doplňky stravy

- Lososový olej (Fitmin, Žamberk, Česká republika)
- Lněný olej (Ölmühle Lehen GmbH, Gutenbergstr, Německo)
- Sezamový olej (Ölmühle Lehen GmbH, Gutenbergstr, Německo)
- Řepkový olej (Kaufland, Neckarsulm, Německo)
- Olivový olej (Le Tre Colonne, Giovinazzo, Itálie)

- Slunečnicový olej (Fabio, Jičín, Česká republika)
- Ořechový olej z vlašských ořechů (McEnnedy, Allemagne, Německo)
- Pistáciový olej (Lidl, Neckarsulm, Německo)
- Hroznový olej (JCCoimbra, Setúbal, Portugalsko)
- Konopný olej (AnimALL, Ostrava, Česká republika)
- Pupalkový olej (Dr. Max Pharma s.r.o., Praha, Česká republika)
- Krillový olej (Amix Nutrition, Manchester, UK)
- Veterinární doplňky stravy – vzorek 1, 2 (viz Tabulka 2)

Tabulka 2: Analyzované veterinární doplňky stravy

Veterinární doplněk stravy	Určení	Deklarované složení	Deklarované účinky
Vzorek 1	Psi	Kyselina linolová, gama-linolenová, triglycerid kyseliny arachidové, kyselina olejová, palmitová, stearová, vitamíny A, D3, E	Podpora růstu, zbarvení a síly srsti, zvýšená odolnost proti nemocem
Vzorek 2	Psi a kočky	Olej z pupalky dvouleté, krillový olej, vitamín A, B5, zinek, biotin	Pomoc při potížích s kůží a srstí způsobených hormonální nebo metabolickou nerovnováhou, pomáhá při alergiích

2.4 Analýza profilu mastných kyselin

2.4.1 Derivatizace vzorků olejů a veterinárních doplňků stravy

Ke vzorku o navážce 100 mg oleje bylo přidáno 12 ml 0,25M methanolického roztoku methanolátu sodného. Se vzorkem bylo třepáno po dobu 1 minuty, poté byl vložen do termobloku, kde byl temperován na 60 °C po dobu 20 minut a každých 5 minut bylo se vzorkem třepáno. Po vychladnutí bylo ke vzorku přidáno 8 ml nasyceného vodného roztoku NaCl a 8 ml hexanu. Po protřepání a oddělení fází byla horní organická vrstva odebrána do 2ml vialky opatřené víčkem se septem pro analýzu pomocí GC/MS. Společně se vzorky byla analyzována homologická řada alkanů za totožných separačních podmínek.

2.4.2 GC/MS podmínky separace

Pro analýzu FAME byla použita chromatografická kolona Zebron ZB-5HT Inferno (Phenomenex, Kalifornie, USA), jejíž stacionární fáze obsahovala 5 % fenyl- a 95 % dimethylpolysiloxanu. Podmínky pro GC/MS analýzu jsou uvedeny v Tabulce 3.

Tabulka 3: Podmínky pro GC/MS analýzu extraktů s obsahem FAME

Podmínky separace pro GC	
Kolona	ZB-5HT Inferno 30 m × 0,25 mm × 0,25 mm
Nosný plyn	Helium
Lineární rychlost nosného plynu	30 cm/s
Teplota nástřiku	250 °C
Teplotní program	70 °C, 7 °C/min do 320 °C
Dávkovaný objem	1 µl
Splitovací poměr	1:10
Hmotnostní spektrometr	
Ionizace	Elektronová ionizace (70 eV)
Frekvence skenování	2000 skenů za sekundu
Teplota iontového zdroje	250 °C
Teplota interface	280 °C
Rozsah skenů (m/z)	33–500

2.5 Analýza profilu těkavých látek

2.5.1 Extrakce těkavých látek

Pro analýzu těkavých látek vzorků bylo naváženo vždy 100 mg daného oleje či doplňku stravy do 20ml vialky opatřené víčkem se septem pro HS-SPME analýzu. Extrakce probíhala na šedém vlákne se sorbentem divinylbenzen/Carboxen-polydimethylsiloxan (Supelco,

Bellefonte, USA). Doba inkubace vzorku byla 20 minut za teploty 170 °C. Extrakce těkavých látek probíhala za teploty 170 °C po dobu 60 minut.

2.5.2 GC/MS podmínky separace

Pro analýzu profilu těkavých látek byla použita chromatografická kolona Zebron ZB-5HT Inferno. Podmínky separace pro GC/MS analýzu jsou popsány v Tabulce 4.

Tabulka 4: Podmínky pro GC/MS analýzu těkavých látek

Podmínky separace pro GC	
Kolona	ZB-5HT Inferno 30 m × 0,25 mm × 0,25 mm
Nosný plyn	Helium
Lineární rychlost nosného plynu	30 cm/s
Teplota nástřiku	250 °C
Teplotní program	35 °C (3 min), 2 °C/min do 250 °C, 250 °C (5 minut)
Splitovací poměr	1:10
Hmotnostní spektrometr	
Ionizace	Elektronová ionizace (70 eV)
Frekvence skenování	2000 skenů za sekundu
Teplota iontového zdroje	200 °C
Teplota interface	200 °C
Rozsah skenů (m/z)	33–500

2.6 Zpracování experimentálních dat

Výsledné chromatogramy naměřené pomocí GC/MS byly zpracovány pomocí softwaru GCMS Postrun Analysis (Shimadzu, Kjóto, Japonsko) a poté vyhodnoceny pomocí knihoven hmotnostních spekter (NIST 14 a FFNSC2) a porovnáním naměřených retenčních indexů a retenčních indexů z literárních zdrojů databáze NIST WebBook Chemie (<https://webbook.nist.gov/chemistry/>).

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

Úkolem diplomové práce bylo analyzovat profil mastných kyselin s cílem určit, na jakém olejovém základu jsou jednotlivé suplementy postaveny.

Součástí porovnávání vzorků suplementů s jednotlivými oleji bylo také měření profilů těkavých sloučenin. Tato měření ovšem nesloužila k identifikaci jednotlivých těkavých složek, ale jako porovnávací metoda, zda naměřená data u olejů budou odpovídat profilu těkavých látek některého doplňku stravy, tzn. jako případná podpora vyhodnocení profilů mastných kyselin.

3.1 Analýza profilů MK

3.1.1 Optimalizace analýzy profilů mastných kyselin

Postup derivatizace byl převzat z diplomové práce Ing. Michaely Merclové [157] a na základě naměřených dat modifikován. Byla připravena řada 4 vzorků slunečnicového oleje s různým množstvím přísad (viz Tabulka 5) s cílem dosáhnout vyšší intenzity píků a účinnější derivatizace. Ke 100 mg vzorku oleje byl přidán methanolický roztok 0,25M methanolátu sodného. Se vzorkem bylo třepáno po dobu 1 minuty, poté byl vložen do termobloku, kde byl temperován na 60 °C po dobu 20 minut a každých 5 minut bylo se vzorkem třepáno. Po vychladnutí byl ke vzorku přidán nasycený vodný roztok NaCl a hexan. Po protřepání a oddělení fází byla horní organická fáze odebrána k analýze pomocí GC/FID. Podmínky pro analýzu v systému GC/FID jsou uvedeny v Tabulce 6.

Tabulka 5: Přehled přidávaného množství činidel

Číslo pokusu	Methanolát sodný [ml]	NaCl [ml]	Hexan [ml]
1	6	4	8
2	12	4	8
3	12	8	8
4	12	8	12

Tabulka 6: GC/FID podmínky separace

Kolona	HP-5MS 30 m × 0,25 mm × 0,25 mm
Nosný plyn	Helium
Lineární rychlost nosného plynu	30 cm/s
Teplota nástřiku	250 °C
Teplotní program	70 °C (3 min), 10 °C/min do 160 °C, 5 °C/min do 200 °C, 2 °C/min do 250 °C
Dávkovaný objem	1 µl
Splitovací poměr	1:100
Teplota detektoru	300 °C

Po porovnání intenzit píků mastných kyseliny při různých poměrech přidávaných činidel methanolátu sodného, NaCl a hexanu bylo zjištěno, že intenzita píku methylesterů MK se zvyšuje s přidávaným množstvím derivatizačních činidel. Proto bylo pro derivatizaci zvoleno dvojnásobné množství methanolátu sodného i chloridu sodného než v původním postupu. Množství hexanu zůstalo nezměněno, jelikož při jeho navýšení docházelo ke zředění vzorku, a tedy i ke snižování intenzity píků.

3.1.2 Analýza profilů mastných kyselin v olejích a doplňcích stravy

Methylestery mastných kyselin byly analyzovány pomocí GC/MS a identifikovány na základě retenčních indexů a knihoven spekter. Retenční indexy FAME byly vypočítány pomocí retenčních charakteristik homologické řady alkanů analyzovaných za stejných separačních podmínek. Jednotlivé FAME olejů i vzorků doplňků stravy jsou uvedené v Tabulce 7 a 8. Vzorce a názvy MK jsou vypsané v Tabulce 9. Procentuální zastoupení FAME v jednotlivých extraktech bylo vypočítáno z celkového množství FAME identifikovaných v chromatogramu daného oleje. Chromatogramy profilů MK olejů jsou uvedeny v Přílohách 1–12.

Tabulka 7: Obsah FAME v jednotlivých olejích a doplňcích stravy – 1. část (“n.d.” – nebyl detekován)

FAME	RI	Lososový	Lněný	Sezamový	Řepkový	Olivový	Slunečnicový	Ořechový
C8:0	1124	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C10:0	1325	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C12:0	1525	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C14:1 ^{Δ9}	1714	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C14:0	1726	2,62 ± 0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C16:4 ^{Δ6,9,12,15}	1890	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C16:3 ^{Δ6,9,12}	1896	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C16:1 ^{Δ9}	1908	3,15 ± 0,06	n.d.	n.d.	n.d.	1,28 ± 0,00	n.d.	n.d.
C16:0	1930	11,79 ± 0,09	11,88 ± 0,01	13,15 ± 0,25	5,99 ± 0,06	17,98 ± 0,13	13,33 ± 0,36	13,21 ± 0,02
C18:3 ^{Δ6,9,12}	2083	0,10 ± 0,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:4 ^{Δ6,9,12,15}	2090	0,88 ± 0,19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C18:2 ^{Δ9,12}	2098	15,43 ± 0,31	23,52 ± 0,02	38,98 ± 0,09	23,62 ± 0,33	13,25 ± 0,05	45,84 ± 0,40	44,14 ± 0,25
C18:1 ^{Δ9}	2104	36,09 ± 0,87	55,44 ± 0,04	37,92 ± 0,40	62,64 ± 0,46	59,48 ± 0,11	28,70 ± 0,12	32,67 ± 0,04
C18:1 ^{Δ11}	2110	3,44 ± 0,13	n.d.	1,45 ± 0,07	3,81 ± 0,03	3,52 ± 0,10	2,48 ± 0,10	n.d.
C18:3 ^{Δ9,12,15}	2120	n.d.	n.d.	n.d.	0,80 ± 0,04	n.d.	n.d.	3,77 ± 0,05
C18:0	2128	3,47 ± 0,02	7,50 ± 0,01	7,46 ± 0,18	1,51 ± 0,03	3,35 ± 0,06	7,07 ± 0,02	5,36 ± 0,09
C20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	2275	3,07 ± 0,03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:4 ^{Δ8,11,14,17}	2291	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:2 ^{Δ11,14}	2301	1,78 ± 0,16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

FAME	RI	Lososový	Lněný	Sezamový	Řepkový	Olivový	Slunečnicový	Ořechový
C20:1 ^{Δ11}	2305	6,05 ± 0,04	0,29 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,98 ± 0,01	3,35 ± 0,06	0,45 ± 0,01	0,53 ± 0,01
C20:0	2330	0,46 ± 0,03	0,42 ± 0,000	0,70 ± 0,01	0,44 ± 0,14	0,51 ± 0,00	0,62 ± 0,01	0,29 ± 0,03
C22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	2462	5,88 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:5 ^{Δ7,10,13,16,19}	2475	1,69 ± 0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:1 ^{Δ13}	2505	3,94 ± 0,01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C22:0	2531	0,16 ± 0,02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,17 ± 0,02	n.d.

Tabulka 8: Obsah FAME v jednotlivých olejích a doplňcích stravy – 2. část (“n.d.” – nebyl detekován)

FAME	RI	Pistáciový	Hroznový	Konopný	Krillový	Pupalkový	Vzorek 1	Vzorek 2
C8:0	1124	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,35 ± 0,11	n.d.	5,19 ± 0,04
C10:0	1325	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,64 ± 0,04	n.d.	2,32 ± 0,01
C12:0	1525	n.d.	n.d.	n.d.	0,22 ± 0,00	n.d.	n.d.	n.d.
C14:1 ^{Δ9}	1714	n.d.	n.d.	n.d.	0,18 ± 0,01	n.d.	n.d.	n.d.
C14:0	1726	n.d.	n.d.	n.d.	7,60 ± 0,23	n.d.	n.d.	1,56 ± 0,01
C16:4 ^{Δ6,9,12,15}	1890	n.d.	n.d.	n.d.	1,52 ± 0,01	n.d.	n.d.	0,50 ± 0,01
C16:3 ^{Δ6,9,12}	1896	n.d.	n.d.	n.d.	0,60 ± 0,01	n.d.	n.d.	n.d.
C16:1 ^{Δ9}	1908	2,39 ± 0,01	n.d.	n.d.	7,90 ± 0,06	n.d.	n.d.	1,35 ± 0,01
C16:0	1930	16,54 ± 0,13	9,64 ± 0,07	9,66 ± 0,11	16,37 ± 0,34	9,07 ± 0,10	8,75 ± 0,11	11,10 ± 0,17
C18:3 ^{Δ6,9,12}	2083	n.d.	0,42 ± 0,01	6,06 ± 0,04	0,49 ± 0,01	11,53 ± 0,10	11,51 ± 0,07	8,34 ± 0,09
C18:4 ^{Δ6,9,12,15}	2090	n.d.	n.d.	2,44 ± 0,01	4,76 ± 0,11	n.d.	n.d.	0,67 ± 0,06
C18:2 ^{Δ9,12}	2098	30,98 ± 0,86	54,52 ± 0,27	47,89 ± 0,08	3,47 ± 0,01	58,21 ± 0,26	66,59 ± 0,63	45,83 ± 0,33
C18:1 ^{Δ9}	2104	40,06 ± 0,52	29,01 ± 0,27	29,59 ± 0,13	9,26 ± 0,11	9,67 ± 0,07	9,26 ± 0,35	9,61 ± 0,05
C18:1 ^{Δ11}	2110	6,30 ± 0,17	1,46 ± 0,04	n.d.	8,05 ± 0,07	0,88 ± 0,04	0,58 ± 0,28	1,08 ± 0,01
C18:3 ^{Δ9,12,15}	2120	0,45 ± 0,00	n.d.	0,25 ± 0,07	0,59 ± 0,01	n.d.	n.d.	n.d.
C18:0	2128	2,22 ± 0,02	4,02 ± 0,06	2,52 ± 0,03	2,80 ± 0,06	2,78 ± 0,11	2,68 ± 0,14	2,97 ± 0,02
C20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	2275	n.d.	n.d.	n.d.	17,81 ± 0,09	n.d.	n.d.	3,17 ± 0,02
C20:4 ^{Δ8,11,14,17}	2291	n.d.	n.d.	n.d.	1,60 ± 0,05	n.d.	n.d.	n.d.
C20:2 ^{Δ11,14}	2301	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

FAME	RI	Pistáciový	Hroznový	Konopný	Krillový	Pupalkový	Vzorek 1	Vzorek 2
C20:1 ^{Δ11}	2305	0,62 ± 0,01	0,16 ± 0,11	0,34 ± 0,01	1,77 ± 0,02	0,44 ± 0,02	n.d.	n.d.
C20:0	2330	0,29 ± 0,00	0,25 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,56 ± 0,06	0,57 ± 0,07
C22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	2462	n.d.	n.d.	n.d.	10,33 ± 0,23	n.d.	n.d.	3,09 ± 0,06
C22:5 ^{Δ7,10,13,16,19}	2475	n.d.	n.d.	n.d.	1,76 ± 0,17	n.d.	n.d.	2,74 ± 0,13
C22:1 ^{Δ13}	2505	n.d.	n.d.	n.d.	2,66 ± 0,13	n.d.	n.d.	n.d.
C22:0	2531	n.d.	n.d.	n.d.	0,14 ± 0,04	n.d.	n.d.	n.d.

Tabulka 9: Vzorce a názvy MK

Vzorec	Název kyseliny
C8:0	Kyselina kaprylová
C10:0	Kyselina kaprinová
C12:0	Kyselina laurová
C14:1 ^{Δ9}	Kyselina myristoleová
C14:0	Kyselina myristová
C16:4 ^{Δ6,9,12,15}	Kyselina 6,9,12,15-hexadekateraenová
C16:3 ^{Δ6,9,12}	Kyselina 3,9,12-hexadekatrienová
C16:1 ^{Δ9}	Kyselina palmitolejová
C16:0	Kyselina palmitová
C18:3 ^{Δ6,9,12}	Kyselina gama-linolenová
C18:4 ^{Δ6,9,12,15}	Kyselina stearidonová
C18:2 ^{Δ9,12}	Kyselina linolová
C18:1 ^{Δ9}	Kyselina olejová
C18:1 ^{Δ11}	Kyselina 11-oktadekaenová
C18:3 ^{Δ9,12,15}	Kyselina alfa-linolenová
C18:0	Kyselina stearová
C20:5 ^{Δ5,8,11,14,17}	Kyselina 5,8,11,14,17-eikosapentaenová
C20:4 ^{Δ8,11,14,17}	Kyselina 8,11,14,17-eikosatetraenová
C20:2 ^{Δ11,14}	Kyselina 11,14-eikosadienová
C20:1 ^{Δ11}	Kyselina 11-eikosaenová
C20:0	Kyselina arachidová
C22:6 ^{Δ4,7,10,13,16,19}	Kyselina 4,7,10,13,16,19-dokosahexaenová
C22:5 ^{Δ7,10,13,16,19}	Kyselina 7,10,13,16,19-dokosapentaenová
C22:1 ^{Δ13}	Kyselina eruková
C22:0	Kyselina behenová

3.1.2.1 Analýza profilů MK ve vzorku 1

Měřením bylo zjištěno, že vzorek 1 obsahuje kyselinu palmitovou, gama-linolenovou, linolovou, olejovou, kyselinu stearovou a kyselinu arachidovou. V Tabulce 2 je popsán deklarovaný obsah MK výrobcem. Analýza prokázala, že tyto kyseliny se skutečně vyskytují ve vzorku doplňku stravy (viz Příloha 13).

Jak již bylo zmíněno, vzorek 1 obsahoval kyselinu gama-linolenovou. Z předchozích analýz olejů bylo zjištěno, že tuto kyselinu obsahují ve větším množství pouze dva oleje, a to konopný a pupalkový olej. Složení těchto dvou olejů vůči vzorku 1 bylo tedy porovnáno (viz Tabulka 10). Chromatogramy porovnávající oba oleje se vzorkem 1 jsou uvedeny v Přílohách 14–16.

Tabulka 10: Porovnání obsahu FAME v doplňku stravy 1 s pupalkovým a konopným olejem (“n.d.” – nebyl detekován)

FAME	Vzorek 1 [%]	Pupalkový olej [%]	Konopný olej [%]
C8:0	n.d.	4,35 ± 0,11	n.d.
C10:0	n.d.	2,64 ± 0,04	n.d.
C16:0	8,75 ± 0,11	9,07 ± 0,10	9,66 ± 0,11
C18:3 Δ6,9,12	11,51 ± 0,07	11,53 ± 0,10	6,06 ± 0,04
C18:4 Δ6,9,12,15	n.d.	n.d.	2,44 ± 0,01
C18:2 Δ9,12	66,59 ± 0,63	58,21 ± 0,26	47,89 ± 0,08
C18:1 Δ9	9,26 ± 0,35	9,67 ± 0,07	29,59 ± 0,13
C18:1 Δ11	0,58 ± 0,28	0,88 ± 0,04	n.d.
C18:3 Δ9,12,15	n.d.	n.d.	0,25 ± 0,07
C18:0	2,68 ± 0,14	2,78 ± 0,11	2,52 ± 0,03
C20:1 Δ11	n.d.	0,44 ± 0,02	0,34 ± 0,01
C20:0	0,56 ± 0,06	0,45 ± 0,01	0,95 ± 0,01

Bylo zjištěno, že složením a poměry MK vzorku 1 nejvíce odpovídá pupalkový olej. Odchylkou pupalkového oleje od vzorku 1 byl obsah kyseliny kaprylové a kaprinové. Tyto kyseliny mají příznivé antibakteriální a antifungální účinky, proto je jejich přítomnost v pupalkovém oleji ku prospěchu [158; 159]. Z porovnání vzorku 1 s konopným olejem je patrné, že obsah jednotlivých mastných kyselin sice odpovídá kvalitativně, ovšem poměr jednotlivých kyselin je odlišný. Konopný olej obsahuje méně kyseliny gama-linolenové, a naopak více kyseliny olejové.

