

Stanovení oxidační stability Iněného oleje

Bc. Černá Helena

Diplomová práce
2021

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Helena Černá
Osobní číslo: T19414
Studijní program: N0721A210004 Technologie potravin
Studijní obor: Technologie potravin
Forma studia: Kombinovaná
Téma práce: Stanovení oxidační stability lněného oleje

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část –*Prosím změnit na:*

1. Charakteristika lněného oleje.
2. Popis změn při stárnutí a oxidaci lněného oleje.
3. Metody stanovení oxidační stability lněného se zaměřených na metody použité v experimentální části práce.

II. Praktická část *Prosím změnit na:*

1. Stanovení složení mastných kyselin.
 2. Stanovení peroxidového čísla
 3. Stanovení oxidační stability na přístroji Rancimat.
 4. Porovnání použitých metod a diskuze výsledků.
-

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] SHAHIDI, Fereidoon. 2005. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Volumes 1-6 (6th Edition). John Wiley & Sons
- [2] BARRIUSO, Blanca, Iciar ASTIASARÁN a Diana ANSORENA. A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. European Food Research and Technology. 2013, 236(1), 1-15
- [3] AHMED, M., J. PICKOVA, T. AHMAD, M. LIAQUAT, A. FARID, M. JAHANGIR. Oxidation of lipids in foods. Sarhad Journal of Agriculture. 2016, 32(3), 230-238

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Martina Bučková, Ph.D.**
Ústav analýzy a chemie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 8. února 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Pro své unikátní složení disponuje lněný olej významnou nutriční hodnotou, avšak vzhledem k vysokému obsahu polynenasycených mastných kyselin snadno podléhá degradačním reakcím. Diplomová práce se zabývá sledováním těchto změn u vzorků za studena lisovaného lněného oleje společnosti Bewit, které byly vystavovány různým skladovacím podmínkám. Teoretická část práce je věnována složení lněného oleje, jeho výživovým vlastnostem a také běžným oxidačním reakcím. Praktická část práce je zaměřena na stanovení oxidační stability lněného oleje. Prostřednictvím plynové chromatografie bylo u vybraných vzorků olejů stanoveno složení mastných kyselin. U všech vzorků oleje byla dále stanovena jejich antioxidační kapacita systémem Photochem a peroxidové číslo, které patří mezi běžné ukazatele určující kvalitu olejů. Pomocí přístroje Rancimat 892 byla u vybraných vzorků lněného oleje čistého a s přidaným antioxidantem sledována jejich oxidační stabilita metodou zrychlené oxidace.

Klíčová slova: lněný olej, oxidace, mastné kyseliny, peroxidové číslo, antioxidační kapacita, Photochem, oxidační stabilita, Rancimat

ABSTRACT

Linseed oil has significant nutritional value due to its unique composition, but is easily subject to degradation reactions due to its high content of polyunsaturated fatty acids. The diploma thesis deals with the monitoring of these changes in cold-pressed linseed oil samples made by Bewit company, which were subjected to different storage conditions. The theoretical part of the work is devoted to the composition of linseed oil, its nutritional properties and also common oxidation reactions. The practical part of the work is focused on determining the oxidative stability of linseed oil. Through gas chromatography, the composition of the fatty acids was determined for the selected oil samples. For all oil samples, their antioxidant capacity was further determined by the Photochem system and the peroxide number, which are among the common indicators determining the quality of oils. Using the Rancimat 892 device, selected samples of pure linseed oil and with added antioxidant were monitored for oxidation stability by the accelerated oxidation method.

Keywords: linseed oil, oxidation, fatty acids, peroxide number, antioxidant capacity, Photochem, oxidative stability, Rancimat

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí své diplomové práce Mgr. Martině Bučkové, Ph.D. za odborné vedení, vstřícný přístup, trpělivost a za všechny čas, který mi věnovala. Také bych ráda poděkovala Ing. Lence Fojtíkové a paní Renatě Zelinové za pomoc v laboratoři.

Dále bych chtěla poděkovat firmě BEWIT FRANCHISE s.r.o. za poskytnutí vzorků lněného oleje, které byly použity v experimentální části práce.

Na závěr bych chtěla vyjádřit velké díky mému partnerovi, rodině a přátelům za jejich trpělivost po celou dobu studia.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 HISTORICKÉ UŽITÍ LNĚNÉHO OLEJE	11
CHARAKTERISTIKA LNĚNÉHO OLEJE	12
1.1 SLOŽENÍ LNĚNÉHO OLEJE	12
1.1.1 Mastné kyseliny	12
1.1.2 Doprovodné látky	15
1.1.3 Vliv antioxidantů na oxidační stabilitu olejů	21
1.2 VÝŽIVOVÉ VLASTNOSTI LNĚNÉHO OLEJE.....	23
1.2.1 Imunitní systém, regulace zánětu	25
1.2.2 Antioxidační vlastnosti.....	27
1.2.3 Stav kardiovaskulárního systému	28
1.2.4 Hojení ran.....	29
1.2.5 Zdraví očí	29
1.2.6 Stav gastrointestinálního traktu.....	30
1.2.7 Hormonální systém	30
2 POPIS ZMĚN PŘI STÁRNUTÍ A OXIDACI LNĚNÉHO OLEJE	31
2.1 CHEMICKÉ ZMĚNY DOPROVÁZEJÍCÍ STÁRNUTÍ A OXIDACI LNĚNÉHO OLEJE.....	32
2.1.1 Autooxidace	32
2.1.2 Fotooxidace	36
2.1.3 Enzymová oxidace	37
2.1.4 Rozkladné produkty oxidačních reakcí.....	38
2.2 FYZIKÁLNÍ ZMĚNY DOPROVÁZEJÍCÍ STÁRNUTÍ A OXIDACI LNĚNÉHO OLEJE.....	40
3 METODY STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY LNĚNÉHO OLEJE	41
3.1 STANOVENÍ SLOŽENÍ MASTNÝCH KYSELIN – PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE	41
3.2 JODOMETRICKÉ STANOVENÍ PEROXIDOVÉHO ČÍSLA.....	42
3.3 STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY SYSTÉMEM PHOTOCHEM.....	42
3.4 STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY PŘÍSTROJEM RANCIMAT.....	43
II PRAKTICKÁ ČÁST	44
4 CÍL PRÁCE	45
5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE	46
5.1 MATERIÁL	46
5.2 CHEMIKÁLIE.....	48
5.3 ANTIOXIDANTY	49
5.4 STANDARDY	49
5.5 LABORATORNÍ POMŮCKY A PŘÍSTROJE	49
5.6 SOFTWAREY	50

6	METODIKA	51
6.1	STANOVENÍ SLOŽENÍ MASTNÝCH KYSELIN	51
6.1.1	Příprava methyl-esterů	51
6.1.2	Vlastní stanovení mastných kyselin	51
6.2	JODOMETRICKÉ STANOVENÍ PEROXIDOVÉHO ČÍSLA	52
6.2.1	Příprava nasyceného roztoku jodidu draselného	52
6.2.2	Příprava roztoku thiosíranu sodného	52
6.2.3	Stanovení přesné koncentrace thiosíranu sodného	52
6.2.4	Vlastní stanovení peroxidového čísla	53
6.3	STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY LNĚNÉHO OLEJE	54
6.3.1	Měření slepého pokusu	54
6.3.2	Kalibrace	54
6.3.3	Příprava methanolických roztoků vzorků	55
6.3.4	Vlastní stanovení antioxidační kapacity lněného oleje	55
6.4	STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY PŘÍSTROJEM RANCIMAT	55
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	57
7.1	ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN	57
7.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ PEROXIDOVÉHO ČÍSLA	58
7.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY LNĚNÉHO OLEJE	60
7.4	VÝSLEDKY STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY PŘÍSTROJEM RANCIMAT	61
7.4.1	Oxidační stabilita vzorků lněných olejů	62
7.4.2	Oxidační stabilita vzorků lněných olejů s přídavkem antioxidantu	65
	ZÁVĚR	69
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	78
	SEZNAM TABULEK	81
	SEZNAM PŘÍLOH	82

ÚVOD

Lněný olej je v potravinářském průmyslu rostlinným olejem méně významným. Pro jeho přirozené složení a z něj vyplývající vlastnosti je jako surovina používán pouze zřídka a jako jedlý olej má své využití zejména ve studené kuchyni. Avšak díky výživovým vlastnostem, zejména pro vysoký obsah esenciálních polynenasycených omega-3 a omega-6 mastných kyselin se již desítky let těší velké oblibě. Kromě hlavních složek, triacylglycerolů, obsahuje lněný olej také další doprovodné sloučeniny, jako jsou β -karoten, deriváty vitamínu E a další látky s antioxidační aktivitou. Avšak ve srovnání s ostatními rostlinnými oleji, vzhledem ke složení mastných kyselin, je jeho oxidační stabilita nízká.

Oxidace je proces v lněném oleji přirozeně probíhající a je hlavní příčinou jeho stárnutí. Rozsah oxidace a přítomnost oxidačních produktů jsou parametry sloužící k hodnocení jeho kvality.

Pro sledování oxidace je v praxi využíváno četných analytických metod a přístrojů. Ke stanovení rozsahu oxidace je nejčastěji využíváno stanovení tukových čísel, p-anisidinového, peroxidového, thiobarbiturového, čísla kyselosti a dalších čísel. Tato stanovení jsou však zdlouhavá a vyžadují použití chemických činidel. Relativně jednoduchou metodou s nízkými nároky na obsluhu, která stárnutí olejů vyhodnocuje kontinuálně je metoda urychlené oxidace. Urychlení oxidačních procesů v oleji je způsobeno kontrolovaným zvýšením teploty a přívodem vzduchu pomocí přístroje Rancimat 892.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 HISTORICKÉ UŽITÍ LNĚNÉHO OLEJE

Len setý (*Linum usitatissimum* L.) je historicky významnou rostlinou, jejíž původ je směřován do oblasti středomoří. Často bývá považován za takzvanou „zakládající zemědělskou plodinu“, protože patří mezi jednu z prvních domestikovaných plodin vůbec. Archeologické vykopávky dokonce naznačují, že oválná semínka divokých odrůd lnu byla lidmi známa a využívána již mnohem dříve [1,2]. Latinský název *Linum usitatissimum* zcela vystihuje všestrannost a užitečnost této rostliny. Slovo *Linum*, odvozené z keltského slova *lin*, v překladu znamená vlákno. *Usitatissimum* znamená užitečný [2].

Pro svou vysokou nutriční hodnotu sloužila lněná semena především k výživě lidí. S příchodem prvních lisů byl z lněných semen následně lisován první lněný olej. Zbylé výlisky, odpadní produkty lisování, sloužily k výrobě lněného vlákna, různých typů textilií a dalších vysoce odolných materiálů [2].

Pro jeho unikátní vlastnosti jej používali i malíři již v 18. století. Nejen že se Lněný olej lehce roztírá, ale také velmi rychle zasychá za tvorby tenkého filmu s dobrými mechanickými a optickými vlastnostmi [3]. Zasychání a vytvrzování lněného oleje je stále předmětem mnoha vědeckých studií. Aktuálně jsou jeho vytvrzovací vlastnosti spojovány zejména s rozsáhlým průběhem autooxidace za vzniku polymerních struktur. Z provedených vědeckých studií dále vyplývá, že za studena lisované lněné oleje s vyšším množstvím pigmentů polymerují mnohem rychleji než oleje částečně či plně rafinované [3,4]. Díky vysychavým vlastnostem má lněný olej široké využití také při výrobě různých typů barev a laků [5].

CHARAKTERISTIKA LNĚNÉHO OLEJE

Lněný olej je rostlinný olej získávaný ze semen lnu setého, které ve svém složení obsahují až 46 % tukového podílu [2,6]. Čerstvě lisovaný olej disponuje žlutou, v některých případech až zlatavou, barvou a jemnou chutí s doznívajícími hořkými podtóny [6,7].

Složení lněného oleje se může, v závislosti na původu a podmínkách pěstování výchozích lněných semen, mírně lišit. Důraz je kladen také na teplotu a další podmínky, kterým je olej v rámci lisování, skladování a následné manipulace vystavován [2,8].

Vzhledem k vysokému podílu nenasycených mastných kyselin, zejména kyseliny α -linolenové, je lněný olej řazen do skupiny rostlinných olejů vysychavých [7,9]. Nenasycené mastné kyseliny a další, v lněném oleji přirozeně přítomné, látky tak souvisejí nejen s jeho fyzikálními vlastnostmi. Vyplývají z nich také vlastnosti výživové a často spekulovaná oxidační stabilita [6,10].

Následující kapitoly jsou věnovány detailnějšímu složení za studena lisovaného lněného oleje, z něj vyplývajícím výživovým vlastnostem a také jeho oxidační stabilitě.

1.1 Složení lněného oleje

Obecně jsou rostlinné oleje děleny do jednotlivých skupin zejména dle typů a množství v nich obsažených mastných kyselin (MK). Obsah MK je spojován nejen s jejich nutriční hodnotou, ale také s oxidační stabilitou, důležitým parametrem souvisejícím s trvanlivostí a organoleptickými vlastnostmi jednotlivých typů olejů.

Na oxidační stabilitu rostlinných olejů mohou mít vliv také další, v olejích přirozeně přítomné, sloučeniny. Mohou to být v tuku rozpustné vitamíny, polyfenolické a další aktivní látky.

1.1.1 Mastné kyseliny

Lněný olej je považován především za zdroj polynenasycených a mononenasycených mastných kyselin. Obecně se však množství hlavních mastných kyselin může mírně lišit, a to v závislosti na podnebí, sezóně či na dalších podmínkách, kterým je len setý během pěstování vystavován. Bylo zjištěno, že olej lisovaný ze semínek rostoucích v severských zemích obsahuje vyšší množství nenasycených mastných kyselin, na úkor mastných kyselin s nasyceným řetězcem [11]. Zatímco olej lisovaný ze semínek původem z Finska obsahoval 59,6 % polynenasycené mastné kyseliny α -linolenové, olej lisovaný ze semínek z Austrálie

obsahoval 45,8 % této mastné kyseliny [6,9]. Z toho důvodu je procentuální obsah hlavních mastných kyselin uváděn číselným rozmezím [7,9].

Z polynenasycených mastných kyselin je ve lněném oleji, v nevyšším množství, obsažena kyselina α -linolenová (C18:3), jejíž obsah se pohybuje v rozmezí 35-65 % [1,10,12,13]. Dále pak kyselina linolová (C18:2) zastupující 7-27 % [7,8,13]. Obě tyto mastné kyseliny jsou řazeny do skupiny esenciálních mastných kyselin, které si lidský organismus nedokáže syntetizovat sám a musí být tudíž přijímány spolu se stravou. V lněném oleji jsou navíc obsaženy v poměrně vysokém množství, což lněnému oleji udává zajímavé nutriční vlastnosti. Nevýhodou polynenasycených mastných kyselin však může být jejich nízká oxidační stabilita, která se podílí nejen na trvanlivosti lněného oleje [9]. Problematika výživových vlastností a oxidační stability lněného oleje je detailněji popsána v kapitolách 2.2 a 3.1.

Z mononenasycených mastných kyselin je ve lněném oleji v nejvyšším množství obsažena kyselina olejová (C18:1). Její obsah se obvykle pohybuje v rozmezí 12-34 % [7,13].

Lněný olej je také zdrojem mastných kyselin s nasyceným řetězcem [14]. Kyselina palmitová (C16:0) je zastoupená ze 4-7 % a kyselina stearová (C18:0) ze 2-5 % [7,11]. Jejich obsah je však oproti nenasyceným mastným kyselinám mnohem nižší.

Procentuální zastoupení jednotlivých typů MK je uvedeno v tabulce 1.

Tabulka 1 Procentuální zastoupení mastných kyselin ve lněném oleji [7]

Mastná kyselina	Množství [%]
palmitová (C16:0)	4-7
stearová (C18:0)	2-5
olejová (C18:1)	12-34
linolová (C18:2)	7-27
linolenová (C18:3)	35-65

Lněný olej je dokonce považován za nejlepší zdroj MK linolenové. Pro srovnání je v tabulce 2 uveden procentuální obsah této MK ve vybraných rostlinných olejích.

Tabulka 2 Procentuální zastoupení kyseliny linolenové v rostlinných olejích [7,15]

Rostlinný olej	Kyselina linolenová (C18:3) [%]
Lněný	35-65
Konopný	14-28
Hořčičný	6-18
Řepkový	5-13
Sójový	5,5-9,5
Pšeničný (z klíčků)	3,5-7,0
Avokádový	0-2
Olivový	0-1,5
Kukuřičný	0,7-1,3
Sezamový	0,3-0,4
Bavlníkový	0,0-0,4
Lískový	0,0-0,2
Světlicový	0,0-0,1
Podzemnicový	0
Slunečnicový	0
Mandlový	0
Makový	0

Z hodnot uvedených v tabulce číslo 2 vyplývá, že významným zdrojem kyseliny linolenové je, po lněném oleji, olej konopný, který může obsahovat až 28 % této MK. Méně významnými zdroji kyseliny linolenové jsou pak olej hořčičný, s obsahem až 18 %, řepkový (do 13 %), sójový (do 9,5 %) a olej z pšeničných klíčků (do 7 %). Malé množství kyseliny linolenové pak obsahují rostlinné oleje avokádový, olivový, kukuřičný, sezamový, bavlníkový, lískový a světlicový, u kterých se obsah této MK pohybuje okolo 1 %. U oleje podzemnicového, slunečnicového, mandlového či makového kyselina linolenová detekována nebyla.

Kyselina linolenová se obecně v rostlinných olejích nachází ve dvou základních formách. Jedná se o formu alfa, tedy o kyselinu α -linolenovou, a formu gama, kyselinu γ -linolenovou.

V tabulce 3 jsou uvedené procentuální rozmezí obsažených mastných kyselin α -linolenové (ALA) a γ -linolenové ve lněném a konopném oleji, které jsou obecně považovány za jejich nejlepší zdroj.

Tabulka 3 Procentuální zastoupení kyseliny α -linolenové a γ -linolenové v konopném a lněném oleji [16].

Rostlinný olej	α -linolenová [%]	γ -linolenová [%]
Lněný	35-65	-
Konopný	15-37	0,5-6

Lněný olej je zdrojem pouze ALA, která tvoří až 65 % z celkového množství MK. Konopný olej kromě ALA obsahuje navíc malé množství kyseliny γ -linolenové, která může, z celkového množství obsažených MK, zastupovat až 6 %.

1.1.2 Doprovodné látky

Lněný olej je kromě mastných kyselin zdrojem širokého spektra dalších látek, které mohou mít vliv na nejen na jeho nutriční a organoleptické vlastnosti, ale tak jako již zmíněné mastné kyseliny se podílí také na jeho oxidační stabilitě, parametru souvisejícím s trvanlivostí. Zastoupení těchto doprovodných látek se odvíjí také od původu semínek a způsobu získávání výsledného oleje [2,6].

Příkladem mohou být látky ze skupiny fenolických sloučenin. Obsah těchto sloučenin je vyšší u olejů získávaných procesem lisování než u olejů získávaných extrakčními metodami za použití organických rozpouštědel [17]. Jejich obsah se odvíjí také od množství vodné a olejové fáze. Voda je v rostlinných olejích obsažena v minimálním množství. Tudiž je obsah ve vodě rozpustných sloučenin ve srovnání se skupinou látek rozpustných v tucích mnohem nižší [2,18].

Ze sloučenin rozpustných ve vodné fázi je v nejvyšším množství obsažena fenolická sloučenina vanilin, která tvoří až 45 % z obsažených hydrofilních látek. Přítomny jsou dále nehydrolyzovatelné sloučeniny protoantokyanidiny v množství 5,4 % a hydrolysabletaniny zastupující 3 %. V menším množství pak kyseliny kumarová, ferulová, kávová, koniferyl a malé množství flavonoidů, přesněji derivátů luteolinu a kaempferolu [2,18].

Množství látek rozpustných v tucích je ve srovnání s předcházející skupinou mnohem vyšší. Z této skupiny látek je v nejvyšším množství obsažen γ -tokoferol, který tvoří 47,4 %, z obsažených lipofilních látek. Ve významném množství je obsažen také β -karoten zaujímaví 23,8 %, v tuku rozpustných aktivních látek. Dále jsou ve lněném oleji přítomny v tuku rozpustné sloučeniny plastochromanol-8 (21,5 %), lutein (4,8 %), α -tokoferol (1,5 %) a δ -tokoferol (0,9 %) [2,13,18,19].

Obsah, v lněném oleji přítomných, hydrofilních a hydrofobních doprovodných látek je uveden v tabulce 4. Hodnoty udávající množství doprovodných sloučenin jsou zcela orientační a v závislosti na různých typech lněných olejů se mohou lišit.

Tabulka 4 Zastoupení aktivních sloučenin ve lněném oleji [2,18]

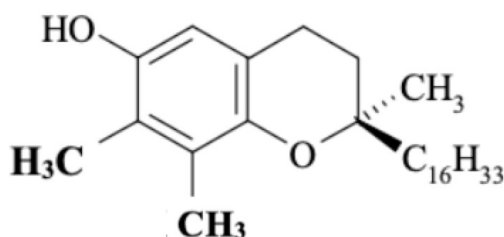
Doprovodné látky	Množství [$\mu\text{g/ g}$]
Ferulová kyselina	0,008
Kumarová kyselina	0,005
Kávová kyselina	0,002
Vanilin	0,023
Syringaldehyd	0,004
Koniferyl aldehyd	0,005
Proanthokyanidin	0,002
Hydrolyzovatelné taniny	0,003
γ -tokoferol	298,400
α -tokoferol	8,000
δ -tokoferol	5,000
Plastochromanol-8	135,000
Lutein	29,270
β -Karoten	150,000

Z uvedených dat vyplývá, že obsah sloučenin lipofilních je v porovnání se sloučeninami hydrofilními několikanásobně vyšší.

Vzhledem k množství obsažených doprovodných látek bude v následujících kapitolách věnována pozornost především látkám s účinkem vitamínu E, přesněji derivátům tokoferolu a dále pak v tuku rozpustnému barvivu β -karotenu a sloučenině zvané plastochromanol-8 [2].

1.1.2.1 Deriváty tokoferolů

Tokoferoly jsou sloučeniny se strukturou odvozenou od chroman-6-olu, které jsou dle počtu a polohy methylových skupin vázaných na benzenové jádro děleny na α -tokoferoly, β -tokoferoly, γ -tokoferoly a δ -tokoferoly [20,21,22]. Jedná se o látky s prokázanou antioxidační aktivitou, z nichž je ve lněném oleji v nejvyšším množství přítomen γ -tokoferol, jak vyplývá již z tabulky 4 [21]. Struktura γ -tokoferolu je znázorněna na obrázku 1.



Obrázek 1 – Struktura γ -tokoferolu [21]

Tokoferoly jsou přirozenou součástí lněných semen, kde plní funkci antioxidantů. A jelikož se jedná o látky rozpustné v tucích, přecházejí v rámci lisování do výsledného lněného oleje [23]. Obsah tokoferolů ve lněném oleji se může lišit v závislosti na původu výchozích semen a také způsobu získávání lněného oleje. Bylo také zjištěno, že množství tokoferolů ve lněném oleji roste s rostoucím obsahem nenasycených mastných kyselin [24].

Z tokoferolů je ve lněném oleji v nejvyšším množství obsažen již zmíněný γ -tokoferol, který tvoří až 95,8 % z celkového množství obsažených tokoferolů. V malém množství jsou ve lněném oleji obsaženy také α -tokoferol (2,6 %) a δ -tokoferol (1,6 %). Antioxidační aktivita derivátů tokoferolů klesá v pořadí $\alpha > \beta > \gamma > \delta$. Obecně se uvádí, že jedna molekula vysoce účinného α -tokoferolu může reagovat až se 120-ti molekulami singletového kyslíku [25].

Pro srovnání je v tabulce 5 uvedeno množství γ -tokoferolu v oleji lněném, řepkovém, sójovém a kukuřičném.

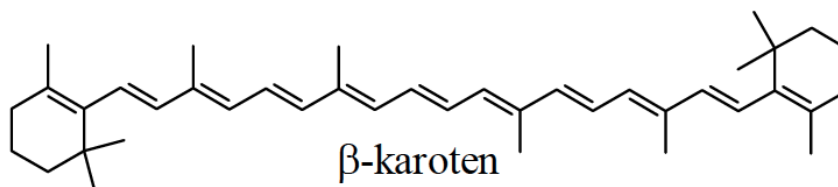
Tabulka 5 Obsah γ -tokoferolu v rostlinných olejích [18,19]

Rostlinný olej	Množství [mg/100 g]
Lněný	29,84
Řepkový	83,40
Sójový	117,10
Kukuřičný	157,70

Obsah γ -tokoferolu ve lněném oleji v porovnání s olejem řepkovým, sójovým či kukuřičným několika násobně nižší. Což v souvislosti s přirozeným složením lněného oleje a obsahem MK může souviset taktéž s jeho nízkou oxidační stabilitou [26].

1.1.2.2 β -karoten

Jedná se o acyklickou polyenovou sloučeninu se strukturou odvozenou od tetraterpenů. β -karoten je obecně řazen do skupiny látek zvaných karotenoidy. Tyto sloučeniny byly poprvé izolovány z mrkve již v roce 1831 a o 100 let později se ukázalo, že se jedná o 3 izomery α -karoteny, β -karoteny a γ -karoteny, ze kterých je nejvíce známý právě β -karoten, jehož struktura je znázorněna na obrázku 2 [27].

Obrázek 2 – Struktura β -karotenu [27]

Značně rozšířený β -karoten je přirozeně vyskytujícím se lipofilním pigmentem rostlin, přesněji nositelem žlutého a oranžového zbarvení. Výjimečně se může podílet i na žlutozelených a červených odstínech [27].

Vyskytuje se také ve lněných semenech a jeho množství se může lišit v závislosti na odrůdě lněných semen, sezóně a na dalších podmínkách, kterým jsou lněná semena během pěstování vystavována. Důležitým parametrem je také stupeň zralosti sklizených lněných semen. Semena musí být sklizena ve stádiu plné zralosti, kdy v semenech již ustala fotosyntéza, obsah chlorofylu je zanedbatelný a semena disponují požadovanou barvou a složením.

Nezralá lněná semena mohou být příčinou zelených odstínů lněného oleje, které jsou nežádoucí [19,27].

Obsah β -karotenu, ve výsledném lněném oleji, je také závislý na technologických procesech, prostřednictvím kterých je lněný olej získáván. Studie uvádějí, že přírodní β -karoten je přítomen pouze v za studena lisovaných olejích [19]. Během rafinace, bělení či dezodorizaci je obsah β -karotenu totiž rapidně snižován a ve zpracovaných olejích se tak již skoro nevyskytuje. Naopak přírodní β -karoten přidávaný jako aditivum do různých typů potravin může být izolován právě z vedlejších produktů vznikajících při zpracování surových olejů [17].

Obecně je proces lisování za studena považován za jeden z nejšetrnějších způsobů získávání oleje. Avšak růstu teploty během lisování nelze zabránit. β -karoteny jsou však látky relativně tepelně stabilní a možné izomerační reakce probíhají až při vyšších teplotách, například při teplotách sterilizačních, kdy může docházet k fragmentaci karotenů za vzniku těkavých produktů. Teploty vyvíjené během lisování na obsah β -karotenů nemají až takový vliv. Všeobecně je však doporučováno, aby bylo nadměrné tepelné namáhání lněného oleje minimalizováno [28].

Dalším faktorem vedoucím k degradaci β -karotenů je vystavování lněného oleje UV záření a taktéž vzdušnému kyslíku. Lněný olej by tudíž měl být ihned po lisování lahvován do tmavých lahví a mělo by být zabráněno nadbytečnému kontaktu surového oleje s kyslíkem [17,19,28].

Z pohledu antioxidačních účinků jsou β -karoteny látky s poměrně vysokou antioxidační aktivitou. Některé studie uvádí, že antioxidační aktivita β -karotenu je dokonce vyšší než u již zmíněných tokoferolů [28].

Pro srovnání je v tabulce 6 uvedeno množství β -karotenu v oleji lněném, řepkovém, sójovém a kukuřičném.

Tabulka 6 Obsah β -karotenu v rostlinných olejích [18,19]

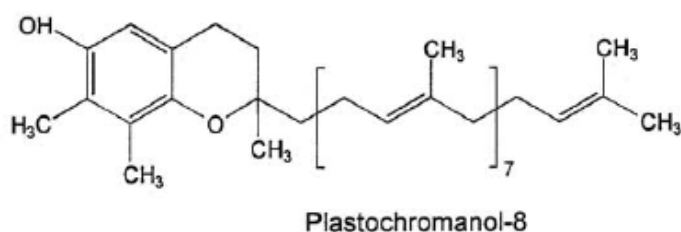
Rostlinný olej	Množství [mg/ 100 g]
Lněný	15,01
Řepkový	8,09
Sójový	2,73
Kukuřičný	3,56

Obsah β -karotenu je v porovnání s řepkovým, sójovým či kukuřičným olejem nejvyšší. I přes zdánlivě vysoké množství však tvoří pouze 15,01 mg na 100 g oleje, což je v porovnání s γ -tokoferolem, dosahujícího hodnot 29,84 mg na 100 g oleje, množství poloviční. I když je antioxidační aktivita β -karotenu uváděna jako vyšší než antioxidační aktivita γ -tokoferolu, vzhledem k přirozenému složení však vysokou oxidační stabilitu lněného oleje nezajistí [29].

Přírodní β -karoten tak hraje roli především barviva zodpovědného za oranžové a zlatavé odstíny lněného oleje. Vyzdvihovány jsou také jeho nutriční vlastnosti [26].

1.1.2.3 *Plastochromanol-8*

Jedná se o analog oktaterpenylového postranního řetězce γ -tokotrienolu, tedy o účinnou formu vitamínu E [30,31]. Plastochromanol-8 byl objeven teprve před 50-ti lety a jeho funkce a biosyntéza byla prostudována a objasněna teprve nedávno [32]. Struktura plastochromanolu-8 je znázorněna na obrázku 3.



Obrázek 3 – Struktura plastochromanolu-8 [23]

Plastochromanol-8 je látka s poměrně významnými antioxidačními vlastnostmi [33].

Jeho antioxidační účinnost je dokonce srovnatelná s účinností α -tokoferolu, který je neúčinnějším derivátem tokoferolů. Jako tomu bylo u již zmíněných tokoferolů, tak i obsah plastochromanolu-8 ve lněném oleji roste s rostoucím množstvím polynenasycených mastných kyselin [24]. V rostlinách jsou plastochromanoly akumulovány zejména v olejnatých semenech, plodech a mladých tkáních, ve kterých probíhá intenzivní buněčné dělení [32]. Na rozdíl od derivátů tokoferolů není jejich přítomnost v rostlinných olejích tak častá [25].

Množství plastochromanolu-8 ve lněném, řepkovém, sójovém a kukuřičném oleji je uvedeno v tabulce 7.

Tabulka 7 Obsah plastochromanolu-8 v rostlinných olejích [13,23]

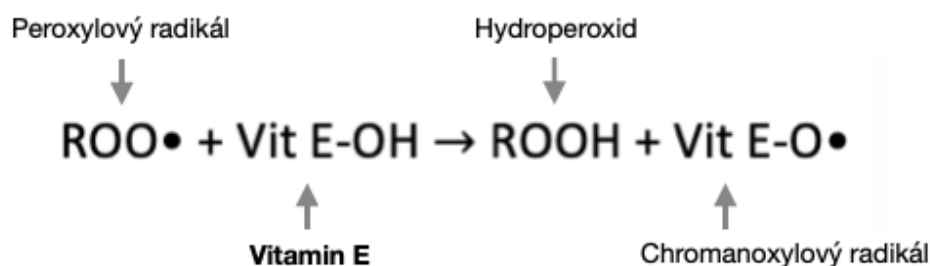
Rostlinný olej	Množství [mg/ 100 g]
Lněný	13,5
Řepkový	7,4
Sójový	0
Kukuřičný	7,1

Obsah plastochromanolu-8 je 13,5 mg na 100 g oleje, což je v porovnání s γ -tokoferolem obsah skoro poloviční, podobně jak tomu bylo u β -karotenu.

Vzhledem k přirozenému složení lněného oleje však plastochromanol-8 jeho vyšší oxidační stabilitu taktéž nezajistí [33].

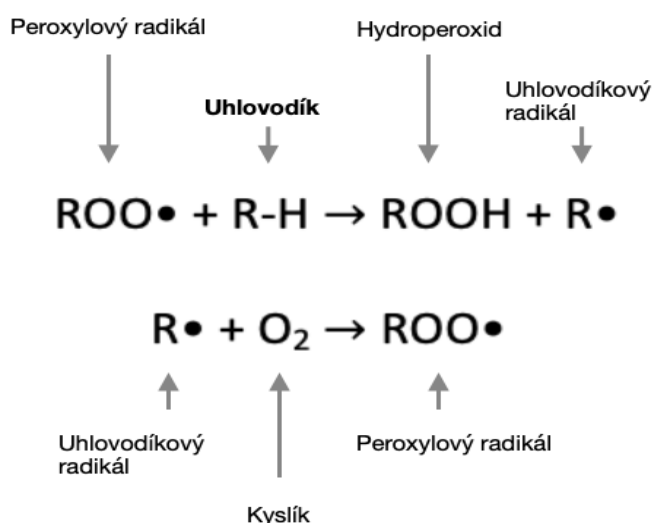
1.1.3 Vliv antioxidantů na oxidační stabilitu olejů

Antioxidanty jsou látky, které více či méně ovlivňují oxidační stabilitu rostlinných olejů. Ať už to jsou antioxidanty v oleji přirozeně přítomné nebo přidané, jejich přítomnost je opodstatněná. Za nejčastější antioxidanty přítomné v rostlinných olejích jsou považovány aktivní formy vitamínu E. Oxidací vzniklé hydroperoxydy, hydroxylové či peroxylové radikály reagují s vitamínem E až tisíckrát rychleji než s polynenasycenými mastnými kyselinami a brání tak rozsáhlejší oxidací reakcím [22,34]. Reakce účinné formy vitamínu E s peroxylovým radikálem za vzniku hydroperoxidu, primárního oxidačního produktu, je znázorněna na obrázku 4.



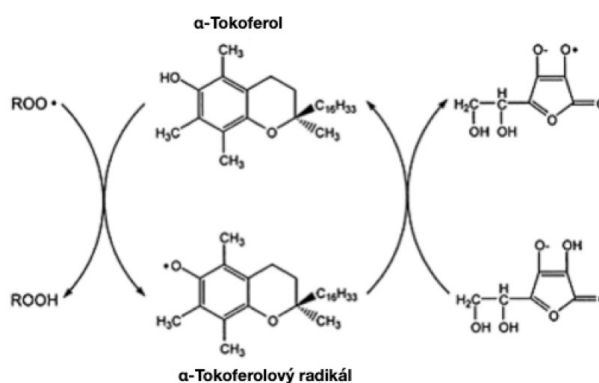
Obrázek 4 – Reakce peroxylového radikálu s účinnou formou vitamínu E [34]

Jelikož jsou v rostlinných olejích antioxidanty přítomny pouze v nízkých, stopových množstvích, pak nejsou oxidační procesy významně zpomalovány a průběh oxidace je rozsáhlejší. Vznikají vysoce reaktivní uhlovodíkové, hydroperoxylový a peroxylové radikály, které iniciují další oxidační reakce. Vystavování oleje UV záření navíc celý proces ještě umocňuje [22,34]. Průběh oxidace bez přítomnosti antioxidantu je znázorněn na obrázku 5, kdy peroxylový radikál nereaguje s molekulou antioxidantu, ale rovnou s molekulou uhlovodíku.



Obrázek 5 Reakce peroxylového radikálu s uhlovodíkem bez přítomnosti antioxidantu [34]

Obecně je přítomnost antioxidantů v rostlinných olejích velmi důležitým parametrem ovlivňujícím jak hygienicko-toxikologické tak sensorické vlastnosti olejů a potravin oleje obsahujících. Deriváty vitamínu E jsou navíc řazeny do skupiny takzvaných primárních antioxidantů, které reagují s volnými radikály přímo [7]. Vzniklé radikály tokoferolů však antioxidační aktivitu nevykazují a nemohou tak plnit svou roli, kvůli které byly do oleje přidány. Do olejů a potravin obsahující olejovou složku tudíž mohou být přidávány další formy antioxidantů za účelem regenerace vzniklých radikálů tokoferolů. Těchto regeneračních mechanismů je využíváno především při výrobě potravin, které kromě olejové složky obsahují také vodnou složku a další komponenty. Příkladem takového antioxidantu může být ve vodě rozpustná kyselina askorbová [22]. Regenerace α -tokoferolového radikálu kyselinou askorbovou je znázorněna na obrázku 6.



Obrázek 6 Regenerace α -tokoferolového radikálu kyselinou askorbovou [22]

Použití lněného oleje jako suroviny při výrobě potravin není, vzhledem k jeho nízké oxidační stabilitě, tak časté. Při zakomponování lněného oleje do receptur potravin je doporučováno obohatit potravinu o antioxidanty jako jsou askorbyl-palmitát, kyselina citronová, kyselina askorbová či α -tokoferol. Nejlépe o jejich směsi, protože antioxidační kapacita přirozeně obsažených antioxidantů není dostatečně účinná a poskytuje jen omezenou ochranu [2,19,25,31].