Pupalkový olej byl tedy zvolen jako náhrada vzorku 1 a byl podáván jako doplněk stravy pro porovnání, zda bude mít stejný účinek jako samotný vzorek 1 (viz kapitola 3.3).

3.1.2.2 Analýza profilů MK ve vzorku 2

Doplněk stravy 2 byl zderivatizován a vzniklé FAME byly analyzovány pomocí GC/MS. Chromatogram s vyznačenými FAME je uveden v Příloze 17. Analýza prokázala, že vzorek je složen převážně z pupalkového oleje, jelikož chromatogram naměřeného suplementu je velmi podobný právě pupalkovému oleji, obsahuje kyselinu kaprylovou a kaprinovou, které se vyskytují pouze v pupalkovém oleji. Doplněk stravy obsahuje i kyseliny EPA a DHA, které v pupalkovém oleji obsaženy nejsou. Je tedy pravděpodobné, že tento suplement obsahuje převážně pupalkový olej s drobným přídavkem krillového oleje, jak deklaruje výrobce. Podle výrobce vzorek 2 obsahuje i vitamín A, stejně jako vzorek 1. Tento suplement je tedy vhodnou alternativou k doplňku stravy 1 (viz Příloha 18–20).

3.2 Analýza těkavých látek olejů

3.2.1 Porovnání vláken pro HS-SPME GC/MS

Pro analýzu těkavých složek olejů pomocí HS-SPME bylo třeba vybrat vhodný typ vlákna. Porovnávalo bylo červené vlákno se sorbentem Carboxen-polydimethylsiloxan (Supelco, Bellefonte, USA) a šedé vlákno se sorbentem divinybenzen/Carboxen-polydimethylsiloxan (Supelco, Bellefonte, USA).

Byl připraven směsný vzorek obsahující 2 g lososového, lněného, sezamového, řepkového, olivového, slunečnicového, ořechového a pistáciového oleje. Pro extrakci na červeném i šedém vlákne bylo vždy připraveno pět vzorků s navázkou 100 mg směsného vzorku a pět vzorků s navázkou 250 mg směsného vzorku. Tyto vzorky byly inkubovány 20 minut za teploty extrakce. Extrakce vzorků probíhala za teploty 90, 120, 140, 170 a 200 °C po dobu 60 minut. Navážky a teploty extrakce jsou přehledněji popsány v Tabulce 11. Pro separaci byla zvolena kolona Zebron ZB-5HT inferno. Podmínky separace pro GC/MS jsou

popsány v Tabulce 12. Teplota nástřiku pro extrakci při 90 a 120 °C byla 200 °C a pro extrakci při 140, 170 a 200 °C byla 250 °C.

Tabulka 11: Navážky a teploty extrakce směsného vzorku

Navážka směsného vzorku [mg]	Teplota extrakce [°C]	Teplota nástřiku [°C]
100	90	200
	120	
	140	250
	170	
	200	
250	90	200
	120	
	140	250
	170	
	200	

Tabulka 12: Podmínky pro HS-SPME GC/MS analýzu

Podmínky separace pro GC	
Kolona	ZB-5HT inferno 30 m × 0,25 mm × 0,25 mm
Nosný plyn	Helium
Lineární rychlost nosného plynu	30 cm/s
Teplotní program	35 °C (3 min), 2 °C/min do 250 °C, 250 °C (5 minut)
Splitovací poměr	1:10
Hmotnostní spektrometr	
Ionizace	Elektronová ionizace (70 eV)
Frekvence skenování	2000 skenů za sekundu
Teplota iontového zdroje	200 °C
Teplota interface	200 °C
Rozsah skenů (m/z)	33–500

Z naměřených chromatogramů pro jednotlivá vlákna bylo zjištěno, že se zvyšující se teplotou extrakce roste intenzita a počet píků, tedy i účinnost extrakce. Nejvyšší intenzity a počtu píků bylo dosaženo při teplotách extrakce 170 a 200 °C pomocí obou vláken (viz Příloha 21–22).

Chromatogramy stejných teplot i navážek vzorků extrahovaných pomocí červeného a šedého vlákna byly vůči sobě porovnány. Z názorného chromatogramu směsného oleje extrahovaného za teploty 170 °C (viz Příloha 23) je patrné, že účinnější a vhodnější extrakce probíhala pomocí šedého vlákna. Jako ideálnější navážka pro extrakci na šedém vlákne a následnou analýzu byla zvolena navážka 100 mg (viz Příloha 24).

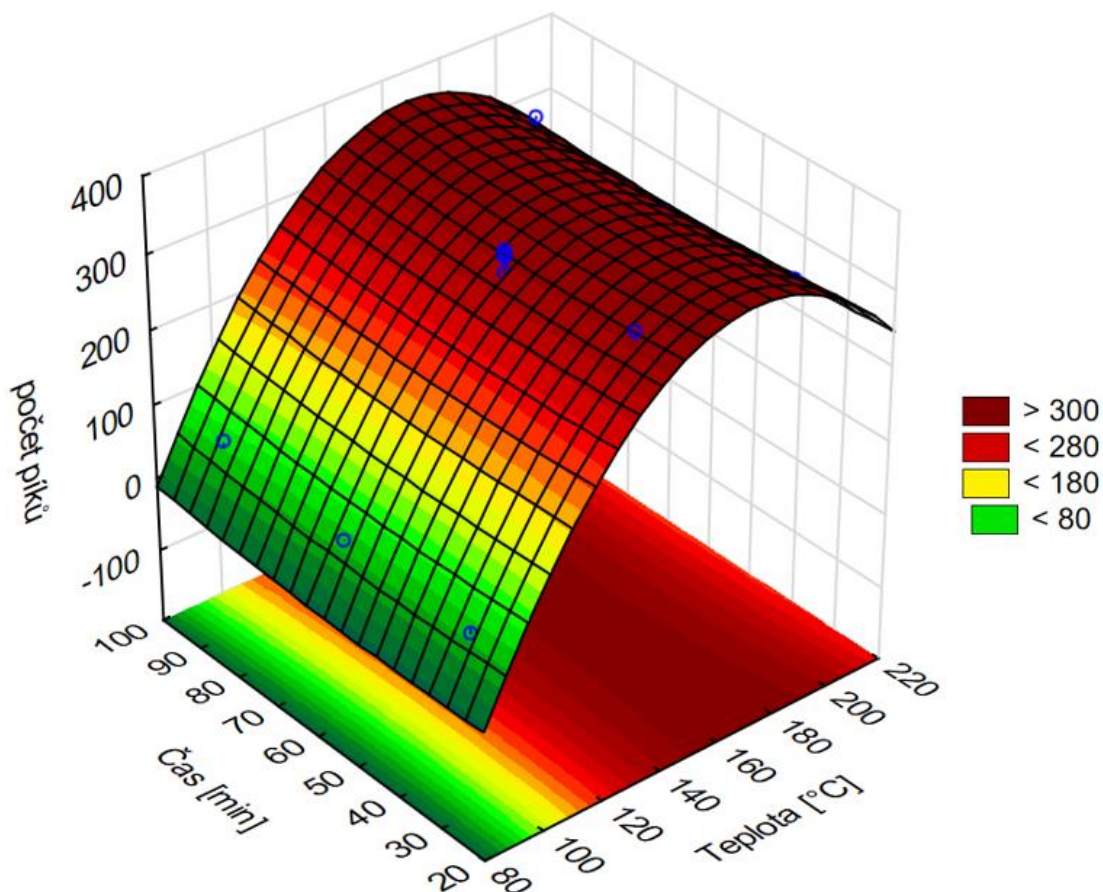
3.2.2 Optimalizace extrakčních podmínek pro HS-SPME GC/MS

Pro optimalizaci extrakčních podmínek na šedém vlákne byl použit návrh experimentu pomocí programu Statistika. Byla vytvořena sada dvanácti vzorků extrahovaných v rozsahu teplot 90–200 °C a časů 30–90 minut. Navažováno bylo vždy 100 mg směsného vzorku. Podrobný popis extrakčních podmínek je popsán v Tabulce 13. Podmínky separace pro GC/MS

jsou popsány v Tabulce 4 s výjimkou teploty nástřiku. Teplota nástřiku pro extrakci při 90 °C byla 200 °C a pro extrakci při 145 a 200 °C byla 250 °C. Jako nezávislé proměnné byla zvolena teplota a čas, jako závislou proměnnou byl zvolen počet píků, jejichž naměřené hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 13. Naměřená data byla vyhodnocena metodou odezvové plochy. Byl vytvořen model závislosti naměřených dat na extrakčních parametrech, jehož grafické zobrazení je na Obrázku 18. Analýzou ANOVA byly získány regresní koeficienty funkce popisující uvedenou grafickou závislost a také *p*- a *F*-hodnoty určující statistickou významnost jednotlivých parametrů (viz Tabulka 14).

Tabulka 13: Počty píků při daných extrakčních podmínkách

Teplota [°C]	Čas [min]	Naměřený počet píků	Modelem predikovaný počet píků
90	30	44	52
	60	50	51
	90	70	61
145	30	337	326
	60	335	329
	60	307	329
	60	327	329
	60	330	329
	90	307	329
200	30	312	315
	60	298	308
	90	325	312



Obrázek 18: 3D proložený model závislosti počtu píků na teplotě a času extrakce

Tabulka 14: Faktorová analýza ANOVA (1 – teplota, 2 – čas)

Faktor	Regresní koeficient	Směrodatná odchylka	F	p
a ₀	-1005,3429	76,80296	-	-
a ₁	16,1157	0,98262	393,2138	0,000001
a ₁₁	-0,0471	0,00321	214,9165	0,000006
a ₂	-0,3977	1,48756	0,0536	0,824638
a ₂₂	0,0061	0,01080	0,3202	0,592028
a ₁₂	-0,0020	0,00481	0,1677	0,696394

Hodnota parametru p pro teplotu je nižší než 0,05 a hodnota parametru F je vysoká. Teplota je tedy statisticky významný parametr. Čas extrakce statisticky významný není, a to ani v kombinaci s teplotou. Hodnota parametru R^2 je 0,99056. Model tedy vysvětluje 99,056 % veškeré variability v naměřených datech, tedy v naměřeném počtu píků. Upravená hodnota R^2 je 0,98269. Tento parametr udává prediktivní sílu modelu. Vzhledem k jeho vysoké hodnotě má model silnou prediktivní schopnost a je použitelný pro nová, neviděná data.

Tabulka 15: Kritické hodnoty pro extrakci podle počtu píků

Faktor	Minimální hodnota	Kritické hodnoty	Maximální hodnota
Teplota	90,00000	169,8002	200,0000
Doba	30,00000	59,9058	90,0000

Z výsledků statistické analýzy (viz Tabulka 15) byla zvolena optimální teplota extrakce 170 °C a doba extrakce 60 min.

3.2.3 Analýza profilů těkavých látek

Těkavé látky olejů byly extrahovány a analyzovány pomocí GC/MS. Tato analýza nesloužila k identifikaci látek, nýbrž k porovnání jednotlivých olejů doplňků stravy. Vůči vzorkům 1 a 2 byl porovnáván pupalkový a konopný olej, jelikož tyto dva oleje obsahovaly vyšší množství kyseliny gama-linolenové než ostatní oleje. Z chromatogramů (viz Příloha 25–28) je patrné, že profilu těkavých látek vzorků více odpovídá pupalkový olej.

3.3 Pozorování účinků veterinárních doplňků stravy

Suplement označený jako vzorek 1 byl podáván tříleté feně rasy Australského silky teriéra jménem Lhagalore Milky Way z důvodu jeho příznivého vedlejšího účinku, a to změny pigmentace čumáku, konkrétně jeho ztmavnutí. Vždy byla podávána jedna kapsle denně. Suplement byl podáván dlouhodobě po dobu roku a půl s vysazením v prosinci roku 2024, přičemž po jeho vysazení došlo ke ztrátě pigmentu a zesvětlení čumáku (viz Obrázek 19). V polovině srpna roku 2025 byl tento suplement opět podáván a to do 28. 9. 2025 (viz Obrázek 20), kdy byl vysazen a po týdnu byl nahrazen pupalkovým olejem ve formě kapslí. V čase po přerušení suplementace vzorkem 1 a před začátkem podávání pupalkového oleje nedošlo k výrazným změnám pigmentace čumáku. Pupalkový olej byl podáván po dobu dvou týdnů. V 13. den podávání pupalkového oleje začal čumák feny blednout a opět ztrácet pigment (viz Obrázek 23). Pupalkový olej byl tedy nahrazen suplementem označeným jako vzorek 2 ve

formě kapslí. Po dvou dnech čumák opět ztmavnul a od té doby nezměnil pigmentaci (viz Obrázek 24). Vzhledem k tomu, že této feně byly již dříve podávány různé oleje (lososový, olivový, lněný), ale žádný z nich neobsahoval kyselinu gama-linolenovou, je pravděpodobné, že tato kyselina může mít vliv na změnu pigmentace. Ovšem vzhledem k nižší účinnosti samotného pupalkového oleje, bude ke změně pigmentace potřeba ještě další sloučenina, a to např. z řady vitamínů. Konkrétně v analyzovaných doplňcích stravy je deklarovaný přídatek vitamínu A. Pupalkový olej obsahoval pouze vitamín E jako antioxidant, aby zabránil znehodnocení (oxidaci) oleje.

Je tedy pravděpodobné, že, aby se dosáhlo stejného účinku změny pigmentace, musí suplement obsahovat buď kombinaci GLA s vitamínem A nebo samotný vitamín A. Ovšem pro potvrzení této hypotézy by byly zapotřebí hloubkové krevní testy. Pro potvrzení přítomnosti a metabolismu účinných látek GLA by bylo zapotřebí stanovit plazmatický profil mastných kyselin a obsah vitamínu A a jeho metabolitů určit stanovením retinoidů v krevní plazmě, což už není předmětem diplomové práce. Zároveň se také může jednat o individuální reakci feny na vitamín A nebo na kombinaci vitamínu A s GLA.



Obrázek 19: Lhagalore Milky Way v dorosteneckém věku se světlým čumákem



Obrázek 20: Lhagalore Milky Way 28. 9. 2025; den přerušení suplementace vzorkem 1



Obrázek 21: Lhagalore Milky Way po týdenní suplementaci pupalkovým olejem



Obrázek 22: Lhagalore Milky Way po desetidenní suplementaci pupalkovým olejem



Obrázek 23: Lhagalore Milky Way 14. den suplementace pupalkovým olejem; čumák postupně ztrácí pigment



Obrázek 24: Lhagalore Milky Way po týdenní suplementaci doplňkem stravy označeným jako vzorek 2

ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce byla analýza profilů mastných kyselin vybraných olejů a veterinárních doplňků stravy ve formě FAME pomocí metody GC/MS. V rámci experimentální části byly zkoumány dva doplňky stravy. Analýzou bylo zjištěno, že oba vzorky obsahují kyselinu gama-linolenovou, která byla mezi analyzovanými oleji identifikována ve větším množství pouze v konopném a pupalkovém oleji. Porovnáním profilů mastných kyselin těchto olejů s profily vzorků 1 a 2 bylo určeno, že oba doplňky odpovídají profilu pupalkového oleje.

Tento závěr byl dále potvrzen analýzou těkavých látek olejů a doplňků stravy pomocí HS-SPME GC/MS, která rovněž prokázala shodu pupalkového oleje a doplňků stravy. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že pupalkový olej tvoří hlavní složku obou hodnocených veterinárních doplňků stravy.

Závěry analytické části byly následně testovány pozorováním účinků doplňků na feně Lhagalore Milky Way. Po přerušení suplementace vzorkem 1 a následném podávání samotného pupalkového oleje byla zaznamenána změna pigmentace čumáku, kdy 13. den suplementace pupalkovým olejem došlo k zesvětlení pigmentu. Po nahrazení pupalkového oleje doplňkem 2 došlo během dvou dnů k opětovnému ztmavnutí čumáku.

Vzhledem k tomu, že oba doplňky stravy obsahovaly vitamín A, zatím co pupalkový olej pouze vitamín E, lze předpokládat, že právě vitamín A, případně jeho synergické působení s kyselinou gama-linolenovou, má pozitivní vliv na pigmentaci čumáku.

Výsledky práce tak ukazují, že oba hodnocené veterinární doplňky stravy jsou založeny na pupalkovém oleji, jehož účinnost může být dále posílena přidavkem vitamínu A.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] FOŘT, P. Zdraví a potravní doplňky. V Praze: Ikar, 2005. ISBN 80-249-0612-0. Dostupné také z: <http://krameriusndk.nkp.cz/search/handle/uuid:1887eb90-e52b-11ef-8de1-5ef3fc9bb22f>
- [2] MACH, Ivan. Doplňky stravy: jaké si vybrat při sportu i v každodenním životě. Praha: Grada, 2012. Fitness, síla, kondice. ISBN 978-802-4743-530.
- [3] HANZLOVÁ, Jitka a Alžběta HANZLOVÁ. Používání potravinových doplňků v různých věkových skupinách. 2. konference Škola zdraví 21. 2006.
- [4] RUSSELL, Laura. What Are Dog Supplements and How Do They Work? *PetMD* [online]. 2023, 6. 9. 2023 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.petmd.com/dog/nutrition/what-are-dog-supplements-how-do-they-work>
- [5] 5 Types of Pet Supplements and What They Do. *Four Paws* [online]. [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.fourpaws.com/pets-101/health-and-wellness/5-types-of-pet-supplements-and-what-they-do>
- [6] KŘESALOVÁ, A. a L. ŠVIHÁLKOVÁ. Stres u psa: Jak ho zklidnit nejen na silvestra a jaký vliv má strava. *Granulejehlicka* [online]. 2025 [cit. 2025-10-31]. Dostupné z: <https://www.granulejehlicka.cz/blog/stres-u-psa--jak-ho-zklidnit-nejen-na-silvestra-a-jaky-vliv-ma-strava/>
- [7] LANDSBERG, Gary, Bill MILGRAM, Isabelle MOUGEOT, Stephanie KELLY a Christina DE RIVERA. Therapeutic effects of an alpha-casozepine and L-tryptophan supplemented diet on fear and anxiety in the cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. SAGE Publications, 2016, 2016-9-1, 19(6), 594-602. ISSN 1098-612X. Dostupné z: doi:10.1177/1098612X16669399
- [8] DODD, Colt. Dog Calming Treats: Uses and Alternatives. *American Kennel Club* [online]. 2024, 31. 7. 2024 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.akc.org/expert-advice/health/dog-calming-treats/>
- [9] MORRISON, Barri J. a Veronica HIGGS. CBD Oil for Dogs. *PetMD* [online]. 2023, 29. 11. 2023 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.petmd.com/dog/general-health/CBD-oil-for-dogs>

- [10] The 10 Best Supplements for Dogs. *ArticleCity* [online]. [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.articlecity.com/blog/the-10-best-supplements-for-dogs/>
- [11] GOLLAKNER, Rania. Fish Oil. *VCA animal hospitals* [online]. [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://vcahospitals.com/know-your-pet/fish-oil>
- [12] HENROTIN, Yves, Marc MARTY a Ali MOBASHERY. What is the current status of chondroitin sulfate and glucosamine for the treatment of knee osteoarthritis? *Maturitas*. 2014, 184-187. Dostupné také z: [https://www.maturitas.org/article/S0378-5122\(14\)00134-0/fulltext](https://www.maturitas.org/article/S0378-5122(14)00134-0/fulltext)
- [13] BHATHAL, Angel, Meredith SPRYSZAK, Christopher LOUIZOS a Grace FRANKEL. Glucosamine and chondroitin use in canines for osteoarthritis: A review. *Open Veterinary Journal*. ScopeMed, 2017, 2017-3-13, 7(1), 36. ISSN 2218-6050. Dostupné z: doi:10.4314/ovj.v7i1.6
- [14] Glucosamine. *Drugs.com* [online]. 2000 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.drugs.com/mtm/glucosamine.html>
- [15] Glucosamine Hydrochloride. *Internet Archive* [online]. 2019, 18. 6. 2019 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20200128054601/https://medlineplus.gov/druginfo/natural/747.html>
- [16] BAEURLE, S.A., M.G. KISELEV, E.S. MAKAROVA a E.A. NOGOVITSIN. Effect of the counterion behavior on the frictional–compressive properties of chondroitin sulfate solutions. *Polymer*. Elsevier BV, 2009, 50(7), 1805-1813. ISSN 0032-3861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2009.01.066
- [17] Glucosamine and Chondroitin for Osteoarthritis: What You Need To Know. *National Center of Complementary and Integrative Health* [online]. 2023 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.nccih.nih.gov/health/glucosamine-and-chondroitin-for-osteoarthritis-what-you-need-to-know>
- [18] EZAKI, Junko, Miyuki HASHIMOTO, Yu HOSOKAWA a Yoshiko ISHIMI. Assessment of safety and efficacy of methylsulfonylmethane on bone and knee joints in osteoarthritis animal model. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. Springer Science and Business Media, 2012, 2012-8-10, 31(1), 16-25. ISSN 0914-8779. Dostupné z: doi:10.1007/s00774-012-0378-9

- [19] BUTAWAN, Matthew, Rodney BENJAMIN a Richard BLOOMER. Methylsulfonylmethane: Applications and Safety of a Novel Dietary Supplement. *Nutrients*. MDPI, 2017, 2017-3-16, **9**(3), 290. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu9030290
- [20] ALAVIS™ MAXIMA. *ALAVIS™* [online]. [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.alavis-maxima.cz/content/4-o-nas>
- [21] ALAVIS™ MAXIMA Triple Blend Extra Silný. *ALAVIS™ MAXIMA* [online]. [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.alavis-maxima.cz/domu/20-triple-blend-extra-silny-8594191410288.html>
- [22] BARROSO, Carolina, António J. M. FONSECA a Ana R. J. CABRITA. Vitamins, Minerals and Phytonutrients as Modulators of Canine Immune Function: A Literature Review. *Veterinary Sciences*. MDPI, 2024, 2024-12-16, **11**(12), 655. ISSN 2306-7381. Dostupné z: doi:10.3390/vetsci11120655
- [23] YOUNESS, Rana A., Alyaa DAWOUD, Omar ELTAHTAWY a Mohamed A. FARAG. Fat-soluble vitamins: updated review of their role and orchestration in human nutrition throughout life cycle with sex differences. *Nutrition*. Springer Science and Business Media, 2022, 2022-9-5, **19**(1). ISSN 1743-7075. Dostupné z: doi:10.1186/s12986-022-00696-y
- [24] *Nutrient requirements of dogs and cats*. [Rev. ed.]. Washington, D.C.: National Academies Press, 2006. Animal nutrition series (Washington, D.C.). ISBN 978-030-9086-288.
- [25] CODNER, E. C. a C. D. THATCHER. *Nutritional management of skin disease*. 1993, 411-414, 416-419, 422-423. ISSN 0193-1903.
- [26] MARCHEGIANI, Andrea, Alessandro FRUGANTI, Andrea SPATERNA, et al. Impact of Nutritional Supplementation on Canine Dermatological Disorders. *Veterinary Sciences*. MDPI, 2020, 2020-4-3, **7**(2), 38. ISSN 2306-7381. Dostupné z: doi:10.3390/vetsci7020038
- [27] IHRKE, P. J. a M. H. GOLDSCHMIDT. Vitamin A-responsive dermatosis in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1983, 687-690.