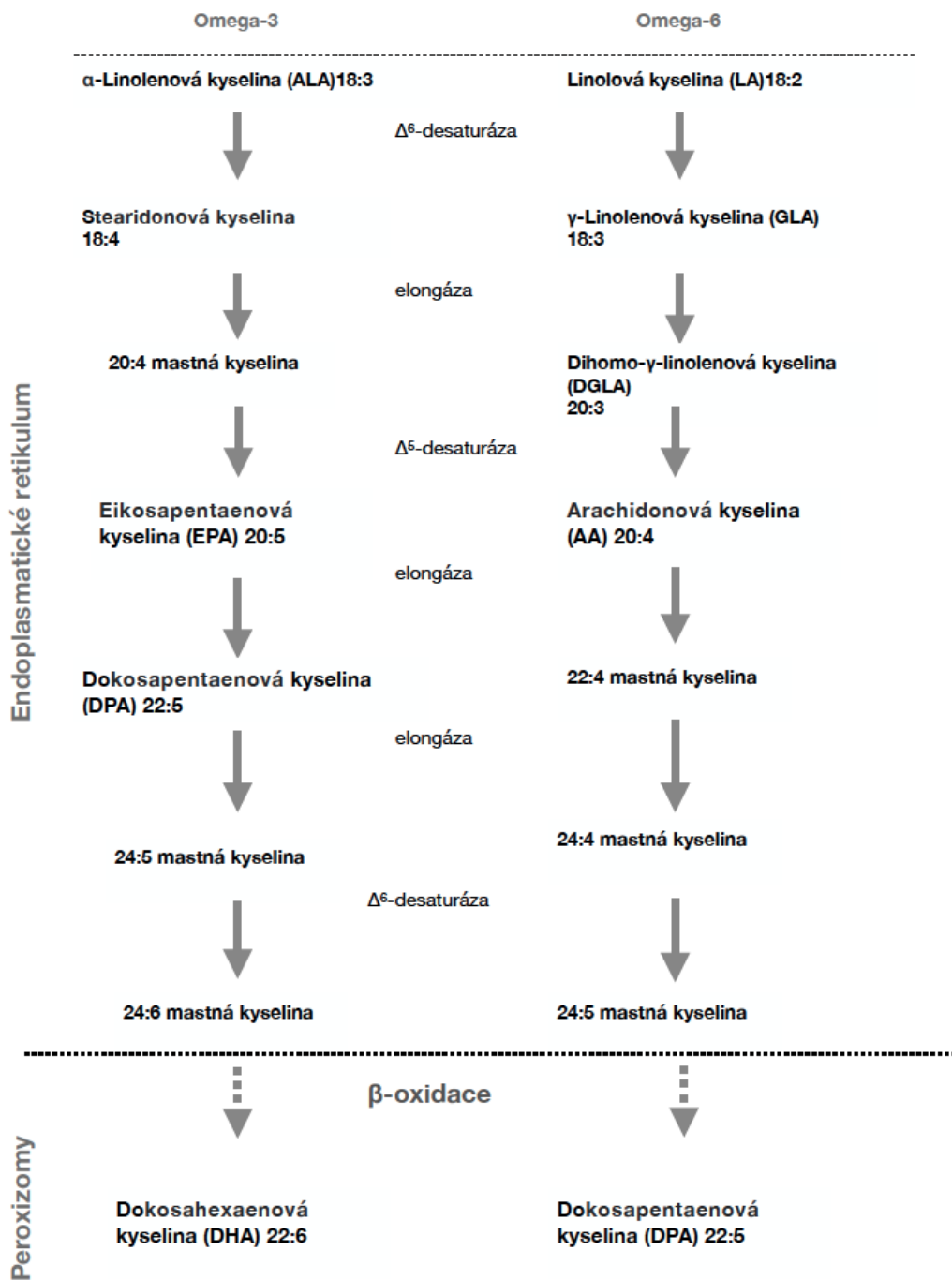
1.2 Výživové vlastnosti lněného oleje

Z výživového hlediska je lněný olej vyzdvihován zejména pro vysoký obsah omega-3 mastné kyseliny α -linolenové, která bývá zastoupena v množství přesahující až 50 %. Další vyzdvihovanou MK je také kyselina linolová, jejíž množství může přesahovat 20 % [35]. Konzumace olejů bohatých na omega-3 a omega-6 mastné kyseliny, jako je právě lněný olej je velmi prospěšná pro lidské zdraví a nespočet odborníků klade důraz na jejich dostatečný příjem [36]. Jedná se totiž o mastné kyseliny esenciální, které si lidský organismus nedokáže syntetizovat sám, protože k tomu nemá dostatečnou enzymovou výbavu.

Syntézy nenasycených mastných kyselin v lidském organismu se účastní skupina enzymů zvaných desaturázy, které mají různé reakční specifity. Žádný z těchto enzymů však nedokáže desaturovat vazby od devátého uhlíku a dále. Z toho důvodu si lidský organismus nedokáže omega-3 a omega-6 mastné kyseliny syntetizovat sám a musí být přijímány spolu s vyváženou stravou [14,35].

Příkladem může být metabolická přeměna omega-6 mastné kyseliny linolové na kyselinu arachidonovou, která je prekurzorem skupiny látek zvaných eikosanoidy. Od eikosanoidů odvozené prostaglandiny, tromboxany či leukotrieny zastávají významnou roli a účastní se

mnoha důležitých reakcí. Jejich syntéza je lokalizována v buňce, přesněji v endoplazmatickém retikulu [35]. Metabolické přeměny omega-3 mastné kyseliny α -linolenové a omega-6 mastné kyseliny linolové jsou detailněji znázorněny na obrázku 7.



Obrázek 7 Metabolismus omega-3 a omega-6 mastných kyselin [37]

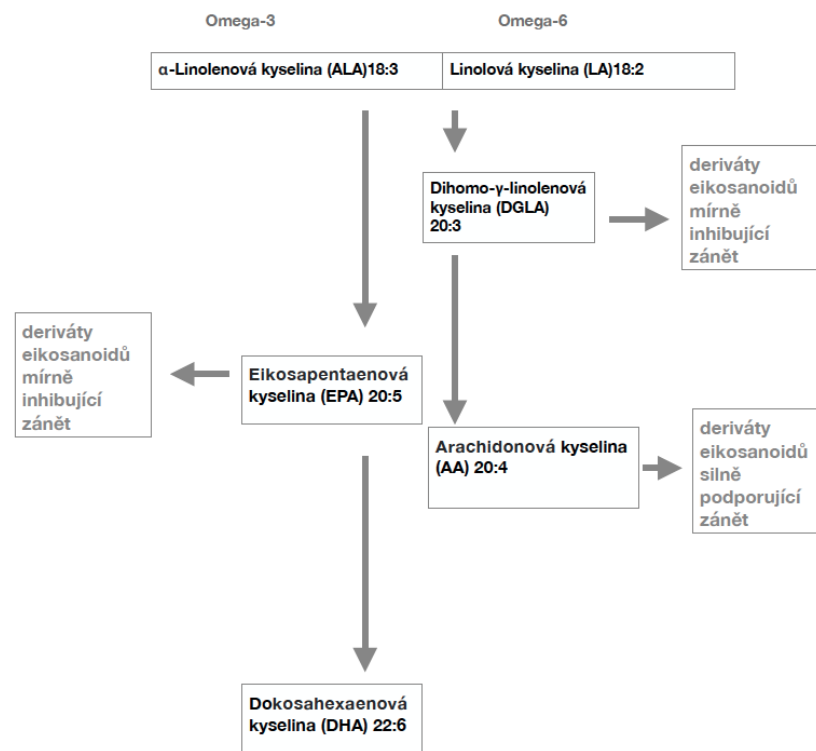
Za studena lisovaný lněný olej je dále zdrojem širokého spektra aktivních sloučenin jako jsou deriváty tokoferolů, fytoosteroly, β -karoten a mnoho dalších látek, u kterých je vyzdvihováno jejich příznivé působení na zdraví [19,26,27].

Příznivému působení esenciálních mastných kyselin, v oleji přirozeně přítomných antioxidantů a mnoha dalších látek jsou věnovány následující kapitoly. K výživovým vlastnostem a zdravotním tvrzením vztahujícím se k lněnému oleji existuje nespočet vědeckých studií, které dochází k zajímavým závěrům. V následujících kapitolách jsou vyzdvížena ta tvrzení, která jsou spekulována nejčastěji.

1.2.1 Imunitní systém, regulace zánětu

Imunomodulační vlastnosti lněného oleje a procesy s nimi související jsou spojovány především s přítomnými konjugovanými omega-3 a omega-6 MK [35,36]. Jedná se o mastné kyseliny α -linolenovou (ALA) a linolovou (LA). Obě tyto kyseliny jsou z 96 % absorbovány v tenkém střevě a následně podrobeny sledu několika metabolických reakcí, lokalizovaných v buněčných strukturách [37].

Metabolickými procesy tak z těchto konjugovaných mastných kyselin lze syntetizovat kyseliny eikosapentaenovou (EPA), dokosahexaenovou (DHA) a arachidonovou. Tyto sloučeniny se podílejí na mezibuněčných procesech souvisejících s imunitní odpovědí a hrají důležitou roli také při zánětlivých procesech, viz obrázek 8 [35]. Kromě regulace zánětu a imunitní odpovědi se podílejí dále na aktivaci leukocytů a krevních destiček, regulaci žaludečních sekrecí, iniciaci alergických reakcí a na mnoha dalších reakcích a mechanismech [37].



Obrázek 8 Prekurzory a reaktivita eikosanoidů [37]

Deriváty eikosanoidů, jejichž prekurzory jsou kyseliny dihomo- γ -linolenová a eikosapentaenová, jsou deriváty mírně inhibující zánět. Naopak deriváty eikosanoidů, jejichž prekurzorem je kyselina arachidonová, jsou metabolity zánět silně podporují [37].

K zajištění správné míry regulace zmíněných zánětlivých a dalších procesů je kladen důraz na ideální poměr přijatých omega-6 a omega-3 mastných kyselin, který je obecně uváděn jako 5:1 v některých studiích je akceptován poměr až 10:1 [21]. V současné době však poměr přijatých omega-6 a omega-3 mastných kyselin dosahuje hodnot 16:1 dokonce až 20:1. Zastoupení omega-3 mastných kyselin ve stravě je, v porovnání s omega-6 mastnými kyselinami, mnohem nižší, což bývá často spojováno s narůstajícím počtem pacientů s chronickými onemocněními a s dalšími zdravotními komplikacemi [38].

Běžně používané rostlinné oleje totiž obsahují jen stopová množství omega-3 mastných kyselin [39]. Jsou to rostlinné oleje slunečnicový, řepkový a olivový, u kterých obsah kyseliny α -linolenové nepřekračuje ani 1 % [21]. Lněný olej tak může být vzhledem k vysokému obsahu ALA vhodnou alternativou, jak si dostatečný příjem omega-3 mastných kyselin zajistit [1,10,12,13].

Úloha výše uvedených esenciálních mastných kyselin a jejich vliv na zdraví je předmětem mnoha vědeckých studií, které docházejí k četným poznatkům [35,40].

Příkladem může být studie, v rámci které byly skupině testovaných zvířat podávány vysoké dávky konjugované linolové kyseliny (CLA). Výsledkem byla zvýšená fagocytóza související s imunitní odpovědí [35]. Existují také vědecké studie zabývající se imunomodulačními vlastnostmi esenciálních konjugovaných mastných kyselin ve spojitosti s lidským organismem. V těchto studiích je CLA spojována nejen s imunomodulačními vlastnostmi. Vyzdvihováno je také její protizánětlivé a silné antioxidační působení, které je považováno dokonce za vyšší než u α -tokoferolu [35,40].

V lidském organismu probíhají následné reakce. Při aktivaci buněk vnějšími podněty dochází ke spuštění řady metabolických procesů. Výsledkem těchto procesů může být například kyselina arachidonová, která je dle potřeby přeměněna na silné buněčné mediátory, jako jsou tromboxany, prostaglandiny nebo leukotrieny mající silné protizánětlivé a imunomodulační vlastnosti [35,40].

Jestliže je zajištěn dostatečný příjem již zmíněných esenciálních mastných kyselin, pak v případě zánětu, infekce či jiných negativních stavech, lidský organismus dokáže reagovat rychle a tyto stavy včas vyřešit. Nekontrolovaný zánět totiž může vést až k poškození tkání. Výsledkem dlouhodobého, neřešeného zánětu mohou být právě chronická onemocnění, jako jsou astma, revmatoidní artritida či ateroskleróza [35,40,41].

1.2.2 Antioxidační vlastnosti

Antioxidační vlastnosti lněného oleje vyplývají především z přirozeného obsahu v tuku rozpustných aktivních sloučenin vitamínu E a β -karotenů. Biologická dostupnost těchto aktivních sloučenin je vyšší v přítomnosti tukové složky, a hlavně u potravin bohatých na fosfolipidy. Stejně tvrzení platí také u β -karotenů, které jsou snadněji vstřebávány právě z rostlinných olejů, než například z tuků chudých potravin jako je mrkev [42].

Obsah těchto sloučenin je však silně závislý na způsobu získávání lněného oleje. Jedná se o látky, jejichž obsah a také biologická aktivita mohou být dlouhým tepelným namáháním rapidně snižovány. Jejich obsah je dále minimalizován také v olejích, které byly podrobeny rafinaci, dezodoraci či dalším technologickým procesům, viz kapitola 2.1.2 [28].

Biologickou funkcí antioxidantů je schopnost chránit buňky před volnými radikály, vysoce reaktivními formami molekul vznikajících oxidací. Díky své lipofilitě mohou být vázány na buněčné a subbuněčné membrány, kde se podílejí na procesu zhášení volných radikálů. Napomáhají tak předcházet nežádoucímu, volnými radikály vyvolávanému, oxidačnímu stresu [20]. Některé studie uvádějí, že se na antioxidační aktivitě lněného oleje podílí také CLA [41,43].

Oxidační stres je stavem negativním. Vysoce reaktivní částice mohou nejen narušovat struktury tkání, ale spojovány jsou dále s nekontrolovaným buněčným dělením. Někteří vědci dokonce spojují antioxidační působení s působením protinádorovým. Jsou přesvědčeni, že právě dlouhodobý oxidační stres může být příčinou nekontrolovaného buněčného dělení. Tato tvrzení však nejsou jednoznačně prokázána a jsou předmětem mnoha spekulací. Antioxidační působení lněného oleje se promítá také do dalších vědeckých prací, které věnují pozornost různým chronickým onemocnění [39].

1.2.3 Stav kardiovaskulárního systému

Životospráva, strava, a především složení přijatých tuků, významně ovlivňují stav kardiovaskulárního systému. Nemoci srdce a cév jsou v posledních letech stále větší hrozbou [44,45].

Vznik arterosklerotických plátů ukládajících se na povrch cévních stěn, je spojován s vysokým příjmem nasycených tuků a s nimi související vysokou hladinou LDL cholesterolu v krvi. Některé ze studií zabývajících biologickými účinky lněného oleje uvádějí, že strava bohatá na CLA má významný vliv na snížení hladiny LDL cholesterolu v krvi [45]. Je tak účinnou prevencí hromadění škodlivých usazenin v cévních stěnách a eliminuje, mimo jiné, také riziko kornatění cév či vzniku zánětu žil [35,40,41].

Lněný olej je tak obecně doporučován pacientům trpícím onemocněními kardiovaskulárního systému a slouží také jako účinná primární i sekundární prevence. Toto tvrzení je dohledatelné taktéž ve vědeckém prohlášení vydaném Americkou srdeční asociací v roce 2002 [35]. Jedna z vědeckých studií dokonce uvedla, že dávka 2-6 g omega-3 mastné kyseliny ALA denně se může významně podílet na snížení hladiny krevního LDL cholesterolu a zvýšení hladiny HDL cholesterolu [35,41].

Lněný olej je dále zdrojem skupiny fytoosterolů, které se mohou na snižování hladiny LDL cholesterolu taktéž spolupodílet. Z fytoosterolů je ve lněném oleji z 50 % zastoupený β -sitosterol, z 27 % campesterol, z 10 % avenasterol a z 8 % stigmasterol. Celkové množství fytoosterolů obsažených v lněném oleji činí 2,3 gramů na kilogram oleje [26].

Vysoký krevní tlak může být z dlouhodobého hlediska významným faktorem podporujícím rozvoj kardiovaskulárních chorob. Lněný olej je zdrojem teprve nedávno objeveného prostaglandinu E1, který se spolu s dalšími biologicky aktivními látkami podílí na snižování krevního tlaku, což potvrzuje preventivní působení lněného oleje [35].

V souvislosti s kardiovaskulárními nemocemi je lněný olej doporučován pro významný obsah vitamínu E, respektive jeho účinných derivátů [36]. Zatímco antioxidační a s nimi související protizánětlivé účinky α -tokoferolu jsou poměrně známé, je lněný olej vyzdvihován zejména pro vysoký obsah γ -tokoferolu, jehož biologické účinky jsou spojovány, mimo jiné, se snižováním rizika vzniku infarktu myokardu [13].

1.2.4 Hojení ran

Už dle poznatků ajurvědy a tradiční čínské medicíny byl lněný olej doporučován k léčbě oděrek a lehce zaléčených ran. A to především pro své zvlhčující vlastnosti, vysoký obsah antioxidantů a dalších biologicky aktivních látek [1]. Navíc přítomná kyselina α -linolenová a v menším množství kyselina olejová vykazují poměrně významné protizánětlivé působení. Pro své složení tak lněný olej dostatečně hydratuje již zaléčené rány a po ranách zbylé jizvy. Vytváří tak ideální prostředí pro syntézu kolagenu a podporuje reepitelizaci, tedy obnovu pokožky [1,46]. Díky vysoké vstřebatelnosti se jedná o významný nosič přírodních a dalších látek. Lněný olej tak zaujímá významné postavení také ve farmacii [1].

1.2.5 Zdraví očí

Pro poměrně vysoký obsah β -karotenu, přírodní formy provitamínu A, který je potřebný k syntéze očního purpuru, bývá lněný olej spojován také se zdravím očí. Navíc kyselina dokosaheptaenová, která je výsledkem metabolické přeměny kyseliny α -linolenové, zastává důležitou roli při vývoji sítnice [35]. Mastné kyseliny jsou nenahraditelnou součástí vnějšího segmentu fotoreceptoru a asi 30 % těchto kyselin tvoří právě omega-3 mastné kyseliny [47].

1.2.6 Stav gastrointestinálního traktu

Pro bioaktivní působení CLA je lněný olej doporučován pacientům s různými autoimunitními onemocněními gastrointestinálního traktu. CLA se může podílet i na inhibici T buněk, které generují protizánětlivé cytokiny a napomáhá tak zlepšovat kvalitu životů pacientů s Crohnovou chorobou, Ulcerózní kolitidou či žaludečními vředy [44].

1.2.7 Hormonální systém

Lněná semínka a z nich lisovaný lněný olej je zdrojem difenolických sloučenin lignanů, látek s prokázanými estrogenními účinky. Lignany jsou obsaženy také v sezamových semínkách, v ovoci a zelenině a v mnoha dalších potravinách. V porovnání s ostatními potravinami jsou však ve lněném semínku přítomny v poměrně vysokém množství. Z lignanů je ve lněném semeni z 95 % přítomen lignan secoisolariciresinol, především v jeho glykosylovaném stavu, který se vyskytuje ve vláknité vrstvě semene [48]. Jejich obsah je tak ve lněném oleji mnohem nižší než ve lněných semenech. I přes toto tvrzení je však olej považován za významný zdroj těchto fytoestrogenů [49].

Fytoestrogeny pro své působení zastávají významnou roli také ve farmacii. Jsou zakomponovány do složení farmak sloužících ke snížení intenzity problémů spojených s menopauzou [48]. Bývají doporučovány také při léčbě některých hormonálních poruch. Existují studie, které poukazují na příznivé působení fytoestrogenů u pacientek s rakovinou prsu [35]. Jedna ze studií dokonce uvádí, že při denním užívání 25 g lněných semen, došlo ke zvýšení apoptického indexu a snížení buněčné proliferace u pacientek trpících tímto typem rakoviny [2].

Příznivé působení lněných semen a lněného oleje však může souviset také s přítomností antioxidantů a dalších látek, které se podílejí na snižování oxidačního stresu, jak bylo nastíněno již v předcházejících kapitolách [41]. Účinky fytoestrogenů a jejich vliv na zdraví jsou předmětem mnoha vědeckých studií a jejich závěry však často bývají dosti nejednoznačné [21].

2 POPIS ZMĚN PŘI STÁRNUTÍ A OXIDACI LNĚNÉHO OLEJE

Oxidační procesy související se stárnutím rostlinných olejů jsou vnímány jako reakce obecně nežádoucí. Prostřednictvím těchto reakcí vzniklé oxidační produkty totiž nejen že zhoršují organoleptické vlastnosti olejů, ale souvisí také se snižováním jejich nutriční hodnoty. Některé z těchto produktů jsou dokonce považovány za látky toxické, což je dalším z důvodů, proč se producenti rostlinných olejů snaží všemožnými cestami těmto reakcím zabránit, anebo jejich průběh alespoň zpomalit a jejich rozsah tak minimalizovat. A to nejen v rámci výroby, ale také během následného skladování, expedování či jiné manipulace s nimi [11,24].

Za studena lisovaný lněný olej, který je předmětem této diplomové práce, patří do skupiny olejů vyznačujících se nízkou oxidační stabilitou. Díky vysokému obsahu polynenasycených mastných kyselin a zachování maximálního množství přirozeně přítomných látek a enzymů podléhá za studena lisovaný lněný olej oxidačním procesům mnohem snadněji než oleje vysoce zpracované. V oleji přirozeně přítomné lipázy se navíc podílí i na tvorbě volných mastných kyselin, které podléhají oxidačním procesům snáze než původní triacylglyceroly (TAG) [9,10,50].

Následující kapitoly jsou věnovány detailnímu popisu možných oxidačních reakcí probíhajících ve lněném oleji. Popsány jsou fyzikální a chemické změny, které doprovázejí oxidaci a jsou v nich zmíněny taktéž výsledné oxidační produkty detekované právě u různě zoxidovaných lněných olejů.

2.1 Chemické změny doprovázející stárnutí a oxidaci lněného oleje

Jedná se o sled řetězových a dalších reakcí probíhajících na uhlíkatých řetězcích TAG. Jsou to procesy přirozeně probíhající již ve výchozí surovině, tedy ve lněných semenech [4,7].

Průběh a rozsah jednotlivých reakcí se odvíjejí nejen od přístupu kyslíku, ale závisí také na teplotách a dalších činitelích, kterým je během výroby či následném skladování lněný olej vystavován. Chemické změny doprovázející stárnutí lipidů jsou také spjaty se samotným složením [4,6,7].

Přirozeně přítomné látky přecházející, v rámci lisování, ze semen do výsledného oleje, se navíc mohou na těchto oxidačních reakcích spolupodílet. Ve lněném oleji může docházet k několika typům oxidačních procesů. V praxi jsou to autooxidace, fotooxidace a enzymatická oxidace, které budou detailněji popsány v následujících kapitolách [7].

Dále jsou to pak oxidace peroxidy či těžkými kovy. S oxidací peroxidy se setkáváme především v potravinách obsahující další příměsi, což u rostlinných olejů nebývá tak časté [4,7].

2.1.1 Autooxidace

Jedná se o nejběžnější typ oxidace rostlinných olejů. Probíhá u olejů, které jsou vystaveny vzdušnému čili tripletovému, kyslíku. Na rychlost a rozsah autooxidace mohou mít vliv různé faktory. Za nejvýznamnější jsou považovány vysoká teplota, přístup vzdušného kyslíku a také druh skladovací nádoby. Rozsah autooxidace a s ní související přítomnost autooxidačních produktů bývá u čerstvě vylišovaných olejů nižší než u olejů, které jsou skladovány již delší dobu [4,6,7].

V rámci provedených analýz bylo odpozorováno, že při běžných teplotách dochází k autooxidačním reakcím především u nenasycených mastných kyselin. Při vysokých teplotách, dosažených například při smažení či pražení, pak dochází také k autooxidaci mastných kyselin s řetězcem nasyceným [7]. K oxidaci dochází nejen u mastných kyselin vázaných v TAG ale také u mastných kyselin, které jsou součástí fosfolipidů a u mastných kyselin volných (FFA) [51].

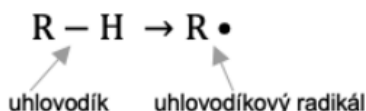
Autooxidace probíhá ve třech základních stupních. Jednotlivé stupně jsou uvedeny v obecném schématu na obrázku 9. Součástí schématu jsou také inhibitory a katalyzátory, které mohou autooxidaci zpomalovat i zrychlovat [7,51].

Jakmile je autooxidace zahájena dochází k akceleraci jednotlivých řetězových reakcí, které jsou tak udržovány v neustálém chodu. V jednu chvíli dochází k iniciaci oxidačních reakcí na vícero molekulách tuků, což celý proces autooxidace značně zrychluje. Na průběh autooxidace mají vliv také antioxidanty, které zvyšují rychlost terminačních reakcí, tak že reagují s hydroperoxy za tvorby málo reaktivních radikálů [7,51].

Iničiační fáze (tvorba volných radikálů)

Katalyzátory

Zvýšená teplota
Záření
Kovy
Radikály



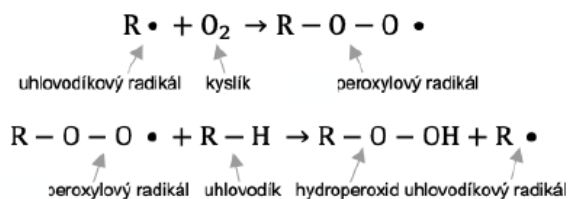
Inhibitory

Tmavé nádoby a filtry
Nízká teplota
Cheláty kovů
Antioxidanty

Propagační fáze (řetězová reakce volných radikálů)

Katalyzátory

Kyslík
Kovy
Záření
Zvýšená teplota
 $a_w > 0,3$



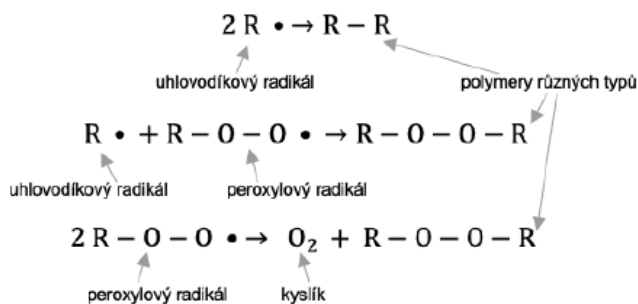
Inhibitory

Vakuum
Nízký parciální tlak kyslíku ve vzduchu
Radikály
Antioxidanty
Nízká teplota
Chelátory kovů

Terminační fáze (vzájemné reakce radikálů, *polymerů různých druhů)

Katalyzátory

Vysoký parciální tlak kyslíku ve vzduchu
Voda



Inhibitory

Vysoký parciální tlak kyslíku ve vzduchu
Přidavek čistého oleje

Obrázek 9 Obecné schéma autooxidace [51]

V rámci první fáze, zvané iniciace, dochází k homolytickému přerušení kovalentní vazby za vzniku vodíkového a uhlovodíkového radikálu. K přerušení kovalentní vazby je zapotřebí dostatečné množství disociační energie, kterou lze dodat tepelným záhřevem, UV zářením, radioaktivním zářením či viditelným zářením. Na iniciaci se podílejí také v oleji přítomné kovy či radikály jiných sloučenin [4,7,51].

Druhou fází je fáze propagační, v rámci které dochází k řadě řetězových reakcí vzniklých volných radikálů. Reaktivní uhlovodíkový radikál, produkt iniciační fáze, velmi snadno reaguje s molekulou kyslíku, za vzniku vysoce reaktivního peroxylového radikálu.

Peroxylový radikál reaguje s další molekulou uhlovodíku za vzniku uhlovodíkového radikálu a hydroperoxidu, primárního produktu autooxidace. Sled propagačních reakcí se opakuje tak dlouho dokud jsou v reakční směsi přítomny volné radikály a dostupný kyslík [7,51].

Terminace, poslední fáze autooxidace, nastává při dosti vysoké koncentraci volných radikálů v reakční směsi. Dvojice volných radikálů spolu reagují za vzniku stabilních produktů. Tímto stupněm je proces autooxidace ukončen [7,51].

Rozsah oxidace je úzce spjatý s nejen s měnícími se podmínkami skladování ale také s dobou, po kterou je olej skladován [4,7,51].

2.1.1.1 Autooxidace lněného oleje

Jelikož tvorba hydroperoxidů probíhá snadněji u kyseliny linolové a linolenové, podléhá lněný olej, v rámci vysokého obsahu těchto PUFA autooxidačním procesům snáz než například olej olivový. Kyselina α -linolenová oxiduje 20-40krát rychleji než kyselina olejová a 2-4 krát rychleji než kyselina linolová [26].

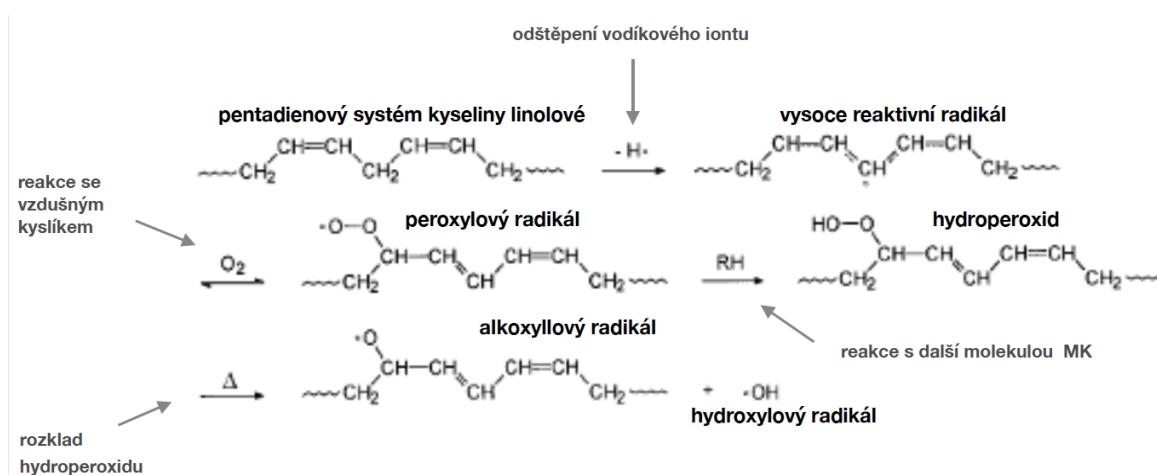
Kyseliny α -linolenová a linolová ve svých molekulách totiž obsahují tzv. pentadienový systém, ze kterého odštěpením vodíkového iontu vzniká vysoce reaktivní radikál. Následnou reakcí jednoho z konců se vzdušným kyslíkem poté vzniká radikál peroxylový, v jehož molekule dochází k posunu pozice dvojné vazby čili k polohové *izomeraci*, anebo také ke změně sterické *cis-trans* konfigurace čili k geometrické *izomeraci*. A to kvůli rezonanční stabilizaci [4,7,26].

Stabilizovaný peroxylový radikál poté reaguje se sousední molekulou kyseliny ALA, či jinou strukturou za vzniku hydroperoxidových sloučenin s konjugovanou *trans, cis* konfigurací.

Vzhledem k tomu, že je poloha *trans* termodynamicky stabilnější, bývá poměr *trans* izomerů, na úkor *cis* izomerů, vyšší a s průběhem autooxidace se jejich poměr neustále zvyšuje [7,26].

Díky počtu a poloze dvojných vazeb dochází na struktuře LA pouze k tvorbě vnitřních hydroperoxidů. Naopak u ALA, která obsahuje ve své struktuře dvojnou vazbu tři, dochází k tvorbě nejen vnějších, ale i vnitřních hydroperoxidů [4].

Rozkladem hydroperoxidů následně vznikají produkty zvané alkoxylové radikály [4]. Autooxidační reakce LA vedoucí ke vzniku hydroperoxidů a alkoxylových radikálů jsou znázorněny na obrázku 10.



Obrázek 10 Autooxidační reakce kyseliny linolové vedoucí ke vzniku alkoxylových a hydroxylových radikálů [4].

Allylové hydroperoxydy jakožto primární produkty oxidace jsou poté rozkládány na sekundární alkoxylové, nebo také hydroxylové, radikály, které v závislosti na vnějších podmínkách mohou podléhat četným reakcím [4].

Produkty reakcí, v rámci kterých se počet uhlíků v molekule nemění, jsou epoxykyseliny, hydroxykyseliny a ketokyseliny. Produkty reakcí, v rámci kterých dochází ke snižování počtu uhlíků a molekulové hmotnosti, jsou alkoholy, aldehydy a ketony [4]. V některých případech může docházet ke zvýšení počtu uhlíků ve sloučeninách a k tvorbě tzv. terciérních produktů, polymerních sloučenin. Polymeraci a fyzikálním změnám doprovázejícím oxidační reakce je věnována kapitola 2.4 [52].

Autooxidace je procesem v praxi běžně probíhajícím. Autooxidační reakci totiž v porovnání s ostatními typy oxidace iniciuje právě téměř všudypřítomný kyslík. Navíc vzhledem k vysokému obsahu nenasycených dienových a trienových mastných kyselin, podléhá lněný olej těmto reakcím velmi snadno. A v za studena lisovaném lněném oleji přirozeně přítomné látky, celý proces ještě urychlují [7,10,53].

Ke zrychlení autooxidačních procesů dochází dále při mírném zvýšení teploty na teplotu pokojovou a s dalším nárůstem teploty je celý proces ještě rychlejší [4]. U lněného oleje tak dochází k postupné isomeraci mastných kyselin, za vzniku jejich *trans* forem postupně až do vyčerpání všech *cis* vazeb [7]. Při teplotách vyvinutých během smažení dosahujících 180 °C bylo zjištěno, že obsah *trans* mastných kyselin ve lněném oleji činil 2 gramy na 100 gramů oleje. Množství *trans* mastných kyselin tak několikanásobně překračovalo mezinárodně uznanou hodnotu [26]. Za studena lisovaný lněný olej by, vzhledem ke svému složení, neměl být vystavován takto vysokým teplotám a také přemíře vzdušného kyslíku [54].

2.1.2 Fotooxidace

Fotooxidace je typ oxidace související s působením silné formy singletového kyslíku, který je produkován za světla a za přítomnosti fotosensibilizátorů. Singletový kyslík vzniká z kyslíku tripletového při absorpci energie 95-158 kJ / mol [7,13].

Při disociaci vazby viditelným zářením zastávají nepostradatelnou roli, ve lněném oleji přirozeně přítomné, fotosenzibilizátory. Tyto látky absorbují energii ve viditelné oblasti elektromagnetického záření a předávají ji tripletovému, vzdušnému kyslíku. Tímto procesem se z neaktivní, tripletové formy stává vysoce reaktivní forma kyslíku zvaná singletová, která je až 1 500krát reaktivnější [7,23].

Roli fotosenzibilizátorů ve lněném oleji zastávají lipofilní barviva, jako jsou karoteny, chlorofyl a další látky. Působí především jako katalyzátory [7,55].

Singletový kyslík následně interaguje s molekulami nenasycených mastných kyselin. Podobně jako u autooxidace je primárním produktem fotooxidace směs hydroperoxidů. Poměr vzniklých izomerních forem se však liší [7,56].

2.1.3 Enzymová oxidace

Jedná se o typ oxidace iniciované činností ve lněném oleji přirozeně přítomných enzymů. S enzymovou oxidací je spojovaná především skupina enzymů zvaných lipoxygenázy, které katalyzují oxidaci přítomných nenasycených mastných kyselin [7,57].

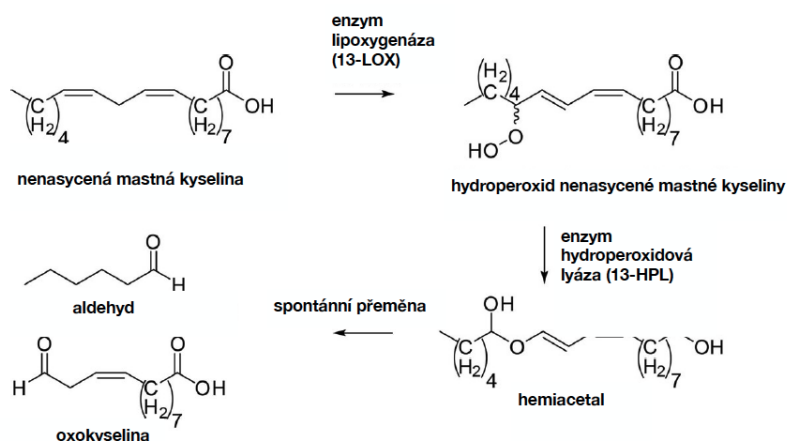
Další významnou skupinou přirozeně přítomných enzymů jsou hydroperoxidové lyázy, které přeměňují vzniklé hydroperoxydy na rozkladné produkty jako jsou oxokyseliny, aldehydy a další produkty [57].

Obecně se lipoxygenázy nacházejí nejen v systémech rostlin, ale i živočichů, hub a bakterií. Navíc mají rozdílné specifity. Typickými substráty rostlinných lipoxygenáz jsou právě kyseliny linolová a linolenová a u lipoxygenáz živočišných kyselina arachidonová. Bakteriální lipoxygenázy metabolizují kyseliny arachidonovou, linolenovou a olejovou [57].

V rámci výroby je nutné dbát také na mikrobiální nezávadnost výchozí suroviny. Olej nesmí být lisován z plesnivých či bakteriálně zasažených semen [57].

Rozkladné a další produkty lipoxygenáz mohou být dále přeměny izomerázami a dalšími enzymy. Vzniká tak směs aldehydových, oxokyselinových a dalších produktů, které jsou, mimo jiné, zodpovědné za tzv. off flavour lněného oleje [57].

Jedna z možných enzymatických reakcí katalyzovaná enzymem lipoxygenázou 13-LOX je znázorněna na obrázku 11 [57].



Obrázek 11 Enzymatická oxidace nenasycené mastné kyseliny katalyzovaná lipoxygenázou 13-LOX [57]

Činností lipoxygenázy 13-LOX může být nenasycená mastná kyselina přeměněna na její hydroperoxid. Činností hydroperoxidové lyázy 13-HPL je poté iniciováno přeskupení hydroperoxidu za vzniku hemiacetalu podléhajícího spontánní přeměně za vzniku aldehydu či oxokyseliny [57].