- [28] WATSON, T. D.G. Diet and Skin Disease in Dogs and Cats. *The Journal of Nutrition*. Elsevier BV, 1998, **128**(12), S2783-S2789. ISSN 0022-3166. Dostupné z: doi:10.1093/jn/128.12.2783s
- [29] BORDA, Julius J. a Tongyu C. WIKRAMANAYAKE. Seborrheic Dermatitis and Dandruff: A Comprehensive Review. *Journal of Clinical and Investigative Dermatology*. Avens Publishing Group, 2015, **3**(2). ISSN 2373-1044. Dostupné z: doi:10.13188/2373-1044.1000019
- [30] LAM, Andrea T. H., Verena K. AFFOLTER, Catherine A. OUTERBRIDGE, Barbara GERICOTA a Stephen D. WHITE. Oral vitamin A as an adjunct treatment for canine sebaceous adenitis. *Veterinary Dermatology*. Wiley, 2011, 2011-5-20, **22**(4), 305-311. ISSN 0959-4493. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-3164.2010.00944.x
- [31] WHITE, Amelia. Nutritional influences in dermatological disorders. *Veterinary Practise News* [online]. 2021, 10. 8. 2021 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.veterinarypracticenews.com/allergies-august-2021/>
- [32] Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 7. Saunders, 2012. ISBN 9780323241939.
- [33] SHASTAK, Yauheni a Wolf PELLETIER. Pet Wellness and Vitamin A: A Narrative Overview. *Animals*. MDPI, 2024, 2024-3-25, **14**(7), 1000. ISSN 2076-2615. Dostupné z: doi:10.3390/ani14071000
- [34] CLARKE, K. E., E. A. HURST a R. J. MELLANBY. Vitamin D metabolism and disorders in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*. Wiley, 2021, 2021-7-29, **62**(11), 935-947. ISSN 0022-4510. Dostupné z: doi:10.1111/jsap.13401
- [35] WEIDNER, Nicole a Adronie VERBRUGGHE. Current knowledge of vitamin D in dogs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Informa UK Limited, 2016, 2016-5-12, **57**(18), 3850-3859. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2016.1171202
- [36] HAZEWINKEL, H. A. W. a M. A. TRYFONIDOU. Vitamin D3 metabolism in dogs. *Molecular and Cellular Endocrinology*. Elsevier BV, 2002, **197**(1-2), 23-33. ISSN 0303-7207. Dostupné z: doi:10.1016/s0303-7207(02)00275-7

- [37] PLEVNIK KAPUN, A., J. SALOBIR, A. LEVART, G. TAVČAR KALCHER, A. NEMEC SVETE a T. KOTNIK. Vitamin E supplementation in canine atopic dermatitis: improvement of clinical signs and effects on oxidative stress markers. *Veterinary Record*. Wiley, 2014, **175**(22), 560-560. ISSN 0042-4900. Dostupné z: doi:10.1136/vr.102547
- [38] GORCZYCA, D. Nutritional Status of Vegetarian Children. *Vegetarian and Plant-Based Diets in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2017, 529-547. ISBN 9780128039687. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-803968-7.00030-7
- [39] MARRIOTT, Bernadette P., Diane F. BIRT, Virginia A. STALLINGS a Allison A. YATES, ed. *Present knowledge in nutrition: basic nutrition and metabolism*. Eleventh edition. London: Academic press, an imprint of Elsevier, [2020]. ISBN 978-032-3661-621.
- [40] TURKELL, Andrew. Benefits of Biotin for Dogs. *Pranapets* [online]. 2024, 6. 8. 2024 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: https://www.pranapets.com/blogs/pet-health/benefits-of-biotin-for-dogs?_pos=1&_sid=066b296d6&_ss=r
- [41] WILSON, Debra R. Health Benefits of Biotin. *Healthline* [online]. 2019, 8. 3. 2019 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/health/the-benefits-of-biotin>
- [42] Biotin. *National Institute of Health* [online]. 2017, 8. 10. 2017 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Biotin-HealthProfessional/>
- [43] Biotin for Dogs: Key to a Shiny Coat and Healthy Skin. *Vetericyn* [online]. 2024, 10. 3. 2024 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: https://vetericyn.com/blog/biotin-for-dogs/?_gl=1*3zgal*_up*MQ.*_ga*NzUxNzE0OTE3LjE3NTYxMzYwMzE.*_ga_Q63RCG3TW2*czE3NTYxMzYwMjkkbzEkZzEkdDE3NTYxMzYwMzUkajU0JGwwJGgw
- [44] KEENAN, Joanne. Biotin: Does Your Dog Have A Deficiency? *Dogs Naturally* [online]. 2021, 11. 12. 2021 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.dogsnaturallymagazine.com/biotin-for-dogs-is-deficiency-a-risk-for-your-dog/>

- [45] Podpůrné doplňky stravy při alergiích a výpadcích srsti u psů: Pivovarské kvasnice a Biotin. *GROOMO* [online]. 2024, 9. 11. 2024 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: https://groomo.cz/blogs/vse-co-potrebuje-vedet-k-peci-o-psi-kuzi-a-srst/podpurne-doplanky-stravy-pri-alergiich-a-vypadcich-srsti-u-psu-pivovarske-kvasnice-a-biotin?_pos=1&_sid=fe96b054c&_ss=r
- [46] Rapeseed oil for dogs: Why this vegetable oil is a real all-rounder for the well-being of your four-legged friend. *Animally* [online]. 2025, 20. 1. 2025 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.annimally.nl/en/blogs/wirkstoffe-hund/rapsol-fur-hunde>
- [47] KIRBY, N. A., S. L. HESTER a J. E. BAUER. Dietary fats and the skin and coat of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. American Veterinary Medical Association (AVMA), 2007, 2007-6-1, **230**(11), 1641-1644. ISSN 0003-1488. Dostupné z: doi:10.2460/javma.230.11.1641
- [48] BURR, George O. a Mildred M. BURR. A NEW DEFICIENCY DISEASE PRODUCED BY THE RIGID EXCLUSION OF FAT FROM THE DIET. *Journal of Biological Chemistry*. Elsevier BV, 1929, **82**(2), 345-367. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1016/s0021-9258(20)78281-5
- [49] Omega-3 Fatty Acids. *National Institute of Health* [online]. 2018, 8. 3. 2018 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Omega3FattyAcids-HealthProfessional/>
- [50] ARFORD, K. Fish Oil for Dogs: What to Know. *American Kennel Club* [online]. 2024, 14. 6. 2024 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.akc.org/expert-advice/nutrition/fish-oil-for-dogs/>
- [51] SIMOPOULOS, Artemis P. The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine*. Frontiers Media, 2008, **233**(6), 674-688. ISSN 1535-3702. Dostupné z: doi:10.3181/0711-mr-311
- [52] MICK, L. Fish Oil for Dogs: Benefits, Dosage, and Vet Pick. *PetMD* [online]. 2025, 25. 6. 2025 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.petmd.com/dog/general-health/fish-oil-for-dogs>
- [53] HAMILTON, Alison. Topical Omega-3 Fatty Acids. *VCA Animal Hospital* [online]. [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://vcahospitals.com/know-your-pet/fatty-acids>

- [54] JONES, Peter J. H. a Todd RIDEOUT. Lipids, Sterols, and Their Metabolites. In: TUCKER, Katherine L., Christopher P. DUGGAN, Gordon L. JENSEN a Karen E. PETERSON. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 11. Lippincott Williams and Wilkins, 2012, s. 65-84. ISBN 1284264432.
- [55] JONES, Peter J. H. a Andrea A. PAPAMANDJARIS. Lipids: cellular metabolism. In: ERDMAN JR., John W., Ian A. MACDONALD a Steven H. ZEISEL. *Present knowledge in nutrition*. 10th ed. Ames: International Life Sciences Institute, 2012, s. 132-148. ISBN 9780470959176.
- [56] COATES, P. M. a M. R. BLACKMAN. Omega-3 Fatty Acids. In: COATES, P. M., M. R. BLACKMAN, G. M. CRAGG, M. LEVINE, J. D. WHITE a J. MOSS. *Encyclopedia of Dietary Supplements*. CRC Press, 2004, s. 577-586. ISBN 9780429171178.
- [57] ROBERTSON, R. Omega-3-6-9 Fatty Acids: A Complete Overview. *Healthline* [online]. 2020, 22. 10. 2020 [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/nutrition/omega-3-6-9-overview#omega-3>
- [58] OKE, S. Boosting Puppy Brains for Trainability With Omega-3 Fatty Acids. *American Kennel Club* [online]. 2021, 13. 3. 2021 [cit. 2025-08-25]. Dostupné z: <https://www.akc.org/expert-advice/health/boosting-puppy-brains-for-trainability-with-omega-3-fatty-acids/>
- [59] INNIS, S. M. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. *Brain Research*. Elsevier BV, 2008, 1237, 35-43. ISSN 0006-8993. Dostupné z: doi:10.1016/j.brainres.2008.08.078
- [60] WATSON, A., G. THOMAS, C. BUTOWSKI a D. ALLAWAY. Evidence for an interaction between linoleic acid intake and skin barrier properties in healthy dogs – a pilot study. *Journal of Applied Animal Nutrition*. Walter de Gruyter, 2018, 6. ISSN 2049-257X. Dostupné z: doi:10.1017/jan.2018.6
- [61] KEENAN, J. GLA For Dogs: The Hidden Healthy Fat. *Dogs Naturally* [online]. 13. 1. 2022 [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://www.dogsnaturallymagazine.com/gla-for-dogs/>
- [62] Cytokiny. *WikiSkripta* [online]. [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/Cytokiny>

- [63] CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. Elsevier BV, 2006, **75**(3), 197-202. ISSN 0952-3278. Dostupné z: doi:10.1016/j.plefa.2006.05.012
- [64] FAN, Y. a R. S. CHAPKIN. Importance of Dietary γ -Linolenic Acid in Human Health and Nutrition. *The Journal of Nutrition*. Elsevier BV, 1998, **128**(9), 1411-1414. ISSN 0022-3166. Dostupné z: doi:10.1093/jn/128.9.1411
- [65] Health Benefits of Hemp Seed Oil for Dogs. *UK Hemp Ltd* [online]. 2025, 28. 5. 2025 [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://ukhempltd.co.uk/blogs/hemp-information/health-benefits-of-hemp-seed-oil-for-dogs>
- [66] KEENAN, J. Hemp Seed Vs Hemp Oil For Dogs. *Dogs Naturally* [online]. [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://www.dogsnaturallymagazine.com/hemp-for-dogs-should-you-use-it/>
- [67] WOOTEN, S. J. Hemp Oil for Dogs: Benefits and Uses. *Vetstreet* [online]. 11. 3. 2024 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.vetstreet.com/food-and-treats/dog-supplements/hemp-oil-for-dogs>
- [68] KRUZER, A. Is CBD Oil Good for Dogs? *The Spruce Pets* [online]. 9. 4. 2021 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.thesprucepets.com/is-cbd-oil-good-for-dogs-4686099>
- [69] CARLISLE, C., B. T. METZGER, N. L. TINTLE, K. POLLEY, K. H. JACKSON, S. LE BRUN-BLASHKA, J. GRIFFITHS a W. S. HARRIS. The Effects of Omega-3 Supplementation on the Omega-3 Index and Quality of Life and Pain Scores in Dogs. *Animals*. MDPI, 2024, **14**(21), 3108. ISSN 2076-2615. Dostupné z: doi:10.3390/ani14213108
- [70] MAGALHÃES, T., A. L. LOURENÇO, H. GREGÓRIO a F. L. QUEIROGA. Therapeutic Effect of EPA/DHA Supplementation in Neoplastic and Non-neoplastic Companion Animal Diseases: A Systematic Review. *In Vivo*. International Institute of Anticancer Research, 2021, **35**(3), 1419-1436. ISSN 0258-851X. Dostupné z: doi:10.21873/invivo.12394
- [71] VON SCHACKY, C. Omega-3 Fatty Acids: Anti-Arrhythmic, Pro-Arrhythmic, or Both? *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media, 2012, **3**. ISSN 1664-042X. Dostupné z: doi:10.3389/fphys.2012.00088

- [72] ADILI, R., M. HAWLEY a M. HOLINSTAT. Regulation of platelet function and thrombosis by omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins*. Elsevier BV, 2018, **139**, 10-18. ISSN 1098-8823. Dostupné z: doi:10.1016/j.prostaglandins.2018.09.005
- [73] Healthy Foods Checklist: Flaxseed for Dogs. *PetMD* [online]. 2017, 28. 4. 2017 [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://www.petmd.com/dog/nutrition/healthy-foods-checklist-flaxseed-dogs>
- [74] 4 Healthy Oils To Add To Your Dog's Diet. *PetMD* [online]. 2015, 10. 6. 2015 [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://www.petmd.com/dog/nutrition/4-healthy-oils-add-your-dogs-diet>
- [75] GOYAL, A., V. SHARMA, N. UPADHYAY, S. GILL a M. SIHAG. Flax and flaxseed oil: an ancient medicine. *Journal of Food Science and Technology*. Springer Science and Business Media, 2014, **51**(9), 1633-1653. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-013-1247-9
- [76] COATES, J. The Glow of Health. *PetMD* [online]. 2013, 7. 6. 2013 [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://www.petmd.com/blogs/nutritionnuggets/jcoates/2013/june/the-glow-of-health-in-dogs-fur-30449>
- [77] DELLA ROCCA, G. a A. DI SALVO. Hemp in Veterinary Medicine: From Feed to Drug. *Frontiers in Veterinary Science*. Frontiers Media, 2020, **7**. ISSN 2297-1769. Dostupné z: doi:10.3389/fvets.2020.00387
- [78] WHITEHEAD, J. Hemp Seed Oil for Dogs: Unlocking the Nutritional Benefits. *Canine Kinetics* [online]. 2024, 22. 1. 2024 [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: <https://www.caninekinetics.com.au/blog/hemp-seed-oil-for-dogs-unlocking-the-nutritional-benefits#/>
- [79] VONAPARTIS, E., M. AUBIN, P. SEGUIN, A. F. MUSTAFA a J. CHARRON. Seed composition of ten industrial hemp cultivars approved for production in Canada. *Journal of Food Composition and Analysis*. Elsevier BV, 2015, **39**, 8-12. ISSN 0889-1575. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfca.2014.11.004

- [80] GODFREY, H. Top 6 Benefits of Hemp Seed Oil in Pet Food. *Tom and Sawyer* [online]. 2021, 19. 11. 2021 [cit. 2025-08-26]. Dostupné z: https://tomandsawyer.com/blogs/news/top-6-benefits-of-hemp-seed-oil-in-pet-food?srsId=AfmBOoovsVuX0lfhSNLm-naH5Rt-RbxELRaGeLcochnNR7_vDfVxvQqA
- [81] CALLAWAY, J. C. Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica*. Springer Science and Business Media, 2004, **140**(1-2), 65-72. ISSN 0014-2336. Dostupné z: doi:10.1007/s10681-004-4811-6
- [82] CALLAWAY, J., U. SCHWAB, I. HARVIMA, P. HALONEN, O. MYKKÄNEN, P. HYVÖNEN a T. JÄRVINEN. Efficacy of dietary hempseed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment*. Informa UK Limited, 2005, **16**(2), 87-94. ISSN 0954-6634. Dostupné z: doi:10.1080/09546630510035832
- [83] ATALAY, S., I. JAROCKA-KARPOWICZ a E. SKRZYDLEWSKA. Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. *Antioxidants*. MDPI, 2019, **9**(1), 21. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox9010021
- [84] WITKAMP, R. a J. MEIJERINK. The endocannabinoid system: an emerging key player in inflammation. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health), 2014, **17**(2), 130-138. ISSN 1363-1950. Dostupné z: doi:10.1097/mco.0000000000000027
- [85] CALDWELL, A. Evening Primrose Oil for Dogs. *Wag!* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://wagwalking.com/wellness/evening-primrose-oil-for-dogs>
- [86] TIMOSZUK, M., K. BIELAWSKA a E. SKRZYDLEWSKA. Evening Primrose (*Oenothera biennis*) Biological Activity Dependent on Chemical Composition. *Antioxidants*. MDPI, 2018, **7**(8), 108. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox7080108
- [87] GIBSON, R. A., D. R. LINES a M. A. NEUMANN. Gamma linolenic acid (GLA) content of encapsulated evening primrose oil products. *Lipids*. Wiley, 1992, **27**(1), 82-84. ISSN 0024-4201. Dostupné z: doi:10.1007/bf02537067
- [88] LESSER, J. Is Olive Oil Good for Dogs? *The Spruce Pets* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.thesprucepets.com/is-olive-oil-good-for-dogs-5104824>

- [89] *Oil, olive, extra light* [online]. 2021, 28. 4. 2021 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://fdc.nal.usda.gov/food-details/1750351/nutrients>
- [90] BRIANT, Erik. Add Oil to Dog Food to Help Soothe Itchy Skin and Promote a Healthy Coat. *Feelgoodhhs* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://feelgoodhhs.com/add-oil-to-dog-food-to-help-soothe-itchy-skin-and-promote-a-healthy-coat/>
- [91] KŘESALOVÁ, A. Může pes olivový olej? *ČASKRMENÍ.CZ* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.caskrmeni.cz/muze-pes-olivovy-olej-.html>
- [92] CAREY, H. Is It Safe to Put Olive Oil on My Dog's Fur? - Expert Advice. *Dogs Blog HHS* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://feelgoodhhs.com/is-it-safe-to-put-olive-oil-on-my-dog-s-fur-expert-advice/>
- [93] MORRISON, B. J. Coconut Oil for Dogs. *PetMD* [online]. 2024, 26. 2. 2024 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.petmd.com/dog/general-health/coconut-oil-for-dogs>
- [94] EISENSCHENK, M. Coconut Oil Use in Dogs. *Pet Dermatology Clinic* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.petdermatologyclinic.com/coconut-oil-use-in-dogs>
- [95] DAYRIT, F. M., O. M. BUENAFE, E. T. CHAINANI, I. M. S. DE VERA, I. K. D. DIMZON, E. G. GONZALES a J. E. R. SANTOS. Standards for Essential Composition and Quality Factors of Commercial Virgin Coconut Oil and its Differentiation from RBD Coconut Oil and Copra Oil. *The Philippine journal of science*. 2008, **136**(2), 119-129. ISSN 0031 - 7683.
- [96] DAYRIT, F. M. Lauric Acid is a Medium-Chain Fatty Acid, Coconut Oil is a Medium-Chain Triglyceride. *Philippine Journal of Science*. 2014, **143**(2), 157-166. ISSN 0031 - 7683.
- [97] NAKATSUJI, T., M. C. KAO, J. FANG, Ch. C. ZOUBOULIS, L. ZHANG, R. L. GALLO a Ch. HUANG. Antimicrobial Property of Lauric Acid Against *Propionibacterium Acnes*: Its Therapeutic Potential for Inflammatory Acne Vulgaris. *Journal of Investigative Dermatology*. Elsevier BV, 2009, **129**(10), 2480-2488. ISSN 0022-202X. Dostupné z: doi:10.1038/jid.2009.93