V praxi může v olejích probíhat těchto enzymatických reakcí nespočet. Jejich průběh a výsledné produkty se v závislosti na složení rostlinných olejů mohou lišit [57].

Rychlost a rozsah enzymaticky katalyzovaných oxidačních a rozkladných procesů probíhajících ve lněném oleji se odvíjí taktéž od kvality, stupně zralosti a způsobu zpracování výchozích lněných semen. Enzymatické procesy mohou iniciovat také enzymy produkované bakteriemi či enzymy z okolního prostředí. V rámci výroby by tak měla být vyřazena semena plesnivá či jinak mikrobiologicky znehodnocená [57].

Na rozsah enzymatických reakcí má vliv také teplota vznikající v rámci lisování. Za studena lisované lněné oleje jsou vystavovány teplotám nižším než vysoce zpracované lněné oleje [17]. Nedochozí tudíž k tak rozsáhlé inaktivaci enzymů a riziko průběhu enzymově katalyzované oxidace je tak u za studena lisovaných olejů vyšší [57].

2.1.4 Rozkladné produkty oxidačních reakcí

Z výchozích nenasycených mastných kyselin a dalších sloučenin oxidací vzniklé produkty ovlivňují nejen výživové, ale hlavně organoleptické vlastnosti jednotlivých typů olejů. Tyto sloučeniny jsou zodpovědné za „nově vzniklou“ chuť či zápach a v některých případech se mohou spolupodílet také na barevných změnách [56].

Obecně se na organoleptických vlastnostech rostlinných olejů podílí nespočet přirozeně přítomných látek. Jedná se o látky různých prahových hodnot a koncentrací. Jen na samotné chuti lněného oleje se podílí více než 54 sloučenin a jejich zastoupení se během stárnutí lněného oleje neustále mění [52].

Za hlavní sloučeniny identifikované v za studena lisovaném lněném oleji jsou považovány hexanol, odpovědný za dřevité aroma a bylinou, sladkou chuť. Dále pak kyselina octová, která skladovanému oleji dodává kyselou až štiplavou chuť. Dalšími detekovanými látkami jsou *trans*-2-pentenal, *trans*-2-hexenal, 2-heptanon a *trans*, *trans*-2,4-hexadienal. V tabulce 8 jsou uvedeny některé z těchto sloučenin, včetně jejich teoretického zastoupení v oleji a typického aroma [55].

Tabulka 8 Procentuální zastoupení hlavních rozkladných produktů oxidačních reakcí ve lněném oleji [55]

Sloučenina	Chuť a aroma	Zastoupení [%]
hexanol	Bylinná, dřevitá, sladká	6,5 - 20,3
kyselina octová	Silná, kyselá, štiplavá	3,7
<i>trans</i> -2-pental	Štiplavá, ovocná	0,9
<i>trans</i> -2-hexenal	Sladká, ovocná, zeleninová	0,8
2-heptanon	Ovocná, skořicová	0,3
<i>trans, trans</i> -2,4-hexadienal	Plesnivá	0,7

Příjemná, jemně ořechová chuť čerstvě lisovaného lněného oleje je spojována s minoritní skupinou sloučenin zvaných cyklorinopeptidy. Tyto sloučeniny však nejsou chemicky stálé, v důsledku oxidace postupně hořknou a podílí se tak na tzv. off flavour chuti lněného oleje [55].

Chuť lněného oleje, u kterého došlo k rozsáhlé oxidaci, je obecně považována za vysoce nepříjemnou. Hodnotitelé velmi negativně hodnotí především hořkou chuť s aroma připomínající rybinu. Rybí aroma lněného oleje je spojováno s přítomností 1-penten-3-onu a dalšími rozkladnými produkty. Některé ze studií dokonce využívají detekce těchto rozkladných produktů pro stanovení rozsahu oxidace [56].

Jak bylo zmíněno již v předcházející kapitole, tak v rámci oxidace nedochází jen ke změnám organoleptickým, ale dochází také ke změnám barvy oleje. Zatímco čerstvý za studena lisovaný lněný olej má zlatavou barvu, u vysoce zoxidovaného lněného oleje může docházet tvorbě červených odlesků způsobených přítomností stereoizomerů jako je 3-(2-ethyl-5-hydroxy-3-oxo)cyklopentenyl-2-propenal [55].

Kromě chuti a barvy jsou vysoce zoxidované rostlinné oleje spojovány s negativním působením na zdraví. Některé z nově vzniklých aldehydů, jako je například 4-hydroxy-2-nonenal, jsou často spojovány s karcinogenním působením [56]. Vystavování lněného oleje vysokým teplotám navíc podněcuje tvorbu 2-pentyfuranu či dalších toxických *trans* izomerů, což je další z důvodů, proč by za studena lisovaný lněný olej měl být používán výhradně ve studené kuchyni [55].

2.2 Fyzikální změny doprovázející stárnutí a oxidaci lněného oleje

Oxidaci lněného oleje nedoprovázejí pouze změny chemické, ale také změny fyzikální, které u vysoce zoxidovaných olejů bývají viditelné již na první pohled. Lněný olej je totiž rostlinný olej vysychavý, který vzhledem k vysokému množství kyseliny ALA podléhá oxopolymeraci snadněji. Do této skupiny je řazen také olej konopný a další méně významné potravinářské oleje [7,58].

Již v počátečních fázích oxidace nenasycených mastných kyselin dochází k rozsáhlému síťování a tvorbě konjugovaných nenasycených sloučenin. Dvojně vazby umožňují mastným kyselinám snadno reagovat nejen s molekulami kyslíku, ale také s dalšími v oleji přítomnými látkami, za tvorby rozsáhlé polymerní sítě [4,7,51].

V důsledku příčných vazeb tak dochází k tvorbě vysoce stabilní sítě, do které jsou postupně zabudovávány látky s menší molekulovou hmotností. Jedná se o látky vzniklé fragmentací a v některých případech také stále nezreagované triacylglyceroly. V konečných fázích oxopolymerace dochází k jevu zvanému vytvrzování, jehož výsledkem je tenký, souvislý film s dobrými optickými a mechanickými vlastnostmi. Těchto vlastností lněného oleje využívají malíři k zakonzervování svých obrazů [4].

K iniciaci oxopolymerace lněného oleje dochází při styku se vzdušným kyslíkem již během několika dní, proces postupného vytvrzování však může probíhat i několik let [4,7,51].

3 METODY STANOVENÍ OXIDAČNÍ STABILITY LNĚNÉHO OLEJE

Přesná kvantitativní a kvalitativní analýza rostlinných olejů je důležitá nejen z hlediska nutričního. Na základě získaných výsledků lze také ověřit, zda rostlinné oleje splňují jednotlivé standardy, výrobcem uvedené specifikace a zároveň nepřesahují limitní hodnoty dané legislativou. Prostřednictvím analytických metod lze taktéž sledovat změny doprovázející jejich skladování a stárnutí. Pro hodnocení kvality rostlinných olejů bylo vyvinuto několik analytických metod sledujících různé parametry [59].

V rámci diplomové práce byla charakterizace vlastností a jakosti lněného oleje provedena stanovením složení mastných kyselin a peroxidového čísla. Celková antioxidační kapacita v tuku rozpustných antioxidantů byla stanovena prostřednictvím analytického systému Photochem. Oxidační stabilita lněného oleje byla studována prostřednictvím analytického přístroje Rancimat [31,60].

3.1 Stanovení složení mastných kyselin – plynová chromatografie

Jedná se o velmi citlivou, běžně užívanou, analytickou metodu s velkou separační účinností. Její výhodou, že je z velké části automatizovaná a lze jejím prostřednictvím stanovit vysoce koncentrované vzorky. Nevýhodou je vysoká teplota, při které může docházet k rozkladu analyzovaných vzorků. Je určena k analýze plynů a těkavých látek, které lze zahřátím převést na páry. Před samotnou analýzou tak musí být v oleji obsažené glyceridy a fosfolipidy zmýdelněny a vniklé volné mastné kyseliny esterifikovány na plynné, termostabilní methyl-estery [21,61].

Stanovení je provedeno prostřednictvím zařízení zvaného plynový chromatograf. Princip separace methyl-esterů spočívá v jejich rozdělování mezi pohyblivou fázi mobilní a fázi stacionární, vázanou na vnitřní povrch kapiláry, kolony. Každá látka, methyl-ester, postupuje kolonou jinou rychlostí, která se odvíjí od její distribuční konstanty. Látky postupně vycházejí z kolony v pořadí rostoucích hodnot distribučních konstant a vstupují do detektoru, například plamenově-ionizačního. Detektor indikuje okamžitou koncentraci stanovovaných látek a jednotlivé signály jsou plynule registrovány. Výsledným grafickým záznamem je tzv. chromatogram, vyobrazující závislost signálu detektoru na čase měření, prostřednictvím příslušných píků. Dle polohy každého píku lze vyhodnotit identitu látky. Výška píku, plocha pod křivkou, je úměrná množství látky v analyzovaném vzorku [21,61].

3.2 Jodometrické stanovení peroxidového čísla

Jedná se o jednu z nejstarších a zároveň nejběžněji používaných analytických metod pro stanovení rozsahu oxidace tuků a olejů. Princip metody spočívá v titračním stanovení jódu uvolněného z jodidu draselného hydroperoxydu, primárními produkty oxidace v oleji přítomných nenasycených mastných kyselin. Výsledné hodnoty stanovení jsou uváděny v miliekvivalentech aktivního kyslíku na kilogram analyzovaného tuku nebo oleje [53].

Ke stanovení peroxidového čísla je zapotřebí pouze klasické laboratorní sklo, což je jednou z výhod této analytické metody. Nicméně prostřednictvím této metody lze stanovit pouze množství hydroperoxidů, produktů vznikajících v raných fázích oxidace. Na základě stanovených hodnot peroxidového čísla nelze jednoznačně určit čerstvost analyzovaného oleje. Pro přesnější stanovení stupně oxidace je potřeba stanovit také množství sekundárních produktů oxidace, jejich ukazateli jsou tuková čísla *p*-anisidinové a thiobarbiturové [53,62].

3.3 Stanovení antioxidační kapacity systémem Photochem

Jedná se o jednoduchou, citlivou, rychlou a plně automatickou analytickou metodu, která nevyžaduje žádné komplikované a časově náročné přípravy vzorků. Prostřednictvím této spektrofotometrické metody lze stanovit antioxidační kapacitu měřených vzorků, a to i při velmi nízkých koncentracích přítomných antioxidantů [63].

Tato analytická metoda je založena na principu photochemoluminiscence. Jedná se o kombinaci rychlé fotochemické tvorby volných, superoxidových radikálů a velmi citlivé luminometrické detekce. Volné radikály jsou produkovány optickou excitací fotosensibilizátoru. Zdrojem excitace je lampa s rtuťovými parami a s excitačním maximem kolem 350 nm. Tyto radikály jsou z analyzovaných vzorků částečně eliminovány reakcí s antioxidanty, které jsou přítomny v analyzovaných vzorcích. Zbylé radikály způsobují luminiscenci detekční látky. Prostřednictvím systému fotonásobičů je tato luminiscence detekována a poté je pomocí přepočtu přes kalibrační křivku stanovena antioxidační kapacita měřených vzorků [64].

3.4 Stanovení oxidační stability přístrojem Rancimat

Jedná se o velmi jednoduchou metodu řazenou k metodám souhrnně označovaným termínem metody aktivního kyslíku, které jsou založeny na zrychleném stárnutí rostlinných olejů. Oxidační stabilita analyzovaných vzorků je stanovena prostřednictvím zařízení Rancimat (obrázek 12), které má osm měřících pozic, po čtyřech v každém ze dvou nezávislých topných bloků [53,65].



Obrázek 12 Zařízení Rancimat 892

Vzorky analyzovaných olejů převedené v rekčních nádobách jsou v rámci měření vystavovány vysokým teplotám a zvýšenému průchodu vzduchu. Vznikající primární a následně sekundární těkavé produkty oxidace jsou jímány do destilované vody, ve které je prostřednictvím vnořených elektrod kontinuálně měřena vodivost. Vznik těkavých degradačních produktů je detekován jako zvýšení měřené vodivosti. Výsledným parametrem zrychlené oxidace je tzv. indukční čas, neboli doba, která uplyne do vzniku těkavých produktů. Platí, že čím je hodnota indukčního času vyšší, tím je analyzovaný vzorek stabilnější [53,65].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

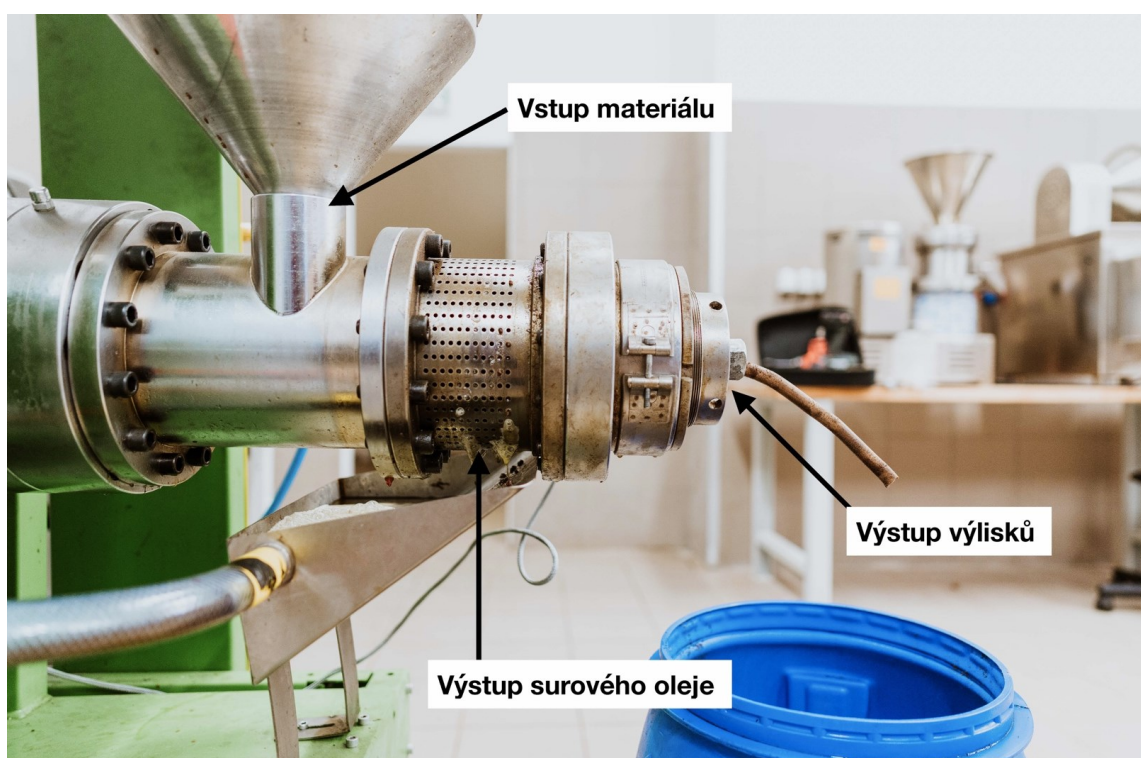
Hlavním cílem práce bylo stanovit oxidační stabilitu vzorků lněného oleje metodou zrychlené oxidace za pomoci přístroje Rancimat 892. Dílčími cíly pak bylo u vzorků lněného oleje stanovit složení mastných kyselin metodou plynové chromatografie, peroxidové číslo a antioxidační kapacitu systémem Photochem. Získané výsledky poté diskutovat s odbornou literaturou a s ohledem na podmínky skladování vzorků.

5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

5.1 Materiál

Vzorky lněného oleje byly poskytnuty firmou BEWIT FRANCHISE, s.r.o..

Jednalo se o vzorky lněného oleje v bio kvalitě, lisovaného ze semen původem z Indie. Lněný olej byl lisován ve výrobním závodě v Ostravě pomocí šnekového lisu (obrázek 13) s vhodně nastavenými parametry, díky kterým teplota oleje na výstupu lisovacího zařízení nepřesahovala teplotu 42 °C.



Obrázek 13 Šnekový lis pro lisování lněného oleje ve společnosti Bewit [66]

K analýzám byly firmou Bewit poskytnuty vzorky lněných olejů, ke kterým se vztahovala tzv. super fresh garance (obrázek 14), což v praxi znamená, že je lněný olej lisován až po obdržení objednávky a již do 24 hodin po vylisování je připraven k vyzvednutí zákazníkem či případnou exportní společností.



Obrázek 14 Lněný olej super fresh, výrobce BEWIT FRANCHISE, s.r.o. [67]

Předmětem analýzy byly vzorky dvou šarží lněného oleje lisovaných dne 19. 11. 2020 a 1.3. 2021.

Vzorky oleje šarže lisované v měsíci listopadu byly po vylisování odlity do dvou skladovacích nádob z čirého skla a do dvou nádob ze skla tmavého. Polovina vzorků byla umístěna do lednice a skladována při teplotě 4 °C, druhá polovina vzorků byla umístěna na polici nacházející se v blízkosti okna a skladována při pokojové teplotě přibližně 21 °C. Olej zbylý v originální lahvi z tmavého skla byl skladován také v lednici při teplotě 4 °C a v pravidelných intervalech, dvakrát do týdne, byla z lahve odebrána lžice oleje za účelem simulace běžného užívání.

Olej šarže lisované v měsíci březnu, byl ihned po lisování nadávkován do originální, skleněné nádoby z tmavého skla a skladován v lednici při teplotě 4 °C. Originální sklenice byla naplněná po hrdlo a důkladně uzavřena.

Vzorky zmíněných lněných olejů byly podrobeny jednotlivým analýzám v rozmezí dnů 3- 8. 3. 2021. Vzorky první šarže oleje tak byly skladovány po dobu 104 dnů a vzorek druhé šarže byl skladován pouze 2 dny.

Přehled analyzovaných vzorků lněného oleje je uveden v tabulce 9.