- [98] OGBOLU, D.O., A.A. ONI, O.A. DAINI a A.P. OLOKO. In Vitro Antimicrobial Properties of Coconut Oil on Candida Species in Ibadan, Nigeria. *Journal of Medicinal Food*. Mary Ann Liebert, 2007, **10**(2), 384-387. ISSN 1096-620X. Dostupné z: doi:10.1089/jmf.2006.1209
- [99] LESSER, J. Discover the Top 5 Ways to Use Coconut Oil for Dogs' Health and Happiness. *The Spruce Pet* [online]. 25. 5. 2025 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.thesprucepets.com/coconut-oil-for-dogs-4582549>
- [100] PAN, Y., B. LARSON, J. A. ARAUJO, W. LAU, Ch. DE RIVERA, R. SANTANA, A. GORE a N. W. MILGRAM. Dietary supplementation with medium-chain TAG has long-lasting cognition-enhancing effects in aged dogs. *British Journal of Nutrition*. Cambridge University Press (CUP), 2010, **103**(12), 1746-1754. ISSN 0007-1145. Dostupné z: doi:10.1017/s0007114510000097
- [101] TAHA, A. Y., S. T. HENDERSON a W. M. BURNHAM. Dietary Enrichment with Medium Chain Triglycerides (AC-1203) Elevates Polyunsaturated Fatty Acids in the Parietal Cortex of Aged Dogs: Implications for Treating Age-Related Cognitive Decline. *Neurochemical Research*. Springer Science and Business Media, 2009, **34**(9), 1619-1625. ISSN 0364-3190. Dostupné z: doi:10.1007/s11064-009-9952-5
- [102] LIMA, R. S. a J. M. BLOCK. Coconut oil: what do we really know about it so far? *Food Quality and Safety*. Oxford University Press (OUP), 2019, **3**(2), 61-72. ISSN 2399-1399. Dostupné z: doi:10.1093/fqsafe/fyz004
- [103] WAYNICK, L. Is Coconut Oil Safe for Dogs? *The Spruce Pets* [online]. 3. 4. 2021 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.thesprucepets.com/is-coconut-oil-safe-for-dogs-4707863>
- [104] ZHU, J. J., S. C. CERMAK, J. A. KENAR, et al. Better than DEET Repellent Compounds Derived from Coconut Oil. *Scientific Reports*. Springer Science and Business Media, 2018, **8**(1). ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-018-32373-7
- [105] IONITA, E. Use of algae in dog nutrition. *Veterinaria Digital* [online]. 2022, 30. 9. 2022 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.veterinariadigital.com/en/articulos/use-of-algae-in-dog-nutrition/>

- [106] CABRITA, A. R. J., J. GUILHERME-FERNANDES, M. SPÍNOLA, M. R. G. MAIA, T. YERGALIYEV, A. CAMARINHA-SILVA a A. J. M. FONSECA. Effects of microalgae as dietary supplement on palatability, digestibility, fecal metabolites, and microbiota in healthy dogs. *Frontiers in Veterinary Science*. Frontiers Media, 2023, **10**. ISSN 2297-1769. Dostupné z: doi:10.3389/fvets.2023.1245790
- [107] Microalgae for Dogs: Benefits, Species, and Safe Use. *Seaweed For Dogs* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: https://seaweedfordogs.com/pages/microalgae-for-dogs-benefits-species-and-safe-use?srsltid=AfmBOoodRfNxXmuBDwTDJqhuzd_QiVPeM-
- [108] SATYARAJ, E., A. REYNOLDS, R. ENGLER, J. LABUDA a P. SUN. Supplementation of Diets With Spirulina Influences Immune and Gut Function in Dogs. *Frontiers in Nutrition*. Frontiers Media, 2021, **8**. ISSN 2296-861X. Dostupné z: doi:10.3389/fnut.2021.667072
- [109] STEFANUTTI, D., G. TONIN, G. MORELLI, R. M. ZAMPIERI, N. LA ROCCA a R. RICCI. Oral Palatability and Owners' Perception of the Effect of Increasing Amounts of Spirulina (*Arthrospira platensis*) in the Diet of a Cohort of Healthy Dogs and Cats. *Animals*. MDPI, 2023, **13**(8), 1275. ISSN 2076-2615. Dostupné z: doi:10.3390/ani13081275
- [110] CHAUDHARI, S. P. a D. T. BAVISKAR. Anti-inflammatory Activity of *Chlorella vulgaris* in Experimental models of Rats. *Institute of Pharmaceutical Education*,. 2021, **11**(4), 358-361.
- [111] Kelp. *The Balanced Canine* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.thebalancedcanine.co.uk/kelp?>
- [112] KEENAN, J. Top 7 Sea Vegetables For Dogs – And Their Health Benefits. *Dogs Naturally* [online]. 27. 2. 2023 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.dogsnaturallymagazine.com/sea-vegetables-and-their-health-benefits-for-dogs/>
- [113] CLEAVER, L. Report: 4 key trends shaping the pet food industry. *PetfoodIndustry* [online]. 2025, 23. 6. 2025 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.petfoodindustry.com/pet-food-market/market-trends-and-reports/article/15749123/report-4-key-trends-shaping-the-pet-food-industry>

- [114] Pet Supplement Market Size, Share, Trends and Forecast by Pet Type, Distribution Channel, Source, Application, and Region, 2025-2033. *Imarc* [online]. [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.imarcgroup.com/pet-supplement-market>
- [115] How Big Is the Dog Supplement Market? *6Wresearch* [online]. 2025 [cit. 2025-08-27]. Dostupné z: <https://www.6wresearch.com/market-takeaways-view/how-big-is-the-dog-supplement-market?>
- [116] KOOLMAN, J. a K. H. RÖHM. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-802-4729-770.
- [117] Mastné kyseliny. *WikySkripta* [online]. [cit. 2025-10-14]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Mastn%C3%A9_kyseliny
- [118] Fatty acid. *Encyclopedia Britannica* [online]. [cit. 2025-10-14]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/fatty-acid>
- [119] GROFOVÁ, Z. Mastné kyseliny. *Medicína pro praxi*. 2010, 7(10), 388-390.
- [120] AKOH, C. C. a D. B. MIN. *Food Lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. 2. vyd. New York: Marcel Dekker, 2002. Food science and technology series. ISBN 08-247-0749-4.
- [121] SEPPÄNEN-LAAKSO, T., I. LAAKSO a R. HILTUNEN. Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition. *Analytica Chimica Acta*. Elsevier BV, 2002, 465(1-2), 39-62. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/s0003-2670(02)00397-5
- [122] TIUCA, I., K. NAGY a R. OPREAN. Recent developments in fatty acids profile determination in biological samples - a review. *Revista Romana de Medicina de Laborator*. Walter de Gruyter, 2015, 23(4), 371-384. ISSN 2284-5623. Dostupné z: doi:10.1515/rrlm-2015-0035
- [123] CHIU, H. a C. KUO. Gas chromatography-mass spectrometry-based analytical strategies for fatty acid analysis in biological samples. *Journal of Food and Drug Analysis*. The Journal of Food and Drug Analysis (JFDA), Food and Drug Administration, Taiwan (TFDA), 2020, 28(1), 60-73. ISSN 1021-9498. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfda.2019.10.003

- [124] CHRISTIE, W. Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis. 1993.
- [125] ICHIHARA, K. a Y. FUKUBAYASHI. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *Journal of Lipid Research*. Elsevier BV, 2010, **51**(3), 635-640. ISSN 0022-2275. Dostupné z: doi:10.1194/jlr.d001065
- [126] LEPAGE, G a C. C. ROY. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *Journal of Lipid Research*. Elsevier BV, 1986, **27**(1), 114-120. ISSN 0022-2275. Dostupné z: doi:10.1016/s0022-2275(20)38861-1
- [127] XU, Z., K. HARVEY, T. PAVLINA, G. DUTOT, G. ZALOGA a R. SIDDIQUI. An Improved Method for Determining Medium- and Long-Chain FAMES Using Gas Chromatography. *Lipids*. Wiley, 2010, **45**(2), 199-208. ISSN 0024-4201. Dostupné z: doi:10.1007/s11745-009-3382-7
- [128] EDER, K. Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. Elsevier BV, 1995, **671**(1-2), 113-131. ISSN 0378-4347. Dostupné z: doi:10.1016/0378-4347(95)00142-6
- [129] HALKET, J. M. a V. G. ZAIKIN. Derivatization in Mass Spectrometry—1. Silylation. *European Journal of Mass Spectrometry*. SAGE Publications, 2003, **9**(1), 1-21. ISSN 1469-0667. Dostupné z: doi:10.1255/ejms.527
- [130] WAN, P. J., M. K. DOWD, A. E. THOMAS a B. H. BUTLER. Trimethylsilyl Derivatization/Gas Chromatography as a Method to Determine the Free Fatty Acid Content of Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. Wiley, 2007, **84**(8), 701-708. ISSN 0003-021X. Dostupné z: doi:10.1007/s11746-007-1101-1
- [131] SIMCHEN, G. a J. HEBERLE. *Silylating Agents*. Buchs, Switzerland: Fluka Chemie, 1995. ISBN 3-905617-07-2.
- [132] SALIMON, J., T. A. OMAR a N. SALIH. Comparison of Two Derivatization Methods for the Analysis of Fatty Acids and *Trans* Fatty Acids in Bakery Products Using Gas Chromatography. *The Scientific World Journal*. Wiley, 2014, **2014**, 1-10. ISSN 2356-6140. Dostupné z: doi:10.1155/2014/906407

- [133] ŘEBÍČKOVÁ, K., T. BAJER, D. ŠILHA, M. HOUDKOVÁ, K. VENTURA a P. BAJEROVÁ. Chemical Composition and Determination of the Antibacterial Activity of Essential Oils in Liquid and Vapor Phases Extracted from Two Different Southeast Asian Herbs—*Houttuynia cordata* (Saururaceae) and *Persicaria odorata* (Polygonaceae). *Molecules*. MDPI, 2020, **25**(10), 2432. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25102432
- [134] MRÁZ, P., M. KOPECKÝ, L. HASOŇOVÁ, I. HOŠTIČKOVÁ, A. VANÍČKOVÁ, K. PERNÁ, M. ŽABKA a M. HÝBL. Antibacterial Activity and Chemical Composition of Popular Plant Essential Oils and Their Positive Interactions in Combination. *Molecules*. MDPI, 2025, **30**(9), 1864. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules30091864
- [135] ASBAHANI, A. E., K. MILADI, W. BADRI, et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*. Elsevier BV, 2015, **483**(1-2), 220-243. ISSN 0378-5173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2014.12.069
- [136] BOCCHINI, P., C. ANDALO, D. BONFIGLIOLI a G. C. GALLETTI. Solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometric analysis of volatile organic compounds in water. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 1999, **13**(21), 2133-2139. Dostupné z: doi:10.1002/(sici)1097-0231(19991115)13:21%3C2133::aid-rcm764%3E3.0.co;2-j
- [137] AATI, H. Y., S. PERVEEN, S. AATI, R. ORFALI, J. H. ALQAHTANI, A. M. AL-TAWHEEL, J. WANNER a A. Y. AATI. Headspace solid-phase microextraction method for extracting volatile constituents from the different parts of Saudi *Anethum graveolens* L. and their antimicrobial activity. *Heliyon*. Elsevier BV, 2022, **8**(3), e09051. ISSN 2405-8440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2022.e09051
- [138] SEDLÁKOVÁ, J., B. KOCOURKOVÁ, L. LOJKOVÁ a V. KUBÁŇ. Determination of essential oil content in caraway (*Carum carvi* L.) species by means of supercritical fluid extraction. *Plant, Soil and Environment*. Czech Academy of Agricultural Sciences, 2003, **49**(6), 277-282. ISSN 1214-1178. Dostupné z: doi:10.17221/4125-pse
- [139] SAITO, M. History of supercritical fluid chromatography: Instrumental development. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Elsevier BV, 2013, **115**(6), 590-599. ISSN 1389-1723. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiosc.2012.12.008

- [140] DA SILVA, C. G. A. a C. H. COLLINS. SUPER/SUBCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY WITH PACKED COLUMNS: STATE OF THE ART AND APPLICATIONS. *Química Nova*. GN1 Sistemas e Publicacoes, 2014, **37**(6), 1047-1057. ISSN 0100-4042. Dostupné z: doi:10.5935/0100-4042.20140158
- [141] OKTAVIANAWATI, I. Essential Oil Extraction of *Cananga odorata* Flowers using Hydrodistillation and Steam-Water Distillation Processes. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. IOP Publishing, 2020, **833**(1), 012032. ISSN 1757-8981. Dostupné z: doi:10.1088/1757-899x/833/1/012032
- [142] Destilace. *Zdravotnická škola Hradec Králové* [online]. [cit. 2025-10-14]. Dostupné z: <https://lat.zshk.cz/vyuka/destilace.aspx>
- [143] NOUR, A. H., R. H. MODATHER, R. M. YUNUS, A. A. M. ELNOUR a N. A. ISMAIL. Characterization of bioactive compounds in patchouli oil using microwave-assisted and traditional hydrodistillation methods. *Industrial Crops and Products*. Elsevier BV, 2024, **208**, 117901. ISSN 0926-6690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2023.117901
- [144] RAFIQ, A., B. MANZOOR, M. NAYEEM, A. JABEEN a Q. A. AMIN. Extraction of essential oils. *Extraction Processes in the Food Industry*. Elsevier, 2024, 279-298. ISBN 9780128195161. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-819516-1.00005-3
- [145] ARRUDA, T. R., B. R. de C. LEITE JUNIOR, C. S. MARQUES, P. C. BERNARDES, C. G. MAGALHÃES a P. F. PINHEIRO. Emerging techniques for extraction and characterization of natural compounds. *Green Products in Food Safety*. Elsevier, 2023, 29-79. ISBN 9780323955904. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-323-95590-4.00009-6
- [146] LI, D. a S. LIU. Drinking Water Detection. *Water Quality Monitoring and Management*. Elsevier, 2019, 251-267. ISBN 9780128113301. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-811330-1.00010-7
- [147] PELCL, K. *GC/MS stanovení mastných kyselin v třídách lipidů lidské plazmy*. Pardubice, 2025. Diplomová práce. Univerzita Pardubice. Vedoucí práce Ing. Tomáš Hájek, PhD.
- [148] BARTLE, K. D. a P. MYERS. History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. Elsevier BV, 2002, **21**(9-10), 547-557. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/s0165-9936(02)00806-3

- [149] ACKMAN, R. G. The gas chromatograph in practical analyses of common and uncommon fatty acids for the 21st century. *Analytica Chimica Acta*. Elsevier BV, 2002, **465**(1-2), 175-192. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/s0003-2670(02)00098-3
- [150] ZHANG, H., Z. WANG a O. LIU. Development and validation of a GC–FID method for quantitative analysis of oleic acid and related fatty acids. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Elsevier BV, 2015, **5**(4), 223-230. ISSN 2095-1779. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpha.2015.01.005
- [151] ECKER, J., M. SCHERER, G. SCHMITZ a G. LIEBISCH. A rapid GC–MS method for quantification of positional and geometric isomers of fatty acid methyl esters. *Journal of Chromatography B*. Elsevier BV, 2012, **897**, 98-104. ISSN 1570-0232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jchromb.2012.04.015
- [152] GC-FID | Gas Chromatography Flame Ionization Detector. *SCION instruments* [online]. [cit. 2025-10-17]. Dostupné z: <https://scioninstruments.com/us/blog/gc-fid-gas-chromatography-flame-ionization-detector/>
- [153] JIRÁSKO, R. *Spojení hmotnostní spektrometrie a separačních technik* [online]. Pardubice, 2024. Dostupné také z: https://holcapek.upce.cz/teaching/MS/06_Spojeni_MS_separaceRJ.pdf. Prezentace. Univerzita Pardubice.
- [154] JIRÁSKO, R. *Hmotnostní spektrometrie (v organické analýze)* [online]. Pardubice, 2024. Dostupné také z: https://holcapek.upce.cz/teaching/MS/01_Uvod_RJ.pdf. Prezentace. Univerzita Pardubice.
- [155] JIRÁSKO, R. *Ionizační techniky* [online]. Pardubice, 2024. Dostupné také z: https://holcapek.upce.cz/teaching/MS/02_03_Ionizacni_techiky_RJ.pdf. Prezentace. Univerzita Pardubice.
- [156] JIRÁSKO, R. *Hmotnostní analyzátory* [online]. Pardubice, 2024. Dostupné také z: https://holcapek.upce.cz/teaching/MS/04_05_MS_analyzatory_RJ.pdf. Prezentace. Univerzita Pardubice.
- [157] MERCLOVÁ, M. *GC-MS stanovení izomerních mastných kyselin v potravinářských a biologických vzorcích*. Pardubice, 2023. Diplomová práce. Univerzita Pardubice. Vedoucí práce Ing. Tomáš Hájek, PhD.