Tabulka 9 Přehled vzorků lněného oleje

Vzorek	Měsíc lisování	Rok lisování	Délka skladování [dny]	Skladovací nádoba	Podmínky skladování
1.	listopad	2020	104	tmavé sklo	4 °C, tma
2.	listopad	2020	104	tmavé sklo	21 °C, světlo
3.	listopad	2020	104	čiré sklo	4 °C, tma
4.	listopad	2020	104	čiré sklo	21 °C, světlo
5.	listopad	2020	104	tmavé sklo	4 °C, tma
6.	březen	2021	2	tmavé sklo	4 °C, tma

5.2 Chemikálie

- Hydroxid draselný methanolický (IPL, Uherský Brod)
- Toluén (VWR International s.a.s., Francie)
- Methylalkohol (Ing. Petr Švec – Penta, Praha)
- Petrolether (Lachema, Brno)
- Chlorid sodný (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Síran sodný bezvodý (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod)
- Jodid draselný (Lachner, Neratovice)
- Thiosíran sodný (IPL, Uherský Brod)
- Dichroman draselný (Ing. Petr Švec – Penta, Praha)
- Chloroform (IPL, Uherský Brod)
- Kyselina octová (IPL, Uherský Brod)
- Škrob rozpustný (Ing. Petr Švec – Penta, Praha)
- Methanol (Merck KGaA, Darmstadt)

- KIT ACL (Analytik Jena, Německo)

5.3 Antioxidanty

- Rozmarýnový extrakt CO₂ (Mýdlový svět, Brumov-Bylnice)

5.4 Standardy

- Standardy mastných kyselin: kaprylové, laurové, palmitové, stearové, olejové, arachové, linolové a α -linolenová (Sigma-Aldrich spol. s.r.o., Německo)
- Trolox (ACL Kit, Analytik Jena, Německo)

5.5 Laboratorní pomůcky a přístroje

- Analytické váhy 220 g / 0,1 mg
- Plynový chromatograf Shimadzu GC 14A s plamenově ionizační detekcí (Shimadzu GmbH, Praha) – s polární kolonou Agilent DB-WAX (délka 30 m; vnitřní průměr 0,2 mm; tloušťka filmu 0,2 μ m)
- Topné hnízdo (LTHS 100, Brněnská Drutěva, ČR)
- Analytické váhy (Kern ABT 220, Německo)
- Elektromagnetická míchačka (Heidolph MR 1000, Německo)
- Vortex (Heidolph, Německo)
- Photochem (Analytik jena, Německo)
- Vodní lázeň s třepacím nástavcem-k extrakci AO pro analýzu na Photochemu (MEMMERT)
- Rancimat 892 (Metrohm, Švýcarsko)
- Běžné laboratorní sklo
- Varné kamínky

5.6 Softwary

- CSW32 software pro vyhodnocení dat z plynového chromatografu
- PCLsoft software pro vyhodnocení dat z Photochemu
- StabNet software pro vyhodnocení dat z Rancimatu

6 METODIKA

6.1 Stanovení složení mastných kyselin

Vzorky lněného oleje byly nejdříve převedeny na těkavé a termostabilní methyl-estery. Následně byla provedena analýza na plynovém chromatografu. Nejdříve byly proměřeny standardy mastných kyselin kaprylové (C8:0), laurové (C12:0), palmitové (C16:0), stearové (C18:0), olejové (C18:1), linolové (C18:2), α -linolenové (C18:3) a arachové (C20:0). Pro každou analýzu byly odebrány 2 μ l standardu a následně 2 μ l připravených, analyzovaných vzorků.

6.1.1 Příprava methyl-esterů

Do 100ml varné baňky byly naváženy přibližně 2 g vzorku lněného oleje s přesností na 0,001 g. Do baňky se vzorkem bylo následně přidáno 20 ml methanolu, 0,5 ml 1M methanolickeho hydroxidu draselného a pět kapek toluenu. Pro zabránění možného utajeného varu bylo do varné baňky přidáno také pár varných kamínků. Takto připravená varná baňka se směsí byla následně upevněna do topného hnízda a po dobu přibližně 30 minut byla směs vařena pod zpětným chladičem.

Jakmile byl obsah baňky ochlazen na laboratorní teplotu, bylo do baňky přidáno 10 ml petroletheru a 15 ml 20% roztoku NaCl. Varná baňka byla řádně uzavřena a protřepána. Obsah baňky byl následně převeden do dělicí nálevky, prostřednictvím které byla oddělena fáze vodná a organické fáze. Organická fáze byla poté opět protřepána s 15 ml 20 % roztoku NaCl a znovu převedena do dělicí nálevky. Tímto způsobem získaná organická fáze, obsahující požadované methyl-estery mastných kyselin, byla poté převedena do Erlenmeyerovy baňky a vysušena síranem sodným. Vysušený roztok byl zfiltrován přes papírový filtr do odměrné baňky a následně bylo potřebné množství roztoku pomocí Pausterovy pipety převedeno do předem připravené vialky.

6.1.2 Vlastní stanovení mastných kyselin

Analýza připravených vzorků methyl-esterů byla provedena na chromatografu Shimadzu GC 14A s plamenově ionizačním detektorem (FID) za použití polární kolony Agilent DB- WAX (délka 30 m; vnitřní průměr 0,2 mm; tloušťka filmu 0,2 μ m). Teplota nástřiku činila 225 °C a teplota detektoru 230 °C.

Nadávkování 2 μl standardu a analyzovaných vzorků bylo provedeno přes septum do injektoru pomocí mikrostříkačky. Nejdříve byl nadávkován standard a následně jednotlivé vzorky. Před každým nástřikem bylo potřeba počkat, než se přístroj ochladí na počáteční teplotu analýzy 110 °C.

S nástřikem 2 μl standardu a analyzovaného vzorku bylo současně spuštěno měření na plynovém chromatografu a také v počítači. Doba měření standardů a analyzovaných vzorků nepřesahovala 15 minut.

Na základě vyhodnocení retenčních časů a ploch píků programem CSW32 byly identifikovány a kvantifikovány mastné kyseliny obsažené ve vzorku.

6.2 Jodometrické stanovení peroxidového čísla

Nejdříve byl připraven nasycený roztok jodidu draselného (KI) a roztok thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), u kterého byla stanovena přesná koncentrace. Následně bylo provedeno stanovení peroxidového čísla u všech vzorků lněného oleje (vzorky 1-6).

6.2.1 Příprava nasyceného roztoku jodidu draselného

Do Erlenmeyerovy baňky, bylo odváženo 12,1 g KI. Následně bylo do baňky přidáno 15 ml destilované vody. Baňka byla důkladně uzavřena a protřepána. Jakmile byl práškový KI rozpuštěn, byl obsah baňky převeden do tmavé nádoby, uzavřen a umístěn do skříňky, kde byl chráněn před světlem.

6.2.2 Příprava roztoku thiosíranu sodného

Ředěním zásobního roztoku 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ byl připraven roztok $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ o koncentraci 0,01 M. Odměřených 25 ml 0,1 M roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bylo převedeno do 250ml odměrné baňky a obsah byl poté doplněn destilovanou vodou po značku. Baňka byla důkladně uzavřena a promíchána.

6.2.3 Stanovení přesné koncentrace thiosíranu sodného

Do 100ml Erlenmeyerovy baňky bylo odpipetováno 10 ml 0,01N (0,0017 M) roztoku dichromanu draselného, který byl připraven desetinásobným ředěním 0,1N zásobního roztoku dichromanu. Do roztoku byly dále přidány 2 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (HCl) a 1 ml připraveného roztoku KI.

Baňka byla uzavřena, promíchána a na pět minut umístěna do skříně, do tmy. Poté bylo do směsi přidáno 20 ml destilované vody a pět kapek škrobového mazu. Roztok byl krouživými pohyby promíchán a následně titrován připraveným 0,01M roztokem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ a to do odbarvení indikátoru.

Stanovení bylo provedeno třikrát a koncentrace $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ byla vypočtena dle rovnice 1.

$$M = \frac{0,01 \cdot b}{a} \quad (1)$$

kde:

M – přesná koncentrace $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ [M]

a – spotřeba 0,01M roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ [ml]

b – objem 0,01N $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ použitý ke stanovení [ml]

6.2.4 Vlastní stanovení peroxidového čísla

Do 250ml Erlenmeyerovy baňky byly odváženy přibližně 1,3 g analyzovaného lněného oleje, s přesností na 0,0001 g. Do baňky bylo následně přidáno 25 ml směsi chloroformu a kyseliny octové v poměru 1:1. Baňka byla uzavřena a důkladně promíchána. Po rozpuštění oleje byl přidán 1 ml roztoku KI. Baňka byla uzavřena, krouživými pohyby promíchána a umístěna na 5 minut do skříně, do tmy. Poté bylo do směsi přidáno 75 ml destilované vody a 2 ml škrobového mazu. Baňka byla umístěna na elektromagnetickou míchačku a za neustálého míchání byla směs titrována 0,01M roztokem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do odbarvení indikátoru. Stejným způsobem byl stanoven slepý pokus. Stanovení bylo provedeno u každého vzorku dvakrát. Výpočet hodnoty peroxidového čísla byl proveden dle rovnice 2.

$$\text{P. č.} = \frac{1000 \cdot M \cdot (a-b)}{n} \quad (2)$$

kde:

P. č. – hodnota peroxidového čísla [mEq O_2 /kg]

M – přesná koncentrace $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ [M]

a – spotřeba 0,01M roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při vlastním stanovení [ml]

b – spotřeba 0,01M roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při slepém pokusu [ml]

n – navážka tuku [g]

6.3 Stanovení antioxidační kapacity lněného oleje

Stanovení antioxidační kapacity v tuku rozpustných antioxidantů obsažených v lněném oleji bylo provedeno prostřednictvím analyzátoru Photochem (Analytik Jena GmbH), viz obrázek 15. Před vlastním stanovením byla připravena činidla potřebná ke slepému pokusu, ke kalibraci a následně byly připraveny roztoky vzorků lněných olejů.



Obrázek 15 Zařízení Photochem [68]

6.3.1 Měření slepého pokusu

Do vialky bylo přidáno 2300 μl methanolu, 200 μl pufru a 25 μl zásobního roztoku. Vialka byla důkladně uzavřena, protřepána a následně změřena na Photochemu.

6.3.2 Kalibrace

Nejprve byl připraven roztok standardu. Do vialky obsahující standard (Trolox) bylo přidáno 500 μl methanolu. Vialka byla uzavřena a po dobu 30-ti sekund protřepána na třepáče. Z této směsi byl následně připraven pracovní roztok standardu a to jeho naředěním 1:100, tedy 10 μl připravené směsi bylo smícháno s 990 μl methanolu. Naředěním bylo docíleno toho, že 10 μl pracovního roztoku obsahovalo 1 nmol Troloxu. Stejným způsobem byly připraveny pracovní roztoky standardu Troloxu o koncentracích 0,5; 1,0; 2,0 a 3,0 nmol.

Na základě série měření roztoků standardů pomocí programu PCLsoft byla vytvořena kalibrační křivka a vyjádřena její rovnice.

6.3.3 Příprava methanolických roztoků vzorků

Do 50ml centrifugační pipety byly odváženy přibližně 0,2 g vzorku s předností na 0,001 g. Objem centrifugační pipety byl poté doplněn methanolem na 10 ml. Pipety byly důkladně uzavřeny a homogenizovány na Vortexu. Následně byly pipety umístěny do termostatu a po dosažení teploty 50 °C byly zahřívány po dobu 30 minut. Potřebné množství methanolických roztoků bylo Pausterovými pipetami převedeno do připravených vialek.

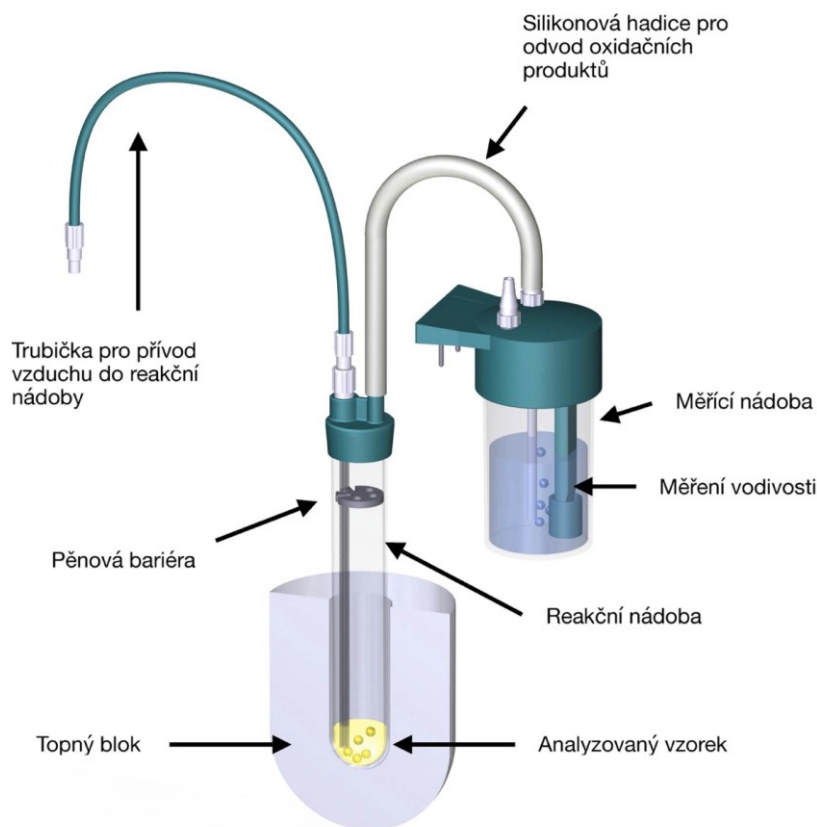
6.3.4 Vlastní stanovení antioxidační kapacity lněného oleje

Pro každé měření bylo 10 μ l methanolického roztoku vzorku smícháno s 2290 μ l methanolu, 200 μ l pufru a 25 μ l zásobního roztoku. Před každým měření bylo nutné stabilizovat Photochem měřením slepých vzorků a jednoho ze standardů, využitých pro kalibraci. Prostřednictvím programu PCLsoft bylo provedeno stanovení antioxidační kapacity lipofilních antioxidantů a výsledky byly uvedeny v ekvivalentních koncentračních jednotkách standardu Troloxu.

6.4 Stanovení oxidační stability přístrojem Rancimat

Stanovení oxidační stability vzorků lněného oleje bylo provedeno přístrojem Rancimat 892 (Metrohm), který byl řízen přes počítač prostřednictvím softwaru StabNet. Při měření bylo postupováno dle normy ISO 6886:2016 [65].

Jedná se o zařízení o osmi měřících pozicích, které jsou uspořádány do dvou samostatně nastavitelných, topných bloků. V rámci jednoho měření lze každý blok nastavit na jinou teplotu. Polovina vzorků tak může být měřena při jiné teplotě než polovina druhá. Firma Metrohm navíc zaručuje konstantní teplotu ve všech pozicích [65]. Popis jedné měřící pozice je znázorněn na obrázku 16.



Obrázek 16 Popis jedné měřicí pozice zařízení Rancimat 892 [65]

Ke každému měření byly do reakční nádoby odebrány přibližně 3 g vzorku a měření bylo provedeno při teplotách 100 a 110 °C. Kontinuální průtok vzduchu v reakčních nádobách byl nastaven na hodnotu 20 l/h. Těkavé produkty oxidace byly jímány do měřících nádob s 50 ml destilované vody, ve kterých probíhalo měření vodivosti.

Výsledkem měření je indukční doba (IT), která je parametrem urychlené oxidace. Indukční doba byla automaticky zaznamenávána prostřednictvím softwaru StabNet. Platí, že čím je indukční doba delší, tím je oxidační stabilita vzorku vyšší [65].

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Zastoupení mastných kyselin

Složení mastných kyselin bylo stanoveno u vzorků lněného oleje 5 a 6. Oba oleje byly lisovány ze stejné šarže lněných semen původem z Indie. Vzorek 5 lisovaný dne 19. 11. 2020 byl ihned po vylisování nadávkován do tmavé lahve, skladován při teplotě 4 °C a v pravidelných intervalech, dvakrát do týdne, byla z lahve odebrána lžice oleje za účelem simulace běžného užívání. Vzorek 6 lisovaný dne 1.3. 2021 byl ihned po vylisování nadávkován do originální, skleněné nádoby z tmavého skla a skladován v lednici při teplotě 4 °C. Originální sklenice byla naplněná po hrdlo a důkladně uzavřena.

Oba vzorky byly podrobeny analýze dne 3. 3. 2021, kdy byl vzorek 5 starý 104 dní a vzorek 6 byl starý 2 dny. Přehled analyzovaných vzorků lněného oleje je uveden v tabulce 9 (kapitola 6.1).

Ve lněném oleji byly identifikovány mastné kyseliny palmitová, stearová, olejová, linolová a α -linolenová. Zastoupení jednotlivých mastných kyselin dle PI-II je uvedeno v tabulce 10.

Tabulka 10 Zastoupení mastných kyselin ve lněném oleji

Mastná kyselina	Vzorek č. 5 [%]	Vzorek č. 6 [%]	Dle studie [69] [%]
Palmitová	5,60	5,70	5,51
Stearová	5,60	5,30	5,97
Olejová	20,20	20,70	25,60
Linolová	13,60	13,50	16,33
α -linolenová	55,00	54,70	46,63

Výsledky stanovení potvrdily, že oba lněné oleje byly lisovány ze stejné šarže lněných semen a v rámci skladování nedošlo k významným změnám v zastoupení mastných kyselin.

V nejvyšším množství byla ve vzorcích lněného oleje zastoupena kyselina α -linolenová, jejíž obsah se pohyboval okolo 55 %. V množství přesahující 20 % byla zastoupena kyselina olejová a přes 13 % tvořila kyselina linolová. Obsaženy byly také nasycené mastné kyseliny palmitová a stearová v množstvích přesahujících 5 %. Složení vzorků lněného oleje odpovídalo studii [69] zaměřené na složení lněného oleje taktéž původem z Indie (tabulka 10).

Na základě obsahu a typů zastoupených zejména polyenových mastných kyselin (PUFA) lze posoudit oxidační stabilitu rostlinných olejů. Za rostlinný olej disponující podobnými vlastnostmi je považován olej konopný. Zatímco u lněného oleje obsah PUFA přesahuje 60 %, u oleje konopného přesahuje dokonce 70 %. Z PUFA je v konopném oleji v nejvyšším množství zastoupena kyselina linolová (59 %) a kyselina α -linolenová (18 %) [70].

Naopak vychází porovnání lněného oleje se složením vysoce stabilního řepkového oleje, kde je obsah polynenasycených mastných kyselin poloviční. Obsah kyseliny linolové se v řepkovém oleji pohybuje v rozmezí 11-23 % a obsah α -linolenové v rozmezí 5-13 % [7].

Vzhledem k vysokému obsahu PUFA je lněný olej spolu s olejem konopným řazen do skupiny vysychavých rostlinných olejů, které snadno podléhají oxidačním procesům a disponují nízkou oxidační stabilitou [7].

7.2 Výsledky stanovení peroxidového čísla

Stanovení peroxidového čísla bylo provedeno u všech vzorků lněného oleje (vzorky 1-6, viz tabulka 9). Zjištěné hodnoty peroxidového čísla vyjádřené jako mEq O₂ / kg jsou uvedeny v tabulce 11 a v příloze P III.