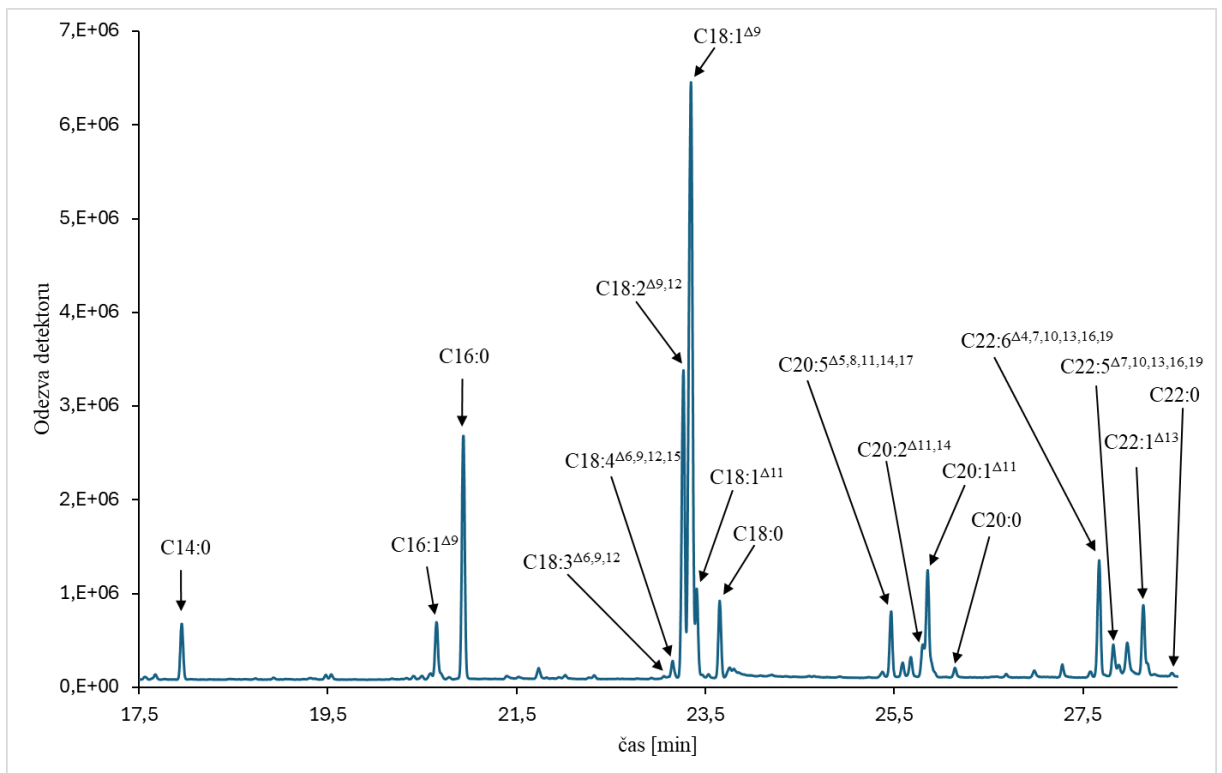
- [158] ALYAMI, H. R., Y. WU, A. ALJUGHAIMAN, T. LI, A. ALMULHIM, J. M. BLISS a J. XIAO. The Effect of Medium-Chain Triglycerides Oil on *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* in Planktonic and Mucosal Models. *Antibiotics*. MDPI, 2024, 2024-12-20, **13**(12), 1231. ISSN 2079-6382. Dostupné z: doi:10.3390/antibiotics13121231
- [159] BHATTACHARYYA, A., M. SINHA, H. SINGH, R. S. PATEL, S. GHOSH, K. SARDANA, S. GHOSH a S. SENGUPTA. Mechanistic Insight Into the Antifungal Effects of a Fatty Acid Derivative Against Drug-Resistant Fungal Infections. *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media, 2020, 2020-9-8, **11**. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2020.02116

PŘÍLOHY

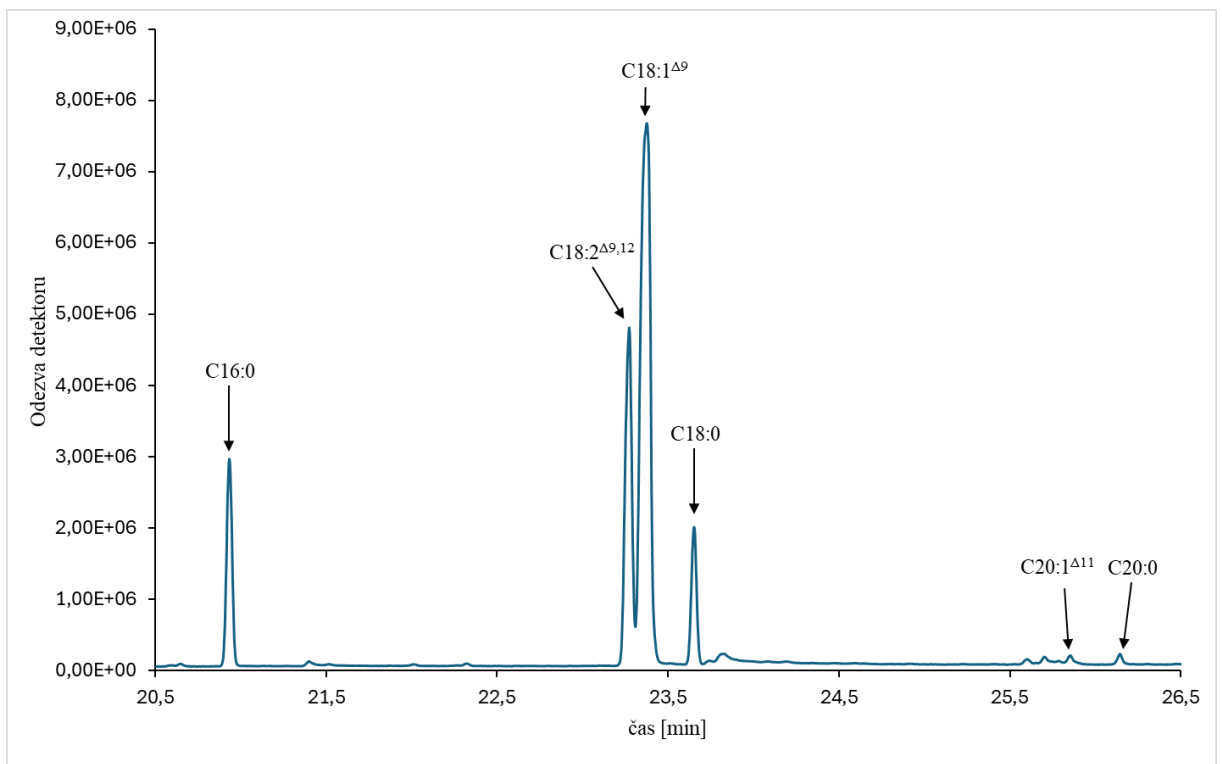
Příloha 1: Chromatogram extraktu FAME z lososového oleje	84
Příloha 2: Chromatogram extraktu FAME ze lněného oleje	84
Příloha 3: Chromatogram extraktu FAME ze sezamového oleje	85
Příloha 4: Chromatogram extraktu FAME z řepkového oleje	85
Příloha 5: Chromatogram extraktu FAME z olivového oleje	86
Příloha 6: Chromatogram extraktu FAME ze slunečnicového oleje	86
Příloha 7: Chromatogram extraktu FAME z ořechového oleje	87
Příloha 8: Chromatogram extraktu FAME z pistáciového oleje	87
Příloha 9: Chromatogram extraktu FAME z hroznového oleje	88
Příloha 10: Chromatogram extraktu FAME z konopného oleje	88
Příloha 11: Chromatogram extraktu FAME z krillového oleje	89
Příloha 12: Chromatogram extraktu FAME z pupalkového oleje	89
Příloha 13: Chromatogram profilu MK vzorku 1	90
Příloha 14: Chromatogram porovnání profilů MK vzorku 1 a pupalkového oleje	90
Příloha 15: Přiblížený chromatogram porovnání profilů MK vzorku 1 a pupalkového oleje	91
Příloha 16: Chromatogram porovnání profilů MK vzorku 1 a konopného oleje	91
Příloha 17: Chromatogram profilů MK vzorku 2	92
Příloha 18: Porovnání profilů MK vzorku 2 a pupalkového oleje	92
Příloha 19: Přiblížený chromatogram porovnání profilů MK vzorku 2 a pupalkového oleje	93
Příloha 20: Chromatogram porovnání profilů MK vzorku 1 a 2	93
Příloha 21: Chromatogram těkavých složek směsného oleje po extrakci za teploty 170 °C (černá křivka) a 200 °C (růžová křivka) pomocí červeného vlákna	94
Příloha 22: Chromatogram těkavých složek směsného oleje po extrakci za teploty 170 °C (černá křivka) a 200 °C (růžová křivka) pomocí šedého vlákna	94
Příloha 23: Chromatogram těkavých složek směsného oleje po extrakci za teploty 170 °C pomocí červeného (černá křivka) a šedého (růžová křivka) vlákna	95
Příloha 24: Chromatogram těkavých složek: porovnání extrakce navážky 100 (černá křivka) a 250 mg (růžová křivka) směsného oleje při teplotě extrakce 170 °C pomocí šedého vlákna	95

Příloha 25: Porovnání chromatogramů těkavých látek vzorku 1 (černá křivka) a pupalkového oleje (růžová křivka)	96
Příloha 26: Porovnání chromatogramů těkavých látek vzorku 1 (černá křivka) a konopného oleje (růžová křivka)	96
Příloha 27: Porovnání chromatogramů těkavých látek vzorku 2 (černá křivka) a pupalkového oleje (růžová křivka)	97
Příloha 28: Porovnání chromatogramů těkavých látek vzorku 2 (černá křivka) a konopného oleje (růžová křivka)	97

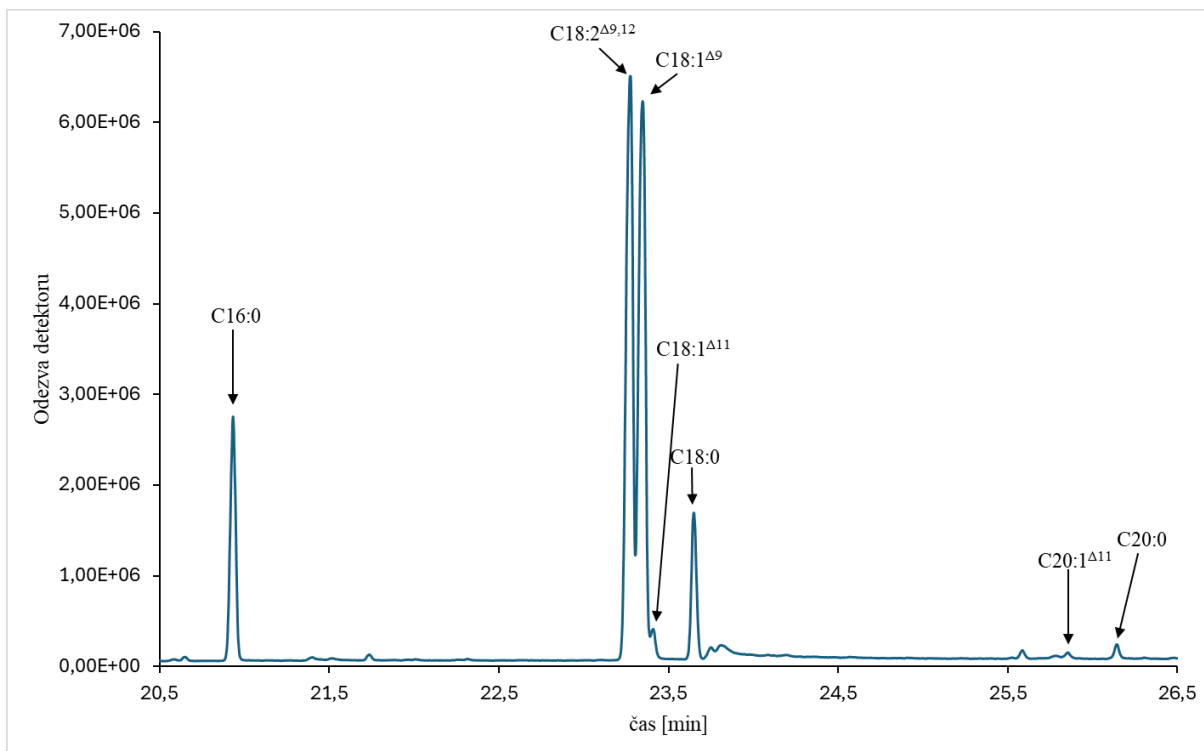
Příloha 1: Chromatogram extraktu FAME z lososového oleje



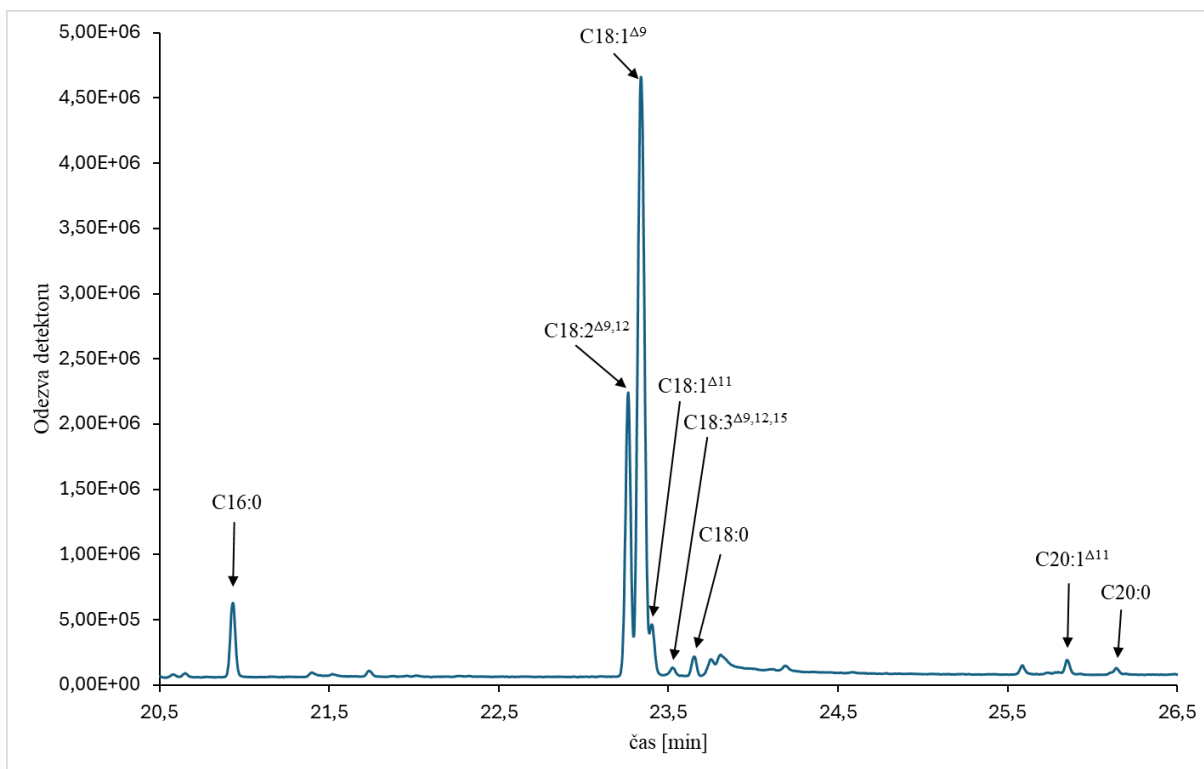
Příloha 2: Chromatogram extraktu FAME ze lněného oleje



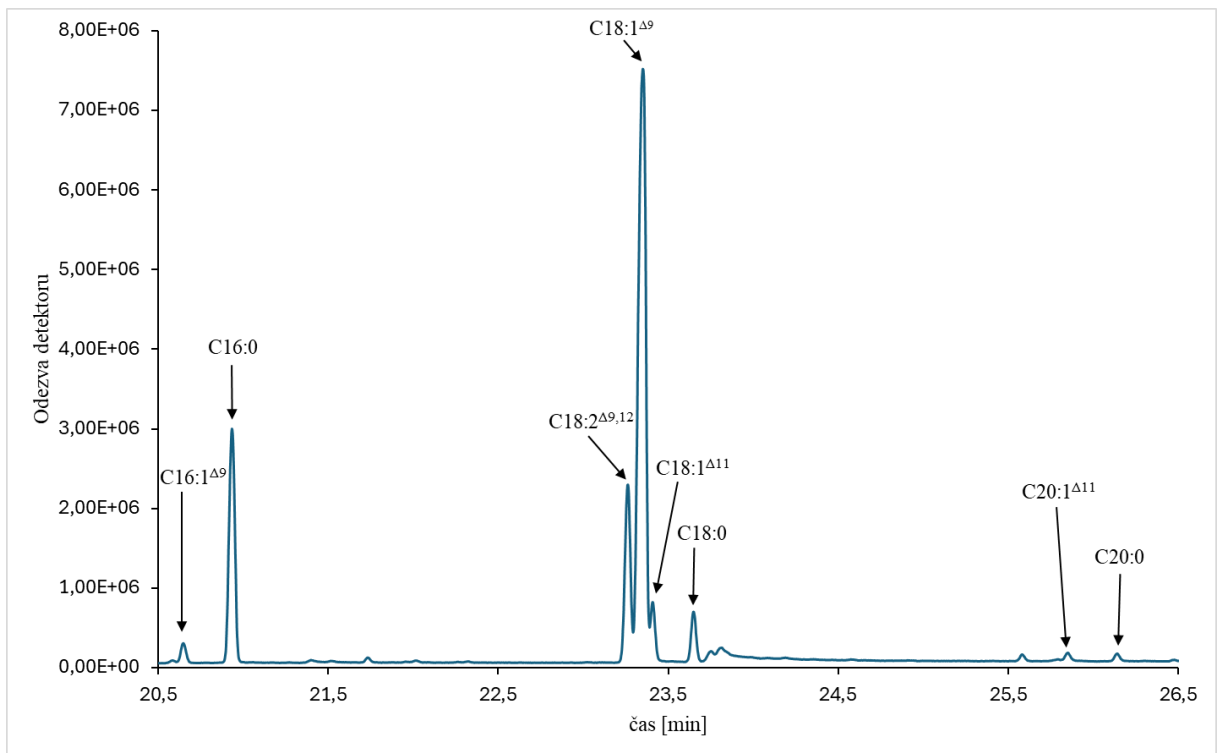
Příloha 3: Chromatogram extraktu FAME ze sezamového oleje



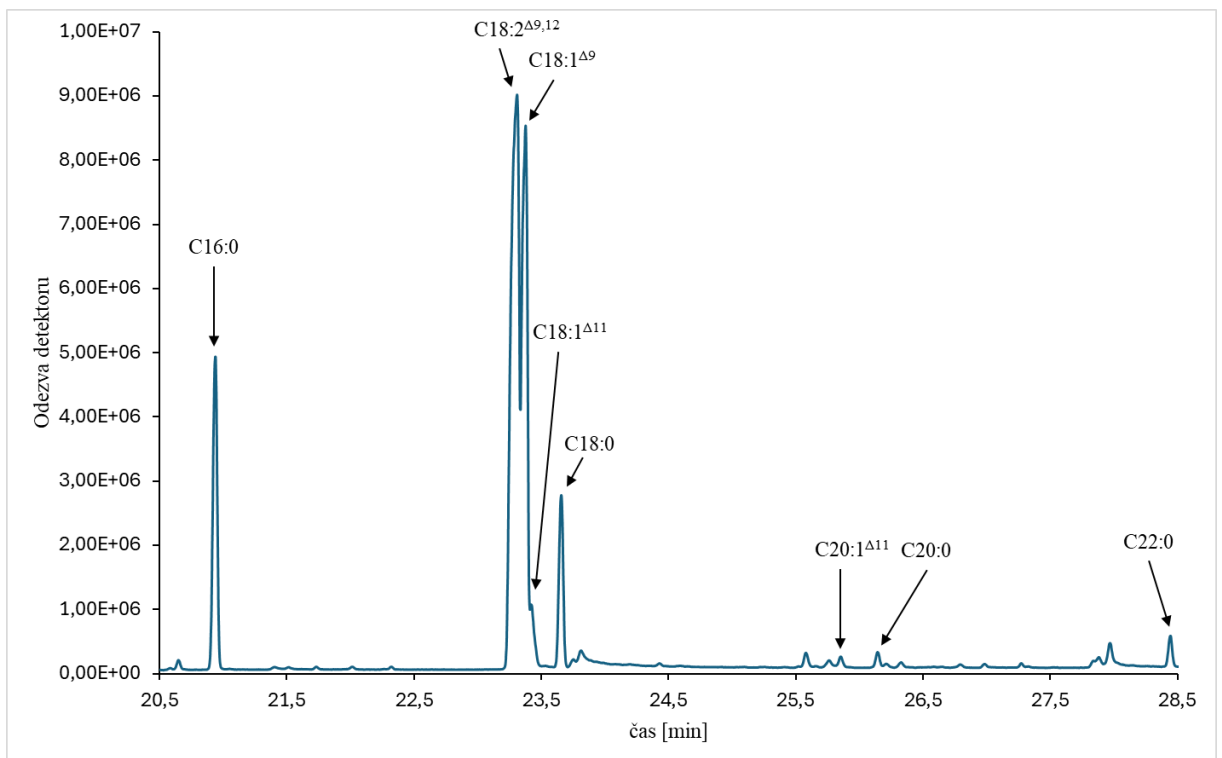
Příloha 4: Chromatogram extraktu FAME z řepkového oleje



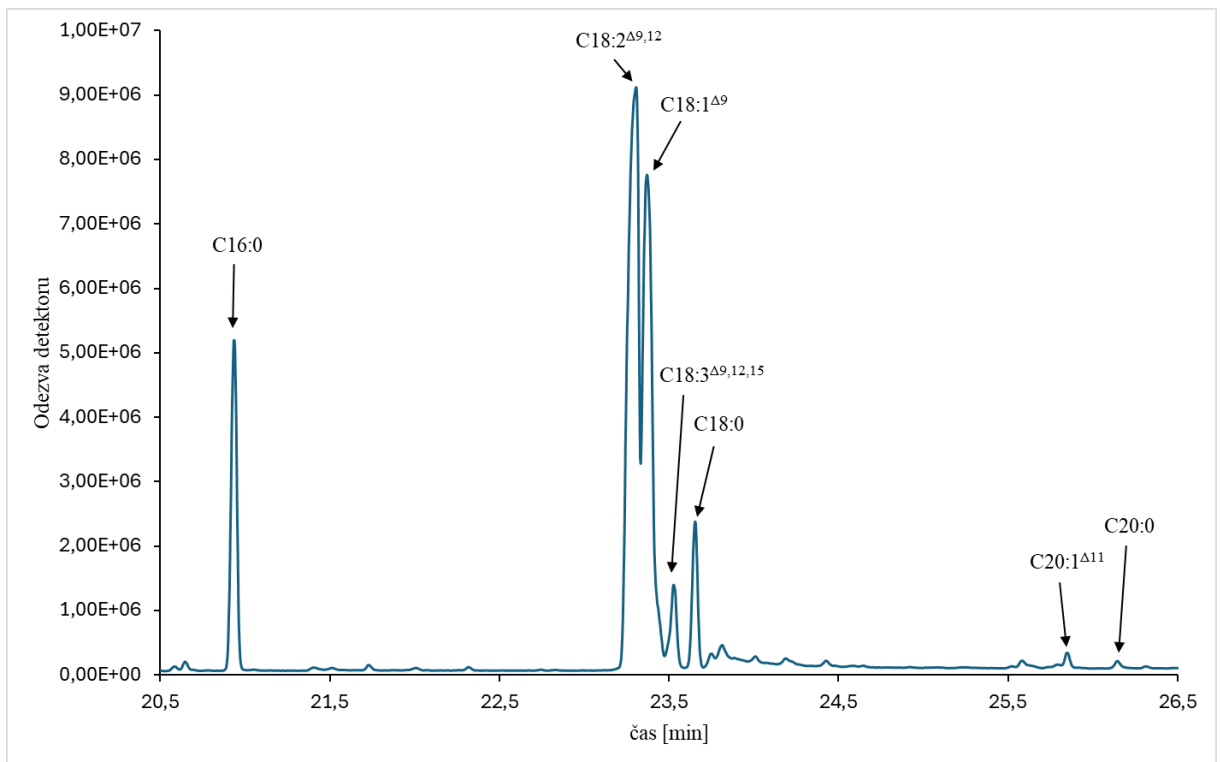
Příloha 5: Chromatogram extraktu FAME z olivového oleje