Tabulka 11 Výsledky stanovení peroxidového čísla u vzorků lněného oleje

Vzorek č.	PR + SMVO [mEq O ₂ / kg]
1	0,758 ± 0,006
2	0,759 ± 0,001
3	2,096 ± 0,267
4	34,856 ± 0,237
5	0,747 ± 0,023
6	0,372 ± 0,004

Hodnoty peroxidových čísel (P.č.) u vzorků první šarže lněného oleje (vzorky 1-5) se pohybovaly v rozmezí 0,758-2,096 mEq O₂ / kg. Výjimkou byl vzorek lněného oleje skladovaný v nádobě z čírého skla a při pokojové teplotě (vzorek 4), u kterého hodnota P.č. 34,856 mEq O₂ / kg dokonce přesahovala legislativní limit 15 mEq O₂ / kg [71]. Nejvyšší množství primárních oxidačních produktů bylo detekováno u vzorků olejů skladovaných v nádobách z čírého skla (vzorky 3 a 4). Hodnoty P.č. stanovených u vzorků olejů první šarže skladovaných v nádobě z tmavého skla (vzorky 1, 2 a 5) se významně nelišily a v porovnání se vzorky skladovanými v nádobách z čírého skla, byly nižší. Z porovnání hodnot peroxidového čísla vyplývá, že fotodegradace lněného oleje převažovala nad degradací tepelnou.

Hodnota P.č. stanovená u vzorku druhé šarže oleje, čerstvého lněného oleje (vzorek 6), byla v porovnání s vzorky první šarže nižší a činila 0,372 mEq O₂ / kg.

Dle studií zabývajících se oxidační stabilitou čerstvě lisovaných lněných olejů, byly hodnoty P.č. v porovnání s vzorkem 6 vyšší a pohybovaly se v rozmezí 2,000-2,340 mEq O₂ / kg [53,72]. Podmínky lisování byly navíc téměř totožné. Rozdíly mohou být způsobeny rozdílným složením výchozích lněných semen. Hodnoty P.č. stanovené u komerčně dostupných lněných olejů jsou ve srovnání s čerstvě lisovanými oleji vyšší a pohybují se kolem hodnoty 5,350 mEq O₂ / kg [73].

Jak bylo zmíněno v předcházející kapitole odolnost rostlinných olejů vůči oxidaci se odvíjí také od složení mastných kyselin. Zatímco u komerčně dostupného konopného oleje, který v porovnání s olejem lněným obsahuje vyšší množství polynenasycených mastných kyselin, hodnota P.č. byla vyšší a činila 8,360 mEq O₂ / kg. Naopak u komerčně dostupného oleje řepkového, s nižším množstvím polynenasycených mastných kyselin, hodnota P.č. byla nižší a činila 0,520 mEq O₂ / kg [74,75].

7.3 Výsledky stanovení antioxidační kapacity lněného oleje

Stanovení antioxidační kapacity v oleji obsažených lipofilních antioxidantů (ACL) bylo provedeno u všech vzorků lněného oleje (vzorky 1-6, viz tabulka 9). Jako standard byl použit Trolox, který je analogem vitamínu E. Antioxidační kapacita je termín, který charakterizuje souhrnnou koncentraci látek s antioxidačními účinky. Výsledné hodnoty stanovení ACL vyjádřené v ekvivalentních koncentračních jednotkách Troloxu jsou uvedeny v tabulce 12 a v příloze (P IV).

Tabulka 12 Výsledné hodnoty stanovení ACL

Vzorek č.	PR + SMVO [mg / g]
1	0,24 ± 0,01
2	0,22 ± 0,02
3	0,23 ± 0,01
4	0,19 ± 0,01
5	0,21 ± 0,01
6	0,23 ± 0,00

Hodnoty ACL u vzorků první šarže lněného oleje (vzorky 1-5) se pohybovaly v rozmezí 0,19-0,24 mg / g. Nejnižší koncentrace lipofilních antioxidantů byla stanovena u vzorku 4, lněného oleje skladovaného v nádobě z čirého skla za pokojové teploty po dobu 104 dní. U ostatních vzorků olejů první šarže a u vzorku lněného oleje druhé šarže, čerstvého lněného oleje (vzorek 6), nebyly zjištěny významné rozdíly.

Dle výsledných hodnot ACL u vzorku oleje první šarže (vzorek 1) a vzorku oleje druhé šarže (vzorek 6) skladovaných při teplotě 4 °C, v nádobách z tmavého skla, které byly po celou dobu skladování důkladně uzavřeny vyplývá, že výchozí lněná semena obsahovala podobnou koncentraci lipofilních antioxidantů. Na základě zjištěných dat lze předpokládat, že semena byla skladována za ideálních podmínek, v rámci kterých byl obsah antioxidantů zachován.

Porovnání skupiny rostlinných olejů z hlediska jejich antioxidačních kapacit se věnuje studie [63], ve které jsou výsledné hodnoty ACL uvedeny v ekvivalentních koncentračních jednotkách Troloxu v mM/l. Dle studie se hodnoty ACL u oleje lněného pohybovaly kolem 1,0 mM/l. Podobné hodnoty byly stanoveny u oleje z vlašských ořechů (1,1 mM/l) a u oleje řepkového (1,2 mM/l). Avšak nejvíce spekulovaným olejem byl olej z černého kmínu, u kterého hodnota ACL činila 7,7 mM/l [63].

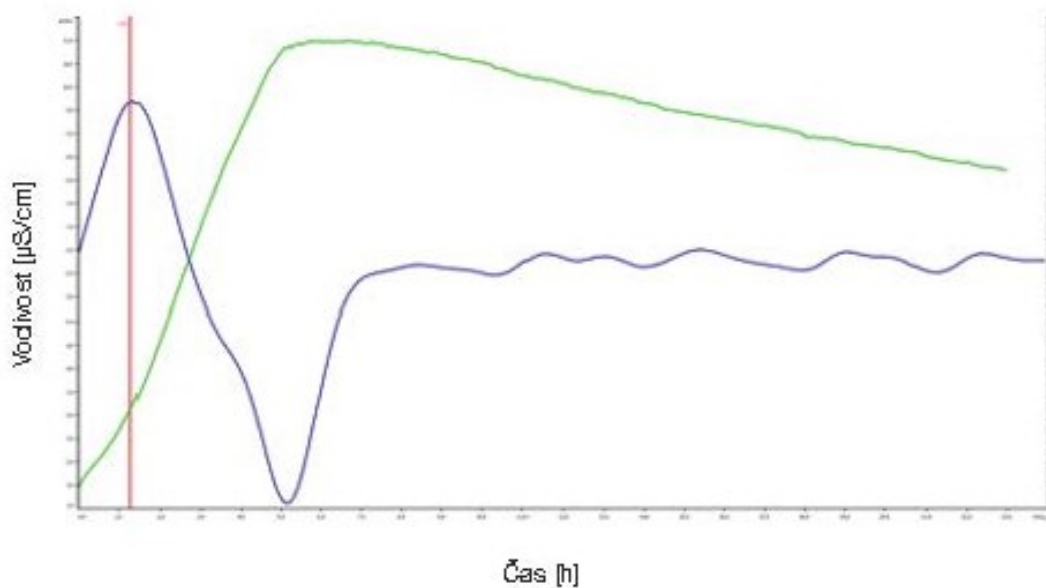
7.4 Výsledky stanovení oxidační stability přístrojem Rancimat

Předmětem stanovení oxidační stability přístrojem Rancimat 892 (Methorm) byly vzorky skladované v nádobách z čirého skla (vzorky 3, 4) a vzorky skladované v nádobách ze skla tmavého (vzorky 5, 6). Oxidační stabilita vzorků byla studována při teplotách 100 a 110 °C. Průtok vzduchu činil 20 l/h. Oxidační produkty byly jímány do 50 ml destilované vody. Každý ze vzorků byl proměřen ve dvou pozicích. Z jednoho měření byly pro každý vzorek získány dvě výsledné hodnoty. V rámci jednoho měření byly navíc vzorky olejů s čísly 5 a 6 obohaceny o extrakt z rozmarýnu (AO, přírodní antioxidant).

Jak bylo zmíněno již v kapitole 7.4 výsledkem měření oxidační stability je tzv. indukční doba (IT), která je parametrem urychlené oxidace. Jedná se o dobu, která uplyne do vzniku sekundárních reakčních produktů. Tedy do vzniku těkavých látek, které vznikají při zahřívání vzorků olejů a jsou jímány do destilované vody za zvýšení měřené vodivosti.

Indukční doba byla vyhodnocena formou grafů a tabulek prostřednictvím softwaru StabNet [65]. Ve vygenerovaných tabulkách byly indukční doby uvedeny v hodinách. V grafech byly indukční doby zaznamenány v hodinách a měřená vodivost v jednotkách $\mu\text{S/cm}$.

Příklad grafické závislosti času a měřené vodivosti je znázorněn na obrázku 17. Kde zelenou křivkou je znázorněna vodivost, modrou křivkou její druhá derivace a červenou svislou čarou je zaznačen výsledný indukční čas.



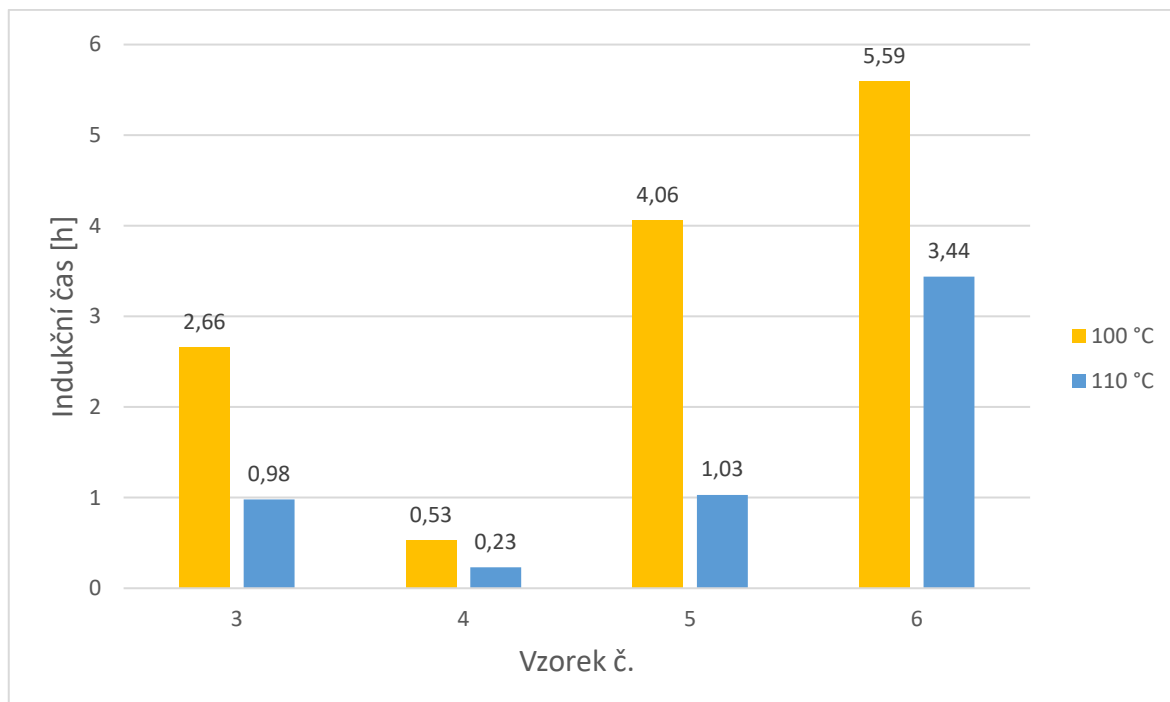
Obrázek 17 Záznam průběhu měření a vyhodnocení vzorku číslo 5 při teplotě 100 °C

7.4.1 Oxidační stabilita vzorků lněných olejů

Předmětem měření byly vzorky s čísly 3-6 (viz tabulka 9), u kterých byla oxidační stabilita studována při teplotách 100 a 110 °C. Výsledné indukční časy včetně navážek vzorků byly zapsány v tabulce 13 a jejich průměrné hodnoty byly pro větší přehlednost vyneseny do grafu (obrázek 18). Ve dvou středových pozicích Rancimatu pro vzorky č. 5 a 6 však nebyly indukční časy prostřednictvím softwaru StabNet vyhodnoceny, v tabulce označeno písmenem N (nevyhodnoceno). Ve sloupci průměrných hodnot jsou tak uvedeny pouze hodnoty z krajních poloh Rancimatu, které software vyhodnotil bez problémů. Měření při teplotě 100 °C probíhalo 23,05 h. Při teplotě 110 °C byly indukční časy vzorků olejů vyhodnoceny dříve, a to již po 9,3 h.

Tabulka 13 Indukční časy vzorků lněného oleje stanovené při teplotách 100 a 110 °C

Vzorek č.	Teplota [°C]		1.pozice	2.pozice	PR + SMVO [h]
3	100	IT [h]	1,29	4,02	2,66 ± 1,93
		m [g]	3,10	3,12	3,11 ± 0,01
	110	IT [h]	0,92	1,04	0,98 ± 0,09
		m [g]	3,09	3,10	3,10 ± 0,01
4	100	IT [h]	0,53	N	0,53 ± 0,00
		m [g]	3,13	3,11	3,13 ± 0,00
	110	IT [h]	0,25	0,2	0,23 ± 0,00
		m [g]	3,13	3,10	3,12 ± 0,02
5	100	IT [h]	4,06	N	4,06 ± 0,00
		m [g]	3,11	3,11	3,11 ± 0,00
	110	IT [h]	1,07	0,98	1,03 ± 0,06
		m [g]	3,09	3,12	3,11 ± 0,02
6	100	IT [h]	5,02	6,16	5,50 ± 0,81
		m [g]	3,10	3,09	3,10 ± 0,00
	110	IT [h]	3,35	3,53	3,44 ± 0,13
		m [g]	3,12	3,11	3,15 ± 0,00



Obrázek 18 Indukční časy vzorků lněného oleje stanovené při teplotě 100 a 110 °C

U všech měřených vzorků při teplotě 110 °C docházelo k nárůstu vodivosti, a tedy k tvorbě oxidačních produktů rychleji než při teplotě 100 °C. Ze stanovení dále vyplývá, že u lněných olejů skladovaných při teplotě 4 °C a v nádobách z tmavého skla v porovnání se vzorky skladovanými v nádobách ze skla čirého docházelo k pozdější tvorbě oxidačních produktů. Vzorky 5 a 6 tak disponovaly vyšší oxidační stabilitou.

Nejdelší indukční čas 5,6 h byl zaznamenán u čerstvého lněného oleje při teplotě 100 °C, u kterého bylo měření provedeno 2 dny po vylisování. Během skladování v chladu a temnu po dobu 104 dnů došlo ke zkrácení indukční doby na 4 h při stejné teplotě měření, a tedy k mírnému snížení oxidační stability oleje (vzorek 5). U vzorků skladovaných v nádobách z čirého skla došlo k významnému poklesu indukční doby na 2,7 h při skladování v chladu (vzorek 3) a u vzorku skladovaného při pokojové teplotě došlo k poklesu IT až na 0,5 h (vzorek 4). Tyto podmínky skladování u lněného oleje tak významně snížily jeho oxidační stabilitu.

Současně byly během měření pozorovány také změny zbarvení měřených vzorků. Intenzita oranžovo-žlutého zbarvení analyzovaných lněných olejů se během měření snižovala a na konci měření disponoval lněný olej světle žlutou barvou. Během zahřívání docházelo také k významnému pění, zejména u čerstvého lněného oleje (vzorek 6), a k postupné tvorbě souvislého filmu polymeru.

Stanovené hodnoty IT uvedené ve studii [72] zabývající se taktéž oxidační stabilitou čerstvě lisovaných lněných olejů při teplotě 100 a 110 °C byly podobné námi stanoveným hodnotám IT čerstvého lněného oleje (vzorku 6). Při teplotě 100 °C byla u těchto vzorků stanovena IT 4 h a při teplotě 110 °C 1,5 h. Složení studovaných lněných olejů bylo podobné složení lněného oleje společnosti Bewit [72].

Dle studií [76, 77] se hodnoty IT stanovené při teplotě 100 °C u komerčně dostupných lněných olejů pohybovaly v rozmezí 3-4 h a u komerčně dostupných konopných olejů se IT pohybovaly v rozmezí 5-6 h. Studie [75] zabývající se oxidační stabilitou nerafinovaných a rafinovaných řepkových olejů při teplotě 110 °C potvrdila, že se oxidační stabilita odvíjí nejen od způsobu jejich skladování, ale také od procesu jejich výroby. Zatímco se oxidační stabilita u nerafinovaných řepkových olejů odvíjela od způsobu skladování a oleje skladované v nádobách z tmavého skla disponovaly vyšší oxidační stabilitou. U rafinovaných řepkových olejů nebyly v závislosti na typu skladované nádoby zaznamenány rozdíly v jejich oxidační stabilitě. Navíc v porovnání s lněným olejem docházelo ke vzniku oxidačních produktů později. U nerafinovaného řepkového oleje skladovaného v nádobě z tmavého skla docházelo k tvorbě oxidačních produktů po 8,8 hodinách a u rafinovaného řepkového oleje později, po 9,5 hodinách [75].

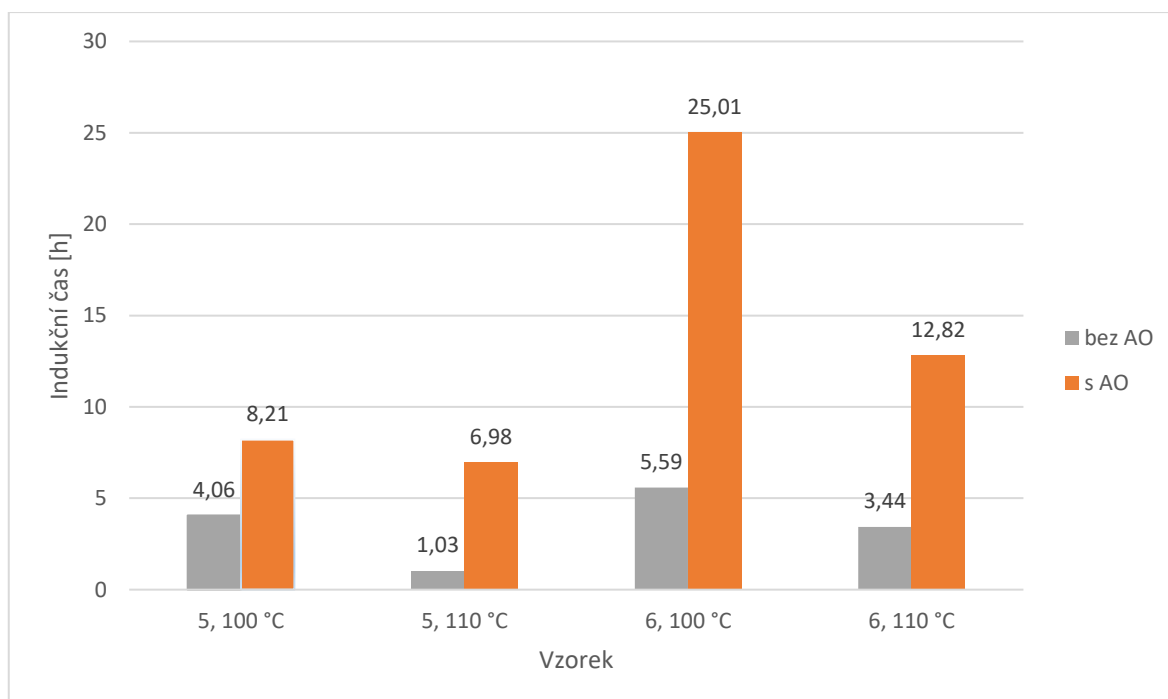
Studie [77] zabývající se stejným tématem vyzdvihovala oxidační stabilitu vzorku za studena lisovaného oleje z černého kmínu, u kterého hodnota IT činila 38,22 h a to i přes vysoký obsah polynenasycených mastných kyselin, který činil 60 %. Tento fakt může souviset také s jeho vysokou antioxidační kapacitou [77].