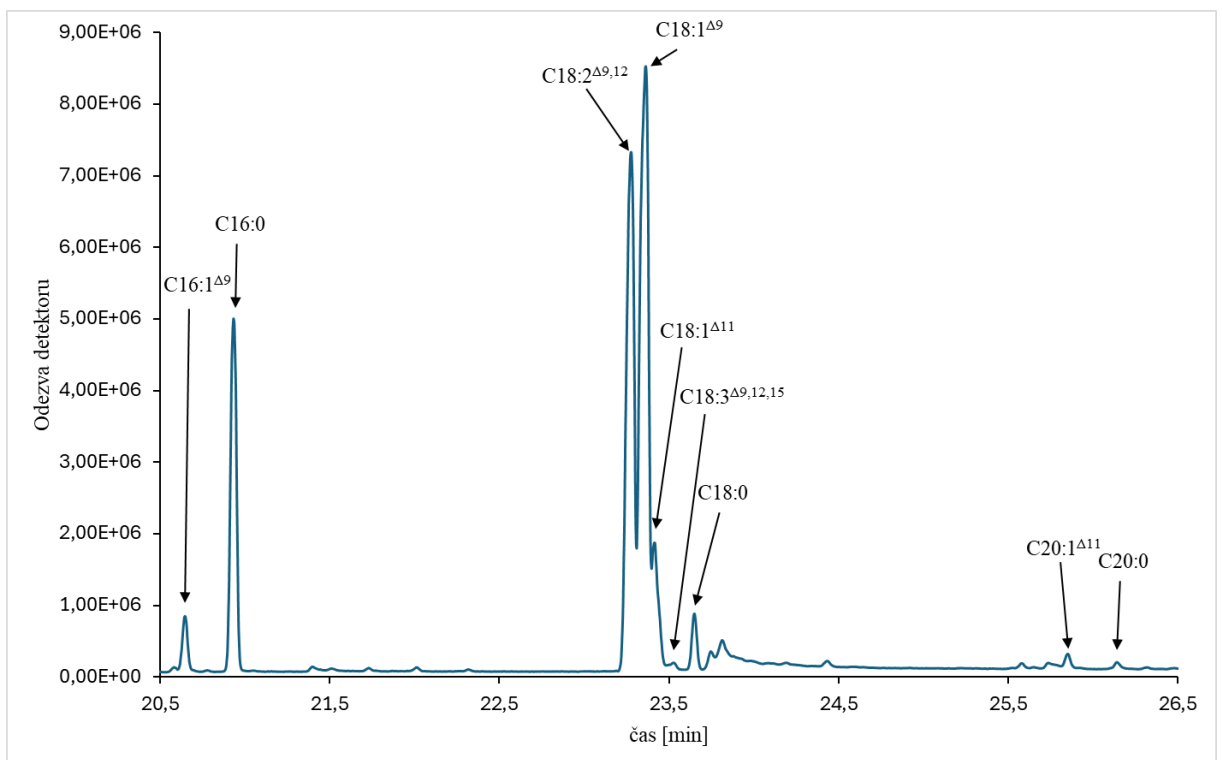
Příloha 6: Chromatogram extraktu FAME ze slunečnicového oleje



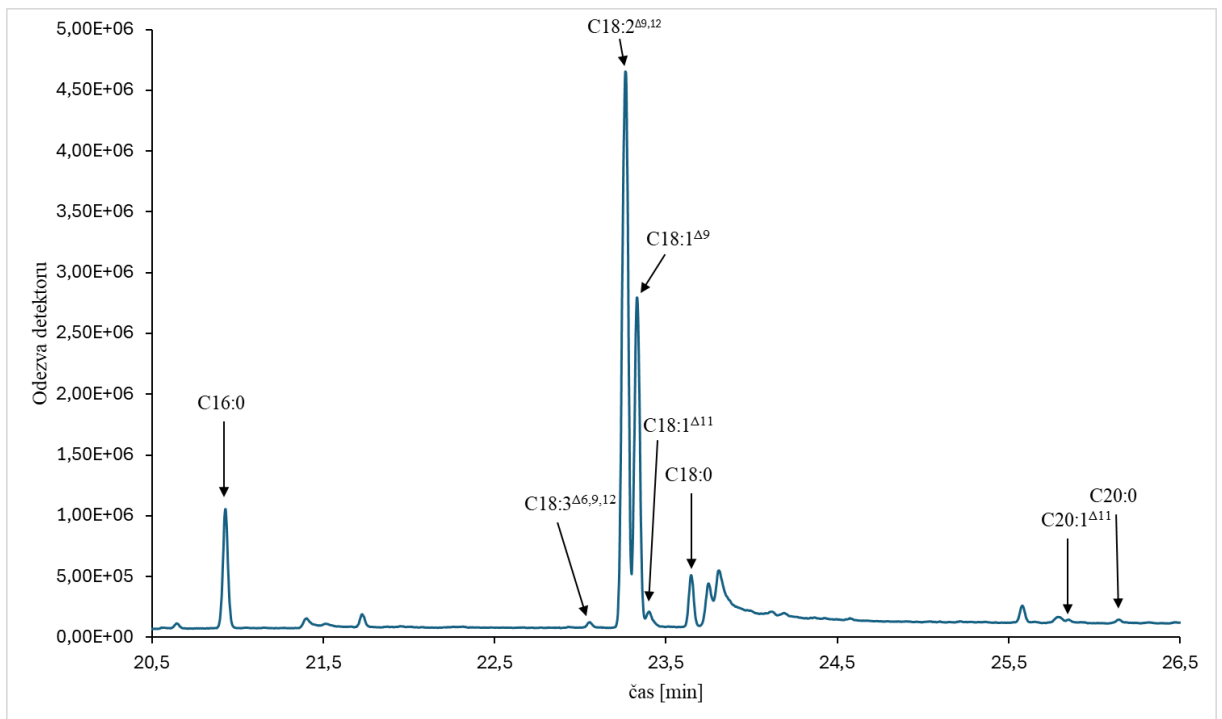
Příloha 7: Chromatogram extraktu FAME z ořechového oleje



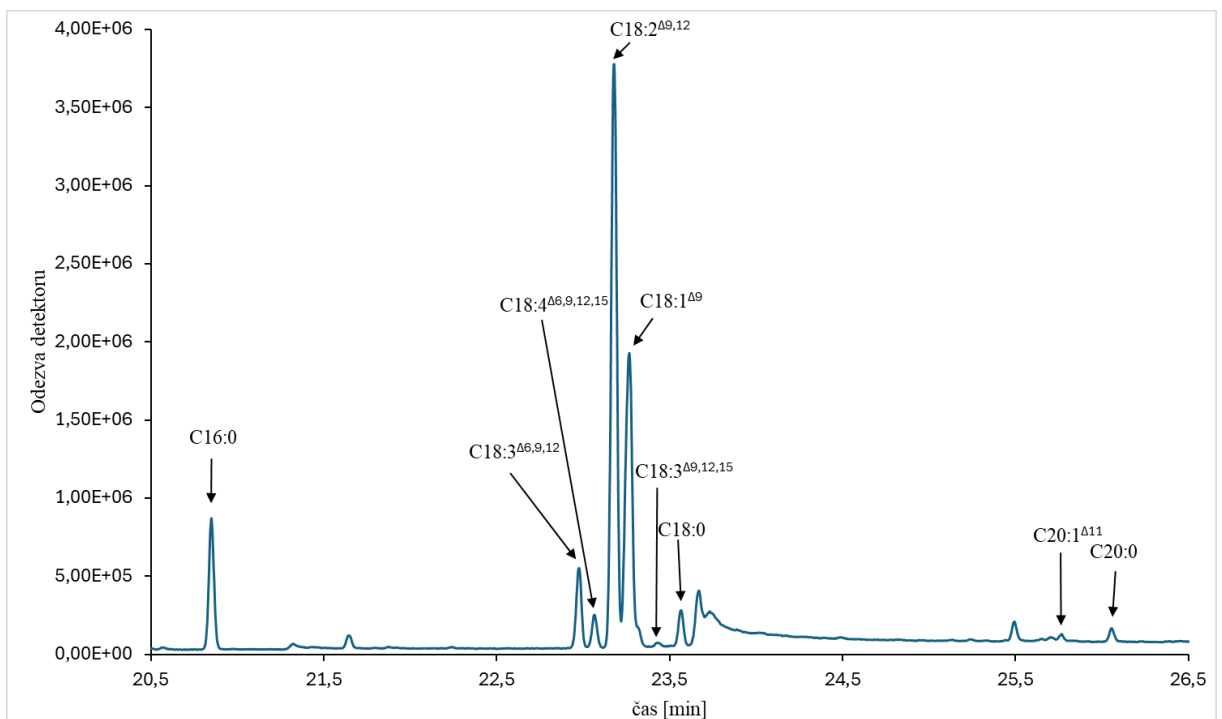
Příloha 8: Chromatogram extraktu FAME z pistáciového oleje



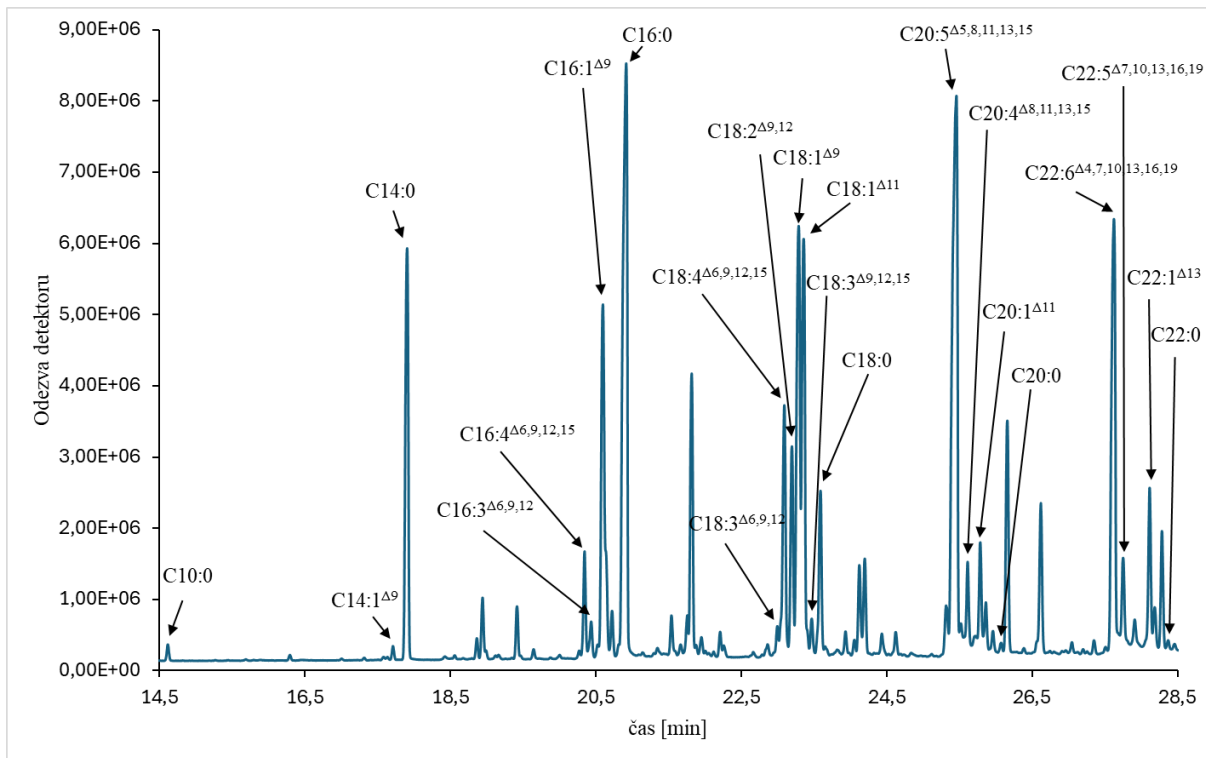
Příloha 9: Chromatogram extraktu FAME z hroznového oleje



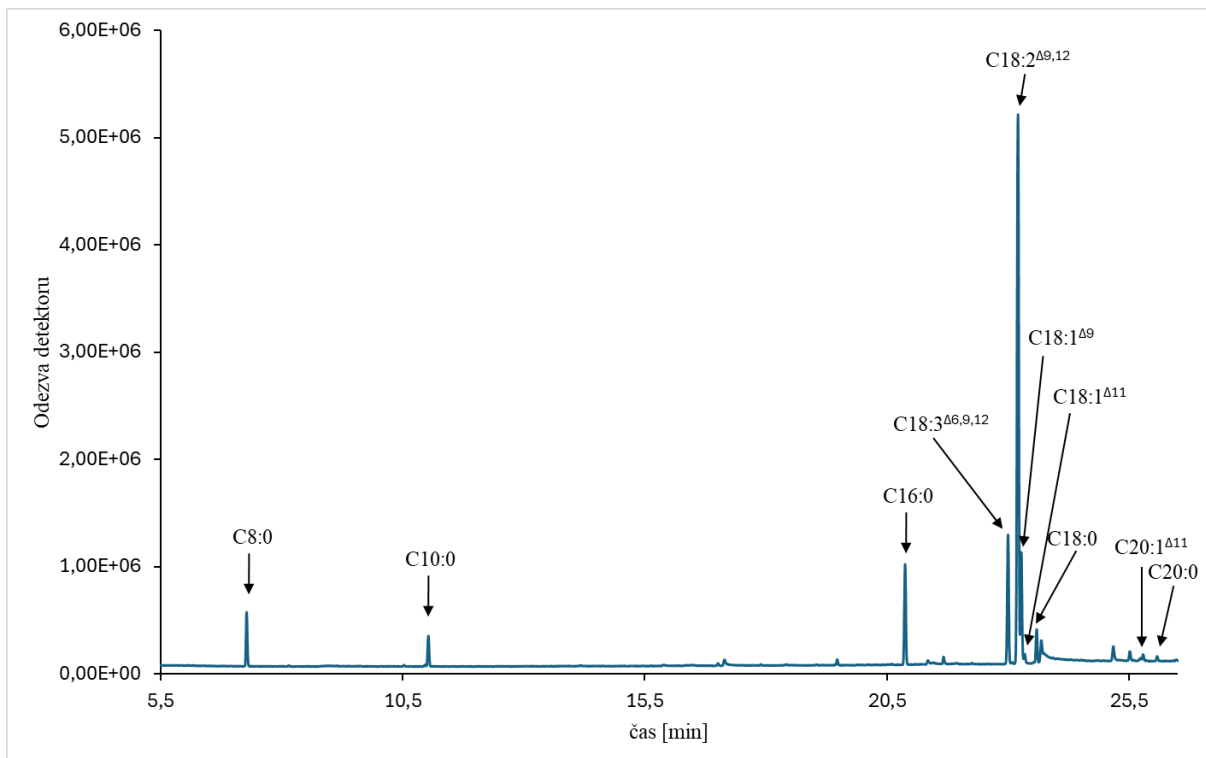
Příloha 10: Chromatogram extraktu FAME z konopného oleje



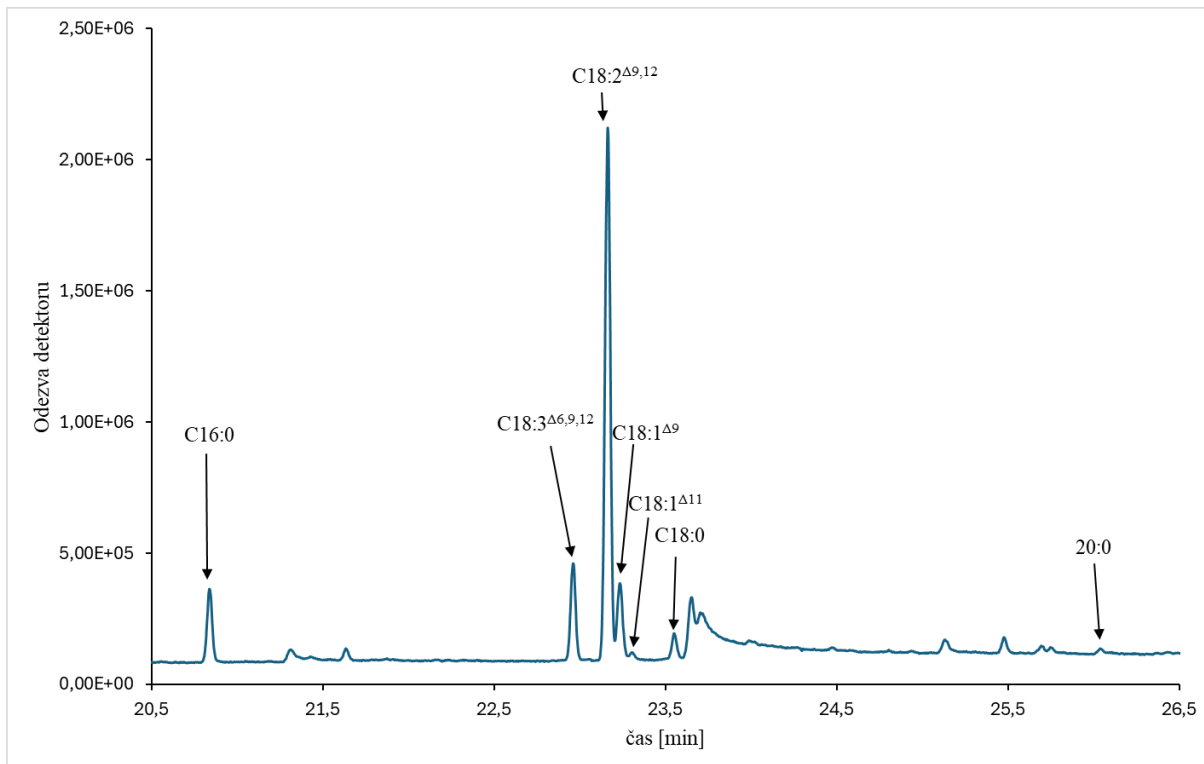
Příloha 11: Chromatogram extraktu FAME z krillového oleje



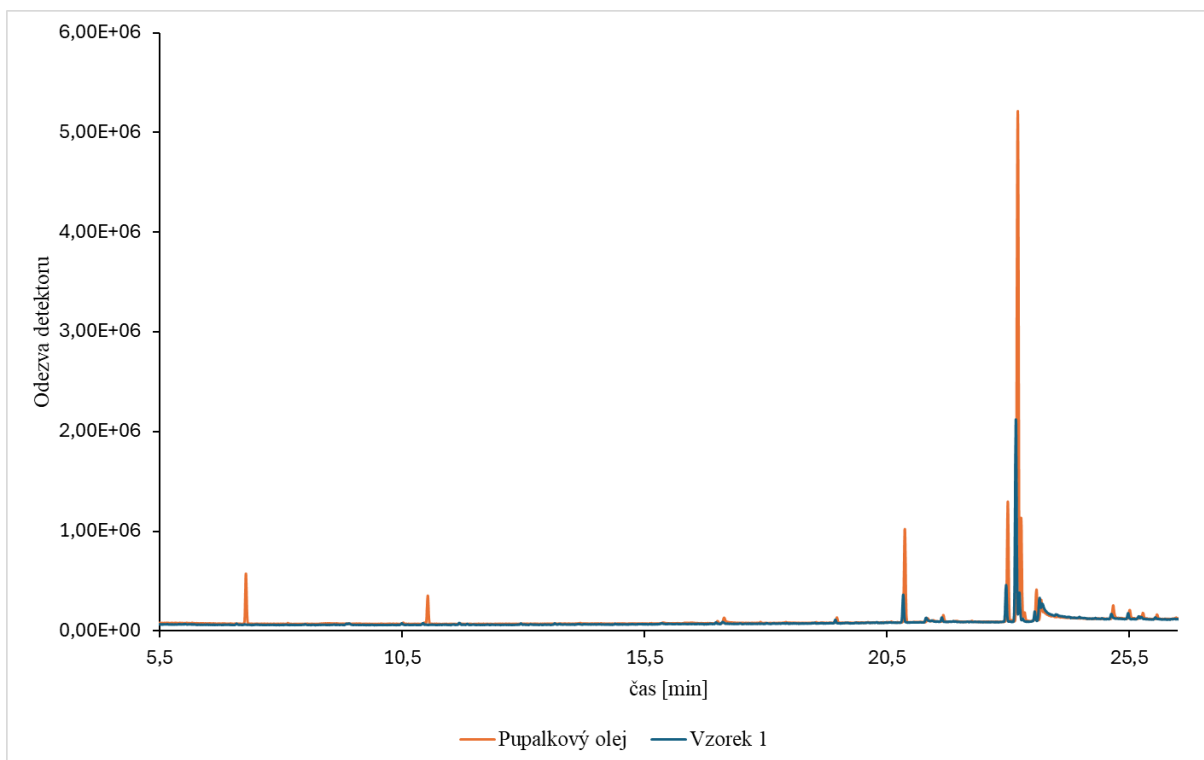
Příloha 12: Chromatogram extraktu FAME z pupalkového oleje



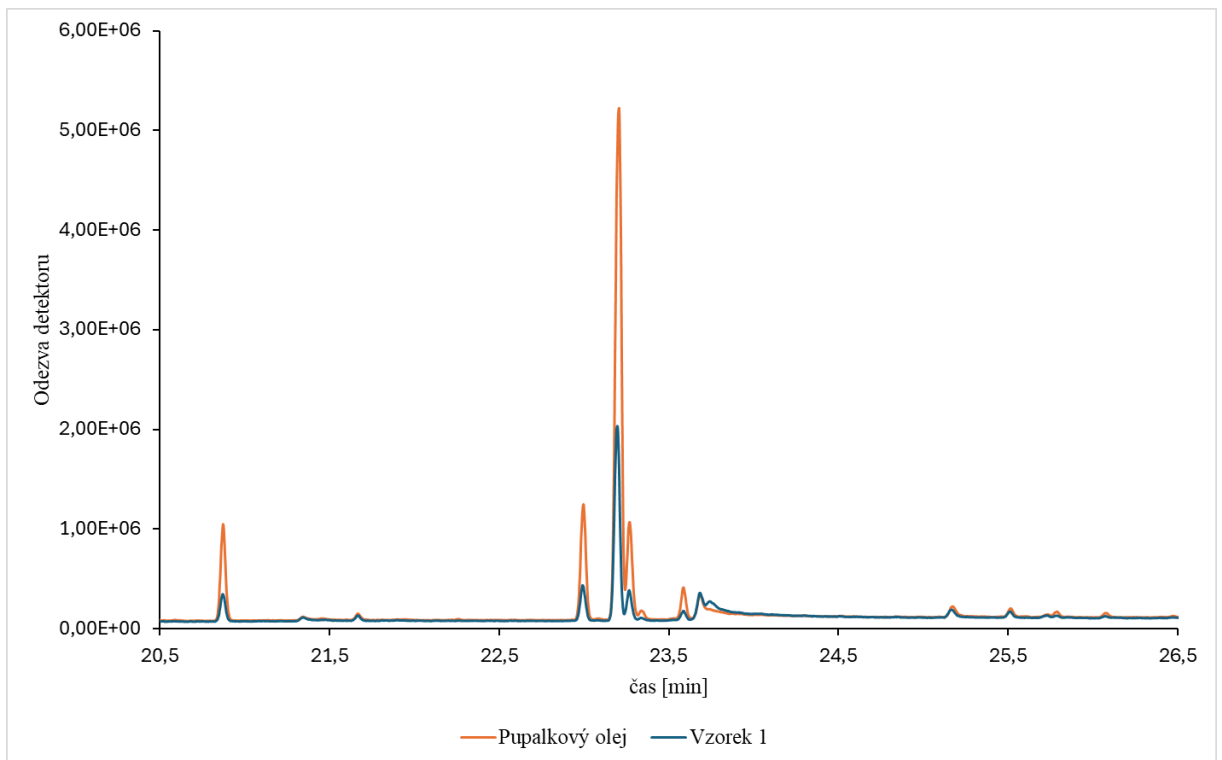
Příloha 13: Chromatogram profilu MK vzorku 1



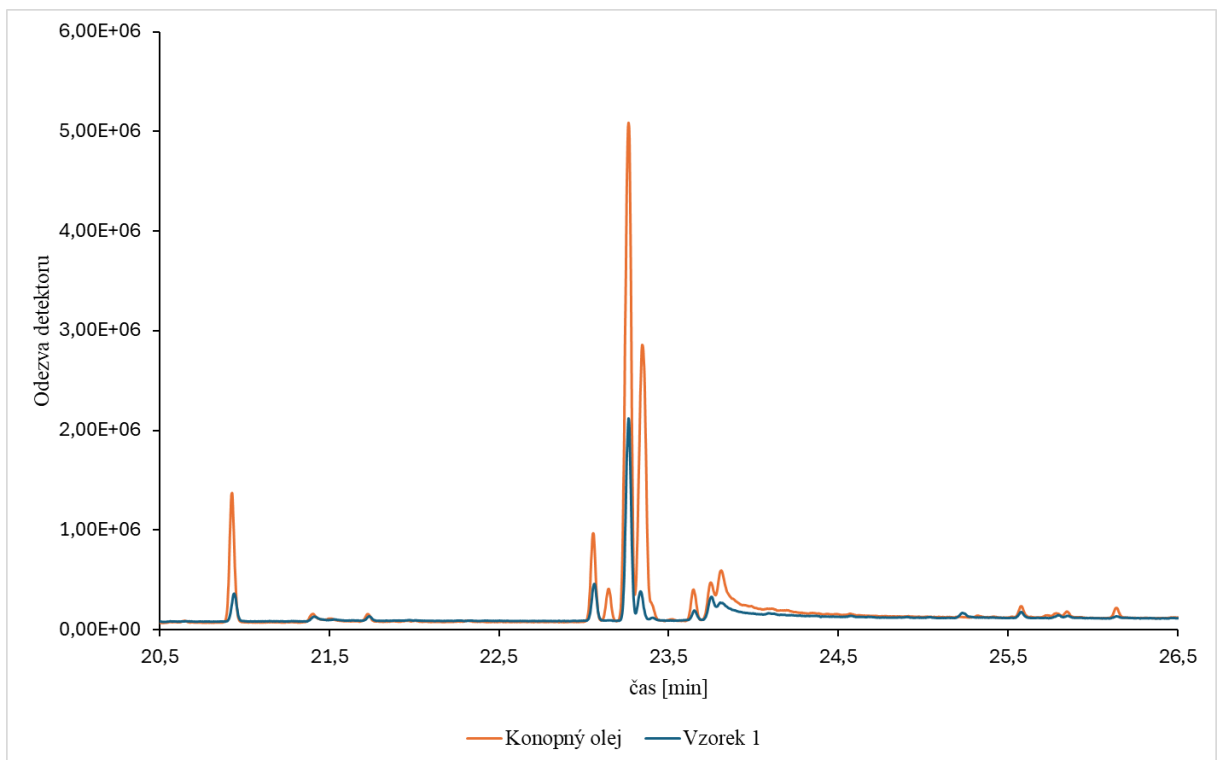
Příloha 14: Chromatogram porovnání profilů MK vzorku 1 a pupalkového oleje



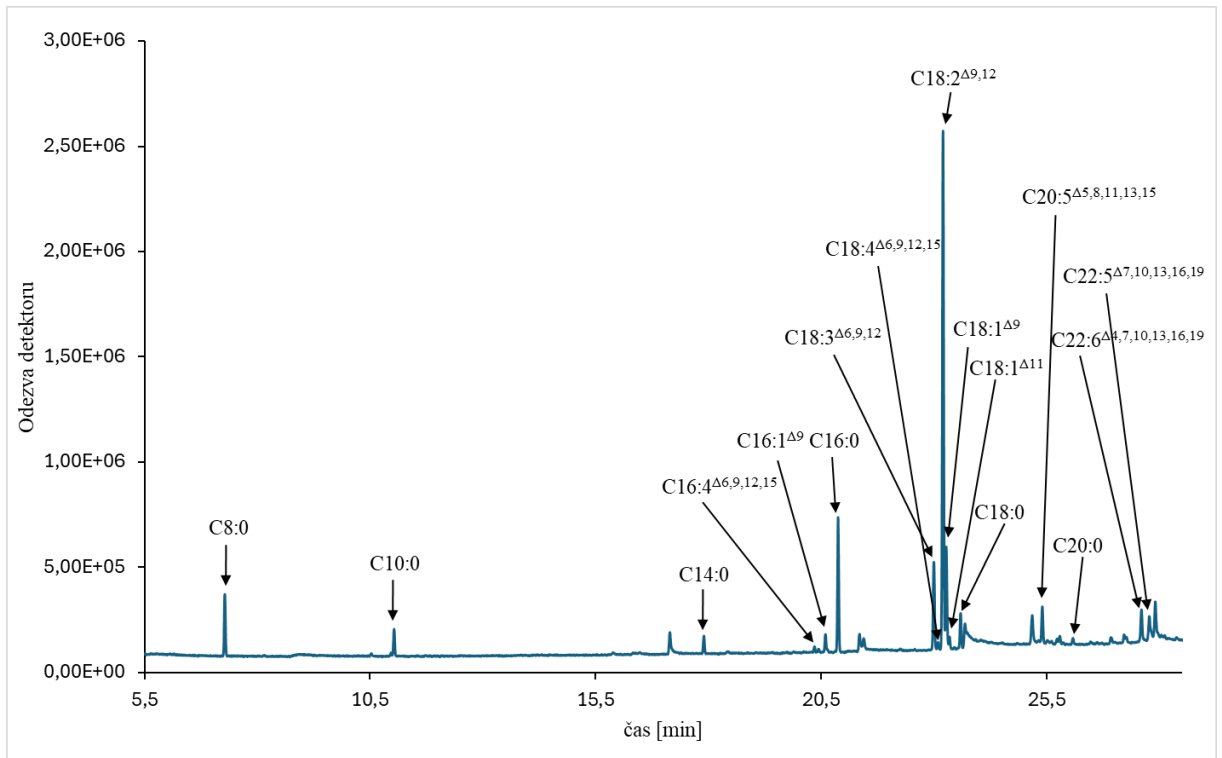
Příloha 15: Přibližný chromatogram porovnání profilů MK vzorku 1 a pupalkového oleje



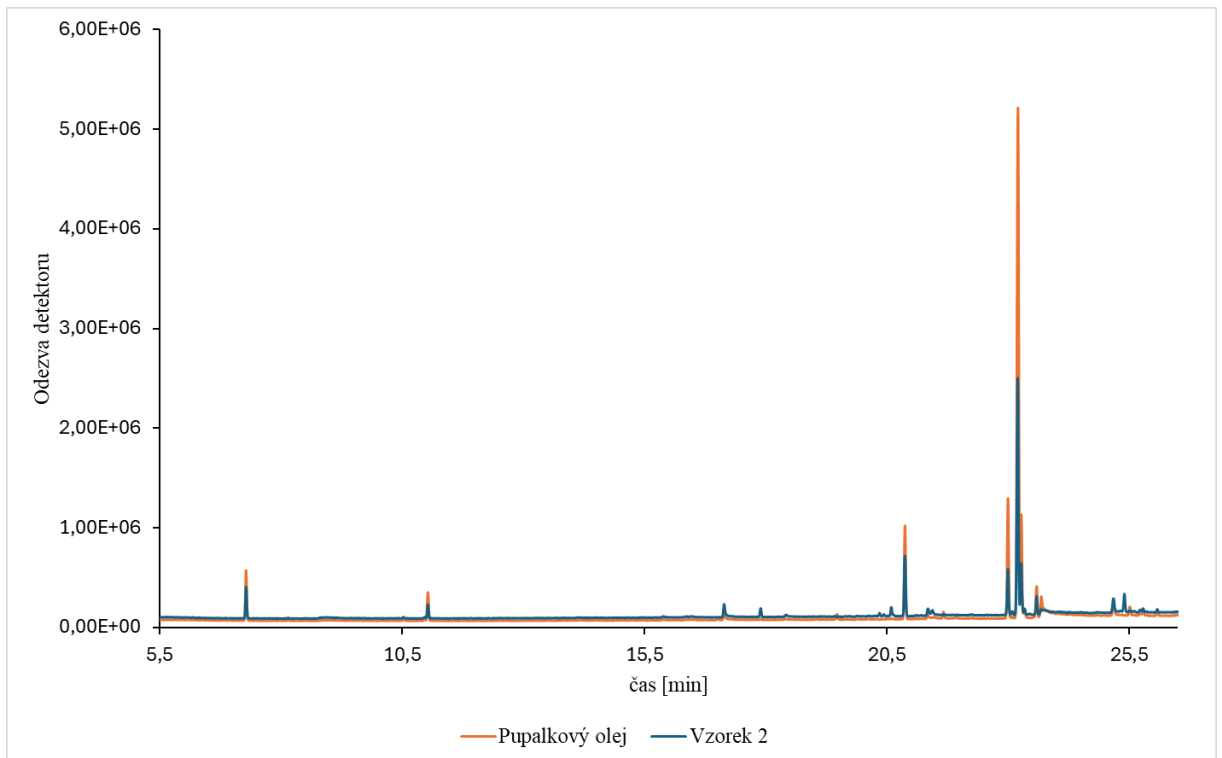
Příloha 16: Chromatogram porovnání profilů MK vzorku 1 a konopného oleje



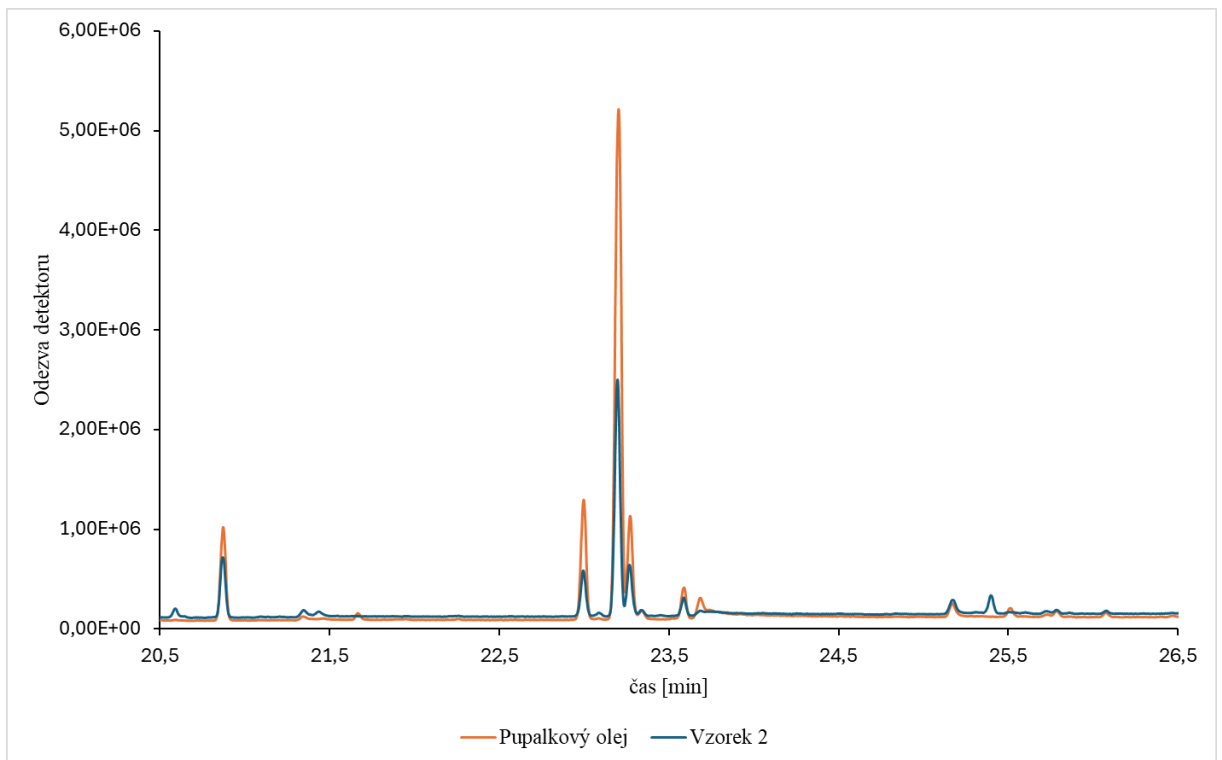
Příloha 17: Chromatogram profilů MK vzorku 2



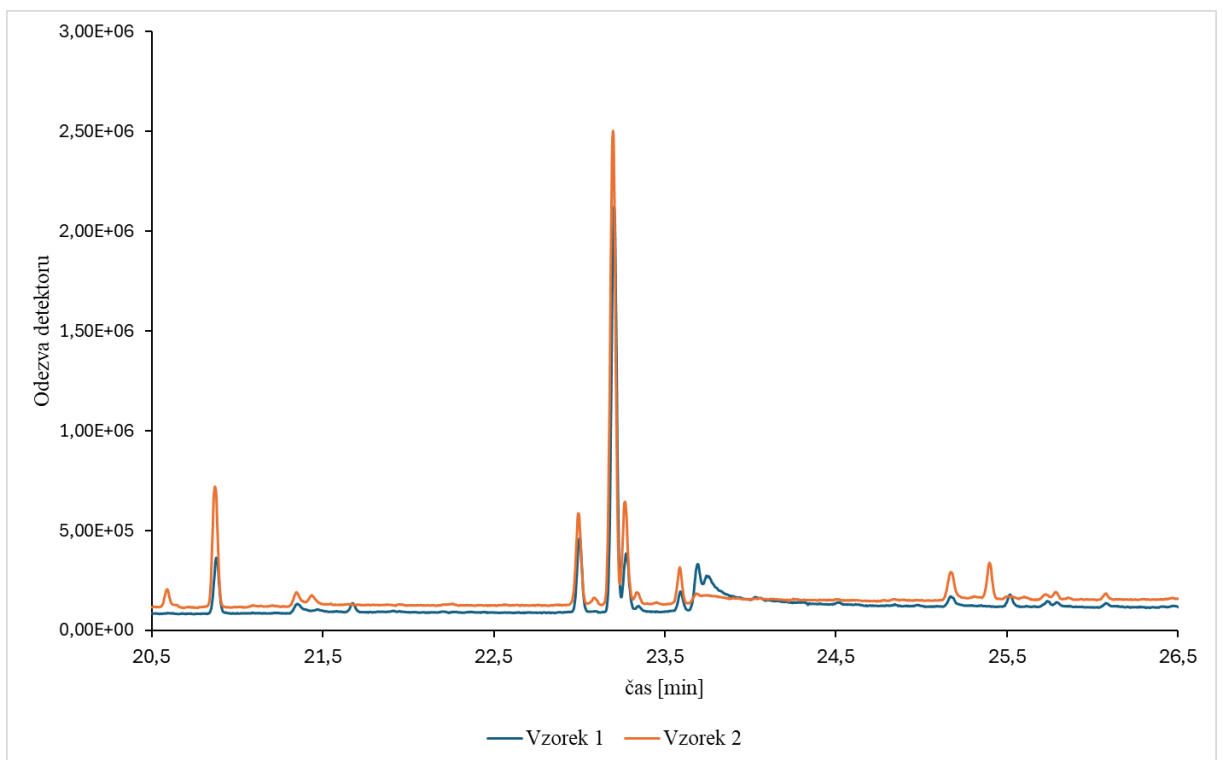
Příloha 18: Porovnání profilů MK vzorku 2 a pupalkového oleje



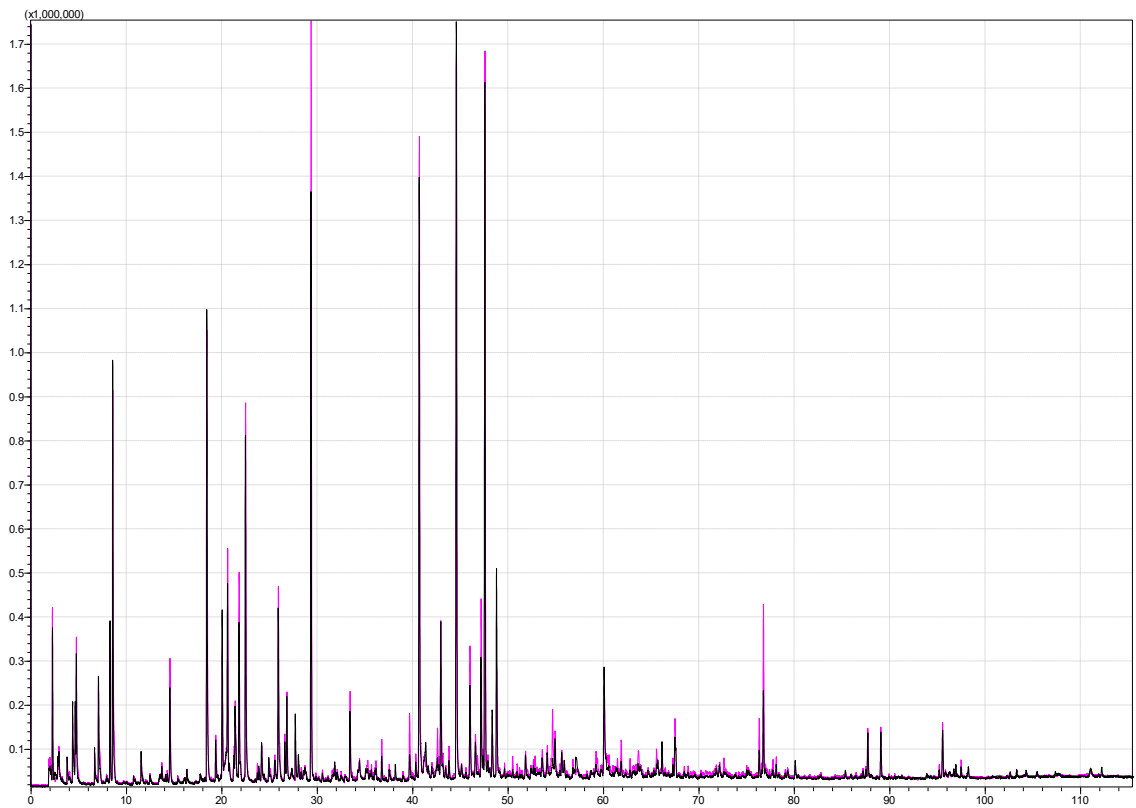
Příloha 19: Přibližný chromatogram porovnání profilů MK vzorku 2 a pupalkového oleje



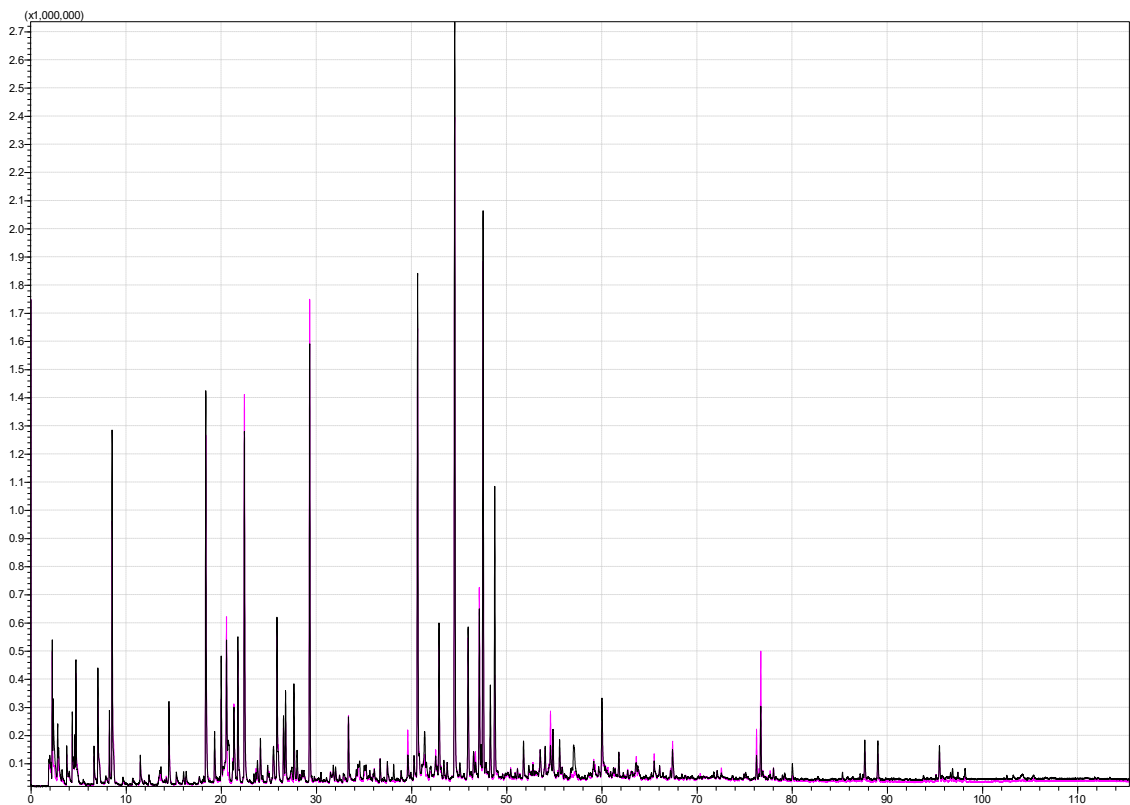
Příloha 20: Chromatogram porovnání profilů MK vzorku 1 a 2



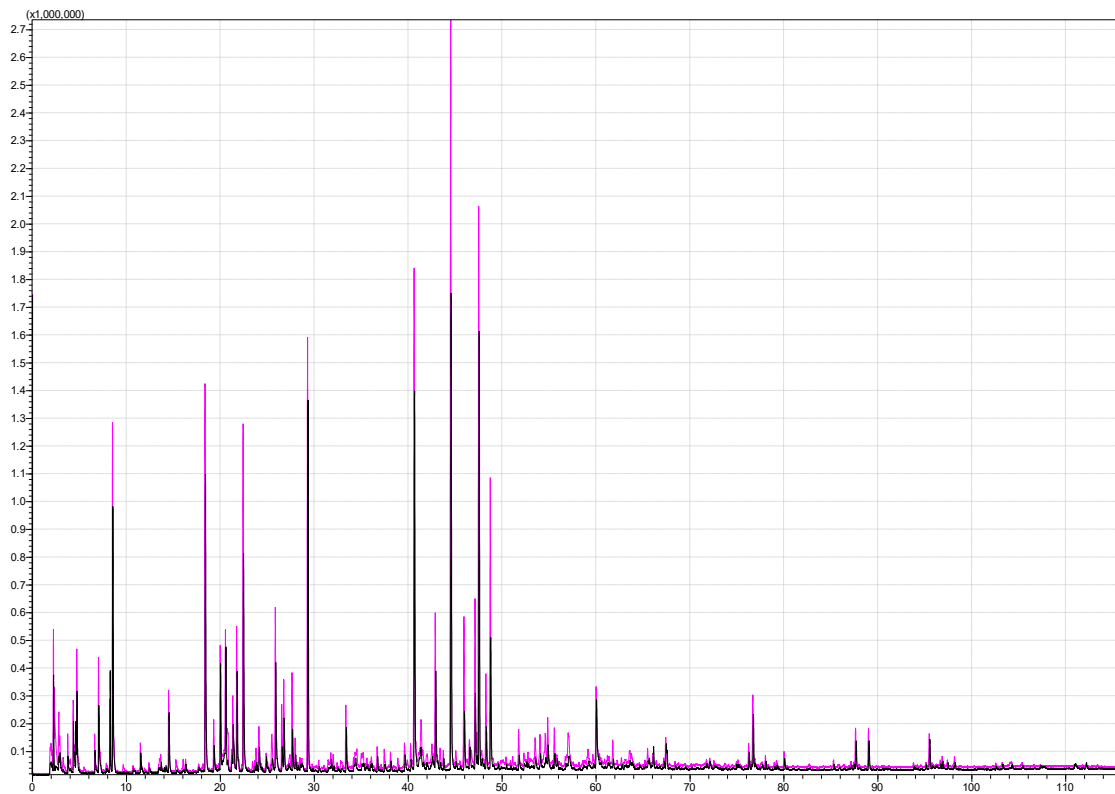
Příloha 21: Chromatogram těkavých složek směsného oleje po extrakci za teploty 170 °C (černá křivka) a 200 °C (růžová křivka) pomocí červeného vlákna



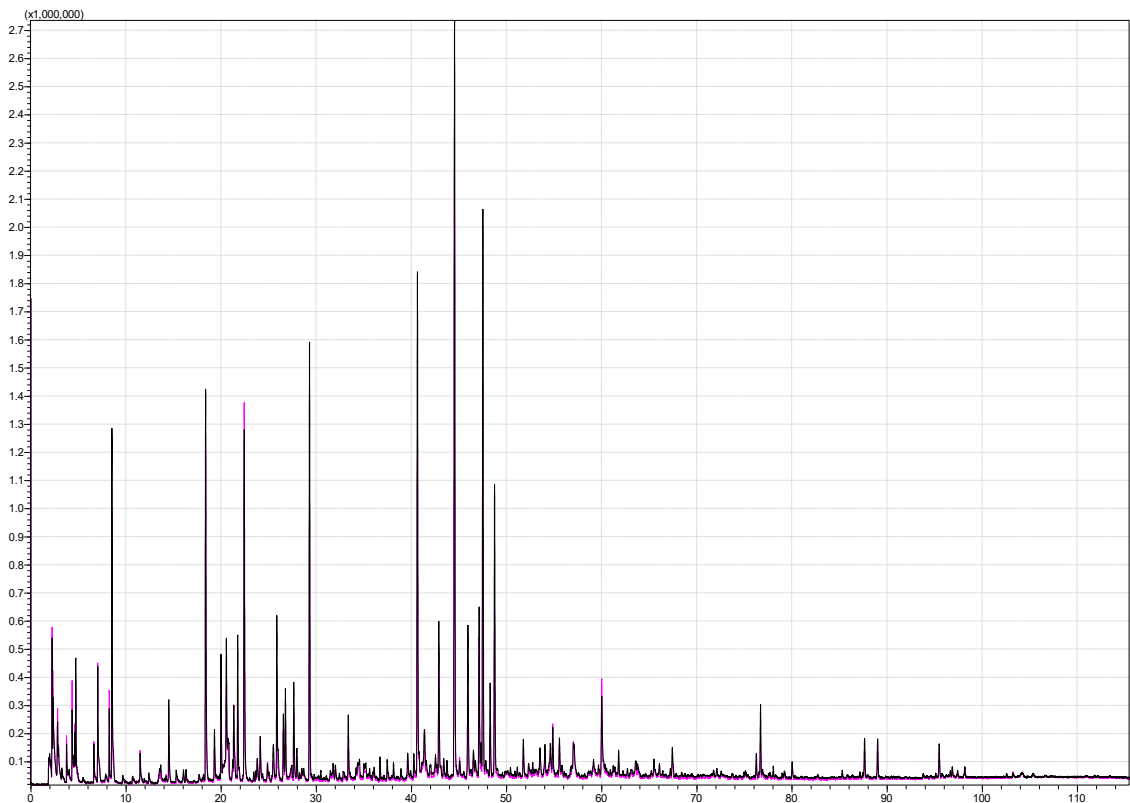
Příloha 22: Chromatogram těkavých složek směsného oleje po extrakci za teploty 170 °C (černá křivka) a 200 °C (růžová křivka) pomocí šedého vlákna



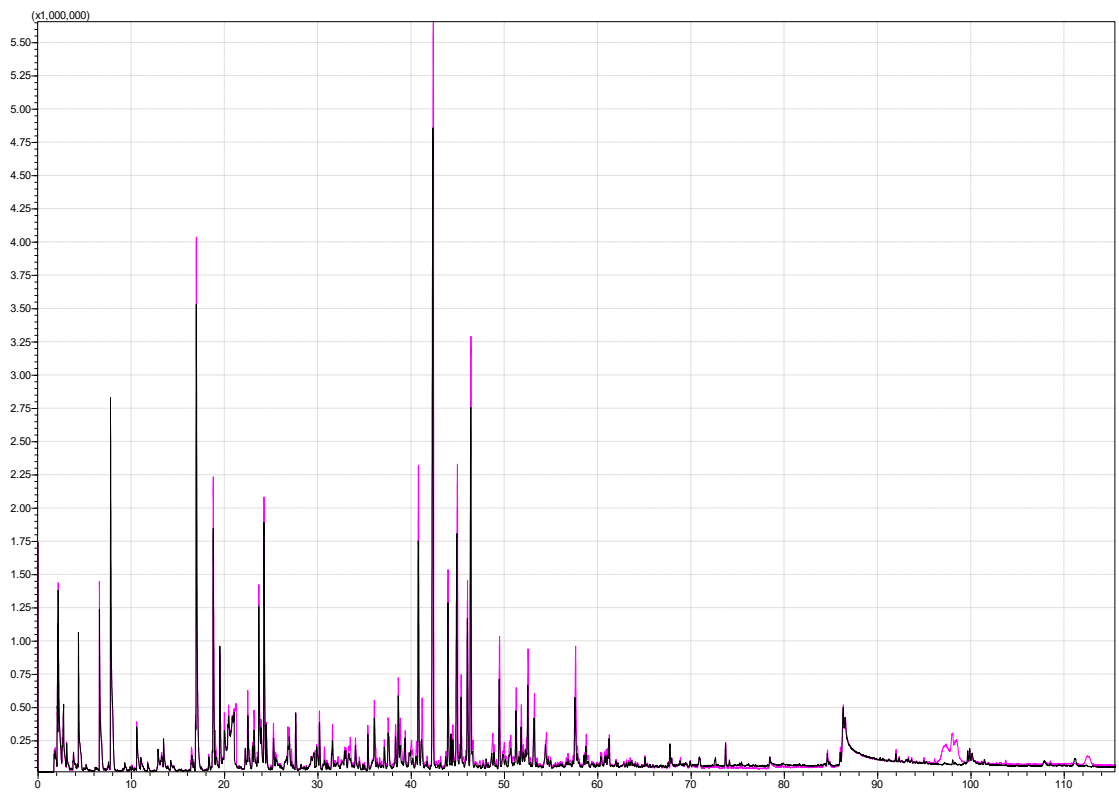
Příloha 23: Chromatogram těkavých složek směsného oleje po extrakci za teploty 170 °C pomocí červeného (černá křivka) a šedého (růžová křivka) vlákna



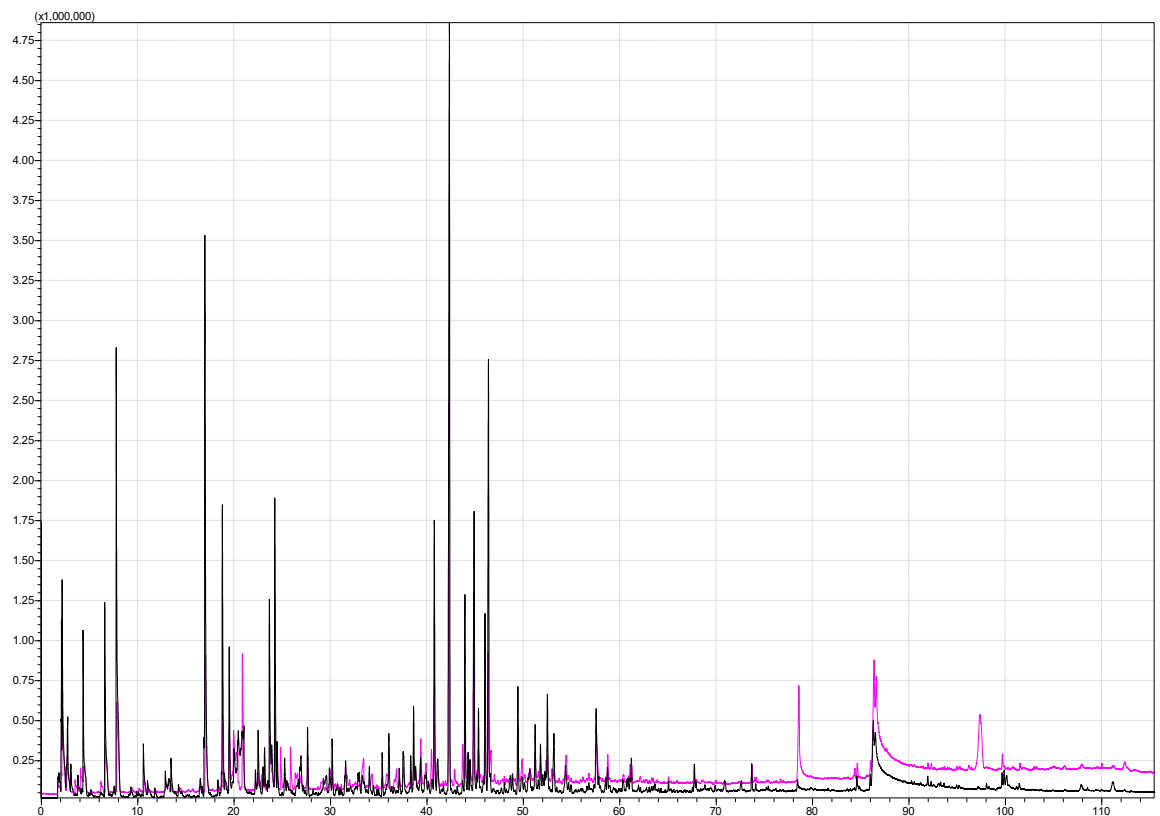
Příloha 24: Chromatogram těkavých složek: porovnání extrakce navážky 100 (černá křivka) a 250 mg (růžová křivka) směsného oleje při teplotě extrakce 170 °C pomocí šedého vlákna



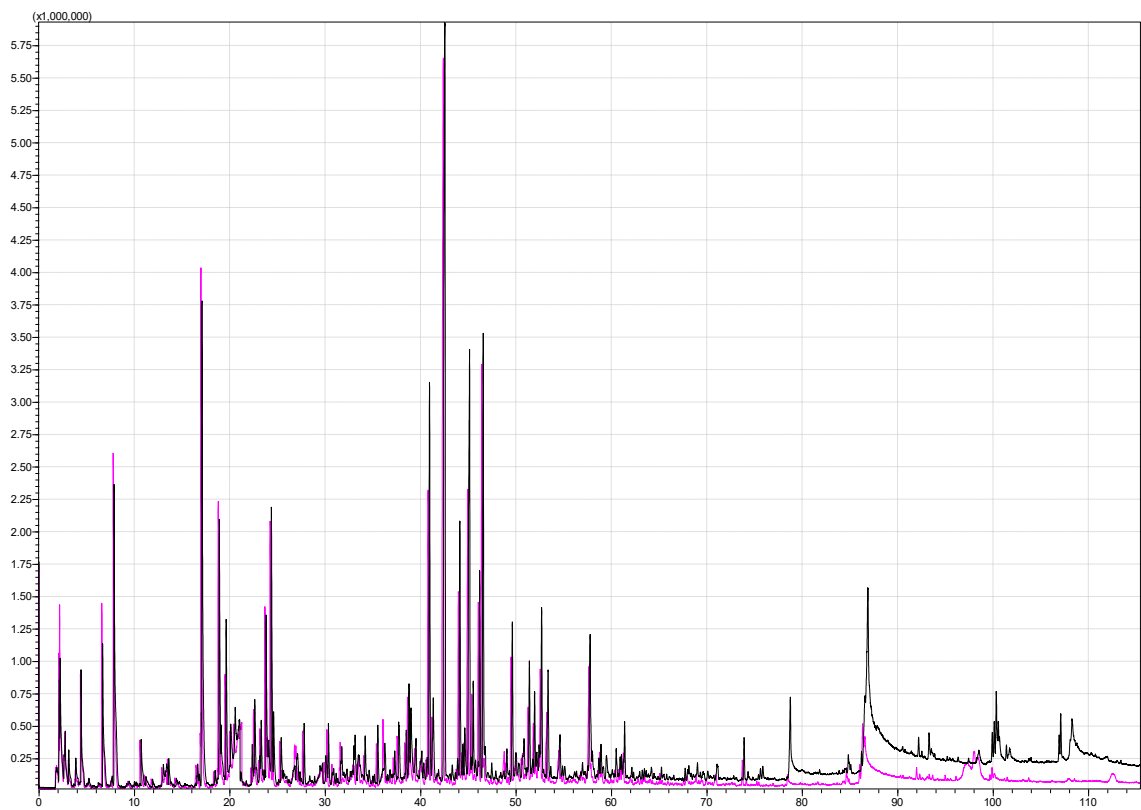
Příloha 25: Porovnání chromatogramů těkavých látek vzorku 1 (černá křivka) a pupalkového oleje (růžová křivka)



Příloha 26: Porovnání chromatogramů těkavých látek vzorku 1 (černá křivka) a konopného oleje (růžová křivka)



Příloha 27: Porovnání chromatogramů těkavých látek vzorku 2 (černá křivka) a pupalkového oleje (růžová křivka)



Příloha 28: Porovnání chromatogramů těkavých látek vzorku 2 (černá křivka) a konopného oleje (růžová křivka)