7.4.2 Oxidační stabilita vzorků lněných olejů s přidavkem antioxidantu

Předmětem měření byly vzorky s čísly 5 a 6, tzn. s rozdílnou dobou skladování 104 dnů a 2 dny, oba vzorky byly uchovávány v temnu a chladu. Oxidační stabilita byla studována při teplotách 100 a 110 °C u olejů čistých a u olejů, do kterých bylo přidáno 0,2 % extraktu z rozmarýnu (AO, přírodní antioxidant). Celkový čas měření činil 23,05 h. Výsledné indukční časy a navážky vzorků byly zapsány v tabulce 14 a jejich průměrné hodnoty byly pro větší přehlednost vyneseny do grafu (obrázek 19).

Tabulka 14 Indukční časy vzorků lněných olejů s přidáním AO stanovené při teplotách 100 a 110 °C

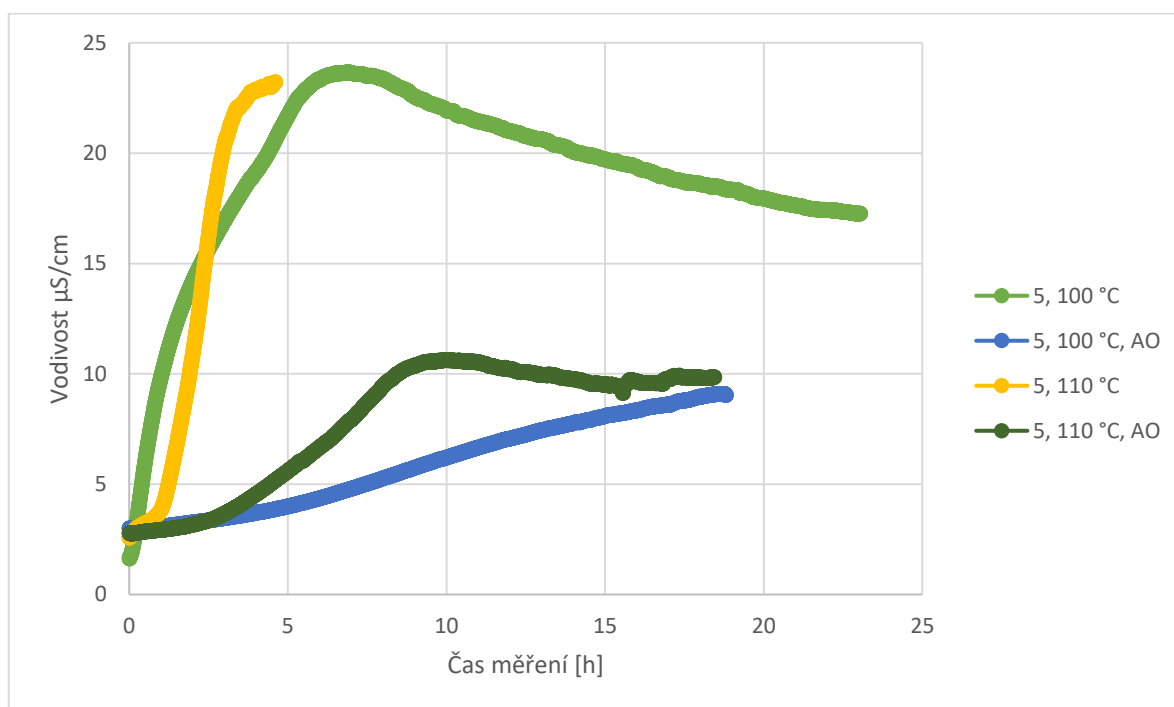
Teplota [°C]	Vzorek č.		1.pozice	2.pozice	PR + SMVO [h]
100	5 + AO	IT [h]	8,37	8,05	8,21 ± 0,23
		m [g]	3,0725	3,1047	3,10 ± 0,02
	6 + AO	IT [h]	25,30	24,71	25,01 ± 0,17
		m [g]	3,0344	3,0251	3,03 ± 0,01
110	5 + AO	IT [h]	7,53	6,43	6,98 ± 0,61
		m [g]	3,0093	3,0310	3,02 ± 0,00
	6 + AO	IT [h]	13,07	12,56	12,82 ± 0,36
		m [g]	3,0156	3,0284	3,02 ± 0,01



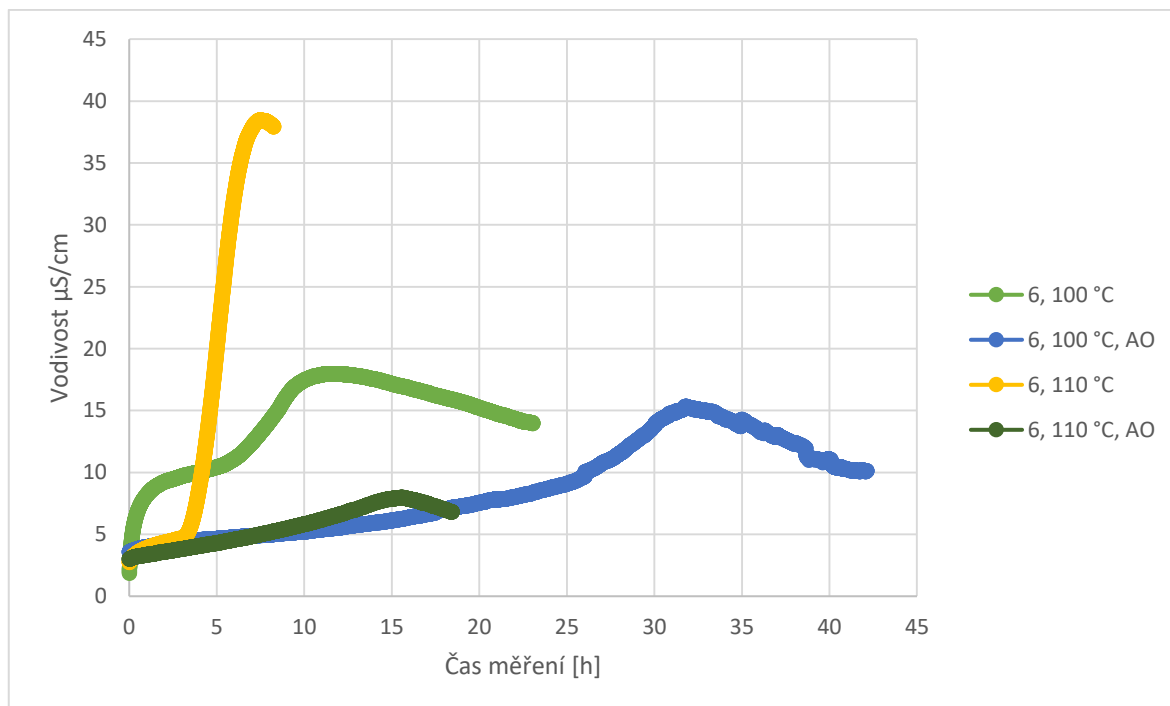
Obrázek 19 Indukční časy vzorků č. 5 a 6 čistých a s přidáním AO stanovené při teplotách 100 a 110 °C

U vzorku 5 s přidavkem antioxidantu byl zaznamenán indukční čas 8,21 h při 100 °C (respektive 6,98 při 110 °C) a u vzorku 6 s přidavkem AO byl zaznamenán IT 25,01 h při 100 °C (respektive 12,8 h při 110 °C). Ve všech případech došlo k několikanásobnému prodloužení IT ve srovnání se vzorky bez přidaného antioxidantu, jak je znázorněno na obrázku 21. U vzorku 5 došlo při teplotě 100 °C ke zdvojnásobení hodnoty IT a při zvýšení teploty na 110 °C dokonce k sedminásobnému zvýšení hodnoty IT. U vzorku 6 došlo u obou teplot ke čtyř až pětinásobnému prodloužení IT v porovnání s měřením bez přidavku AO.

Na obrázcích 20 a 21 je znázorněna změna vodivosti zachycená vodivostní sondou v měřicí nádobce v průběhu měření vzorků bez antioxidantu a s přidavkem antioxidantu. Posun maxima měřením směrem k delším časům je zřejmý jak u obou vzorků, tak i u obou teplot degradace.



Obrázek 20 Změny vodivosti v závislosti na časech měření vzorku č. 5 a vzorku č. 5 s AO při teplotách 100 a 110 °C



Obrázek 21 Změny vodivosti v závislosti na časech měření vzorku č. 6 a vzorku č. 6 s AO při teplotách 100 a 110 °C

Přídavkem antioxidantu byla doba vzniku těkavých degradačních produktů oxidace významně prodloužena. U čerstvě lisovaného lněného oleje (vzorek 6) byla IT prodloužena dokonce o desítky hodin. Indukční doby byly významně prodlouženy zejména při teplotě 110 °C.

Studie [78] která se zabývala oxidační stabilitou lněného oleje s přidanými antioxidanty došla k závěru, že nejvyšší antioxidantní působení vykazovaly syntetické. Zatímco při teplotě 110 °C docházelo k tvorbě oxidačních produktů u čistého lněného oleje již po 2,4 hodinách, po přídavku syntetického antioxidantu terciálního butylhydrochinonu docházelo k jejich tvorbě až po 27,5 hodinách, a to již při jeho velmi nízké koncentraci 400 ppm. S hodnotou IT 18,1 h jej následoval askorbyl palmitát a s 5,0 h ho následoval přírodní antioxidant kyselina taninová. Přídavkem v hodných antioxidantů, s ohledem na jejich antioxidantní kapacitu a mechanismus působení lze dosáhnout výrazného zvýšení oxidační stability těchto nestabilních rostlinných olejů, což má velký význam pro rozšíření možností jejich používání jak pro potravinářské, tak pro jiné aplikace [78].

ZÁVĚR

Díky svému přirozenému složení je lněný olej spojován s četnými příznivými účinky na lidský organismus. Zejména pro obsažené esenciální omega-3 a omega-6 mastné kyseliny disponuje významnou nutriční hodnotou. Vysoký obsah polynenasycených mastných kyselin však souvisí také s jeho nízkou trvanlivostí a oxidační stabilitou. Diplomová práce se zabývala sledováním těchto změn u vzorků za studena lisovaného lněného oleje společnosti Bewit.

Analýzám byly podrobeny vzorky dvou šarží olejů lisovaných dne 19. 11. 2020 a 1.3. 2021. Pro zjištění oxidačních změn v oleji byly použity metody stanovení složení mastných kyselin pomocí plynové chromatografie, stanovení peroxidového čísla, stanovení oxidační kapacity přístrojem Photochem a metoda zrychlené oxidace přístrojem Rancimat 892.

Lněné oleje byly lisovány ze semen stejného původu, což bylo potvrzeno stanovením složení mastných kyselin. V nejvyšším množství byla ve lněném oleji obsažena mastná kyselina α -linolenová (54,9 %), dále pak kyselina olejová (20,5 %) a linolová (13,5 %).

Vzorky lněného oleje se lišily délkou skladování, teplotou skladování a průhledností obalu. U všech vzorků byla stanovena hodnota peroxidového čísla, která patří mezi běžné ukazatele určující kvalitu olejů. S její rostoucí hodnotou klesala kvalita analyzovaných olejů. Nejvyšší hodnoty peroxidových čísel byly stanoveny u vzorků lněného oleje skladovaných v nádobách z čírého skla. U vzorku oleje skladovaného v nádobě z čírého skla a za pokojové teploty stanovená hodnota peroxidového čísla dokonce přesahovala legislativou daný limit.

Z výsledků stanovení antioxidační kapacity přístrojem Photochem nebyly zjištěny významné rozdíly. Mírný pokles antioxidační kapacity v porovnání s ostatními vzorky olejů byl detekován u vzorku lněného oleje skladovaného v nádobě z čírého skla, při pokojové teplotě.

U vzorků s rozdílnou délkou skladování v temnu a chladu byla studována jejich oxidační stabilita při teplotách 100 a 110 °C. Výsledným parametrem byl indukční čas, s jeho rostoucí hodnotou se zvyšovala oxidační stabilita oleje. Na základě měření bylo zjištěno, že u vzorků olejů skladovaných v nádobách z čírého skla a za pokojové teploty docházelo k tvorbě oxidačních produktů rychleji než u vzorků skladovaných v nádobách ze skla tmavého za nižších teplot. Při teplotě 110 °C docházelo k tvorbě oxidačních produktů rychleji. Oxidační stabilita studovaných vzorků olejů se odvíjela také od délky skladování. U vzorků 2 dny starého lněného oleje byla v porovnání se 104 dny starým lněným olejem oxidační stabilita

vyšší. Avšak ve srovnání s ostatními rostlinnými oleji je oxidační stabilita čerstvě lisovaného lněného oleje nízká. Obecně platí, že s rostoucím obsahem nenasycených mastných kyselin klesá oxidační stabilita oleje. Lněný olej sice obsahuje řadu přirozených antioxidantů, avšak ty se po čase vytrácejí a jejich antioxidantní aktivita není tak vysoká. V praxi lze rostlinné oleje stabilizovat přidávkem antioxidantů. Vybrané vzorky lněného oleje byly obohaceny o 0,2 % extraktu z rozmarýnu (přírodního antioxidantu) a oxidační stabilita u nich byla studována taktéž při teplotě 100 a 110 °C. Přídavek antioxidantů jejich oxidační stabilitu několikanásobně zvýšil.

Z výsledků vyplývá, že vystavování čerstvě lisovaného lněného oleje světlu, pokojovým a vyšším teplotám snižuje jeho kvalitu a oxidační stabilitu. Pro zajištění jeho maximální stability by měl být olej ihned po vylisování převeden do lahví z tmavého skla a skladován v temnu a chladu. Případný přídavek antioxidantu by měl být aplikován taktéž ihned po vylisování.

Urychlení oxidačních procesů v oleji kontrolovaným zvýšením teploty a přívodem vzduchu pomocí přístroje Rancimat 892 umožňuje hodnotit oxidační stabilitu oleje prostřednictvím změn vodivosti. Díky tomuto principu se jedná o relativně jednoduchou metodu, jejíž výhodou jsou také nízké nároky na obsluhu a eliminace použití chemických činidel. Na základě tohoto stanovení je možné účinně nastavit optimální podmínky pro zacházení s potravinářsky významnými oleji, optimalizovat podmínky jejich skladování, výběr obalového materiálu, případně posoudit význam přidávaných antioxidantů.

CITOVANÁ LITERATURA

- [1] FRANCO, Eryvelton Souza, Paloma Lys MEDEIROS, Liriane Baratella EVÊNCIO a Alexandre José SILVA GÓES. Effect of a Semisolid Formulation of *Linum usitatissimum* L. (Linseed) Oil on the Repair of Skin Wounds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012, 1-7.
- [2] ZUK, Magdalena, Dorota RICHTER, Jan MATUŁA a Jan SZOPA. Linseed, the multipurpose plant. *Industrial Crops and Products*. 2015, (30), 165-177.
- [3] ROUETTE, H-K. *Encyclopedia of Textile Finishing*. 1. Chicago: Woodhead Publishing, 1995. ISBN 9781845690663.
- [4] LAZZARI, Massimo a Oscar CHIANTORE. Drying and oxidative degradation of linseed oil. *Polymer Degradation and Stability*. 1999, **65**(2), 303-313.
- [5] O'BRIEN, Richard D., Walter E. FARR a Peter J. WAN. *Introduction to Fats and Oils Technology*. 2. Amer Oil Chemists Society, 2000. ISBN 978-1893997134.
- [6] NYKTER, M., H-R. KYMÄLÄINEN a F. GATES. Quality characteristics of edible linseed oil. *Agricultural and Food Science*. 2006, **15**(4), 402-413.
- [7] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin I*. 3. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [8] FIRESTONE, David. *Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats, and Waxes*. 2. AOCS Press, 2006. ISBN 978-1-61583-197-5.
- [9] LEWINSKA, Anna, Jacek ZEBROWSKI, Magdalena DUDA, Anna GORKA a Maciej WNUK. Fatty Acid Profile and Biological Activities of Linseed and Rapeseed Oils. *Molecules*. 2015, **20**(12), 22872-22880.
- [10] 4.3.9.3 Composition and Properties of Linseed and its Oil. BOCKISCH, Michael. *Fats and Oils Handbook* [online]. 1. Academic Press and AOCS Press, 2015, s. 279- 280 [cit. 2021-1-15]. ISBN 9780128043554. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0068MU62/fats-oils-handbook/linseed-oi-composition>
- [11] LIST, Gary. *Bleaching and Purifying Fats and Oils*. 2. Academic Press and AOCS Press, 2009. ISBN 9780128043509.
- [12] 2.4 Extraction and Uses. GUNSTONE a FRANK D. *Modifying Lipids for Use in Food* [online]. Woodhead Publishing, 2006 [cit. 2021-1-15]. ISBN 978-1-84-569168-4. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt003Z67L3/modifying-lipids-use/extraction-and-uses>
- [13] MATTHÄUS, Bertrand a Mehmet Musazcan ÖZCAN. Oil Content, Fatty Acid Composition and Distributions of Vitamin-E-Active Compounds of Some Fruit Seed Oils. *Antioxidants*. 2015, **4**(1), 124-133.

[14] KOSTIK, VESNA, MEMETI, SHABAN, BAUER a BILJANA. Fatty acid composition of edible oils and fats. *Journal of Hygienic Engineering and Design*. 2013, (4), 112-116. ISSN 978-608-4565-03-1.

[15] Table 4.73. Fact File of Different Minor Edible Oils and Fats. BOCKISCH, Michael. *Fats and Oils Handbook* [online]. 1. Academic Press and AOCS Press, 2015 [cit. 2021- 1- 20]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/itble/rcid:kpFOH00001/id:kt009AJI65/fats-oils-handbook/table-4-73-fact-file>

[16] 2.1.3 Hemp Seed Oil Composition. TALBOT, GEOFF. *Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition - Properties, Processing and Applications* [online]. 2. Elsevier, 2015 [cit. 2021- 1- 25]. ISBN 978- 1- 444- 33684- 9. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpSOFFNPP4/specialty-oils-fats-in/specialty-oils-fats-in>

[17] [online]. HAMM, Wolf HAMILTON, Richard J. CALLIAUW a GIJS. 2. John Wiley, 2013 [cit. 2021- 2- 1]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpEOPE000C/edible-oil-processing/edible-oil-processing>

[18] FERRARI, R.Ap., E. SCHULTE, W. ESTEVES, L. BRIIHL a K.D. MUKHERJEE. Minor Constituents of Vegetable Oils During Industrial Processing. *Journal of the american chemical society*. 1996, **73**(5), 587-590.

[19] RAFAŁOWSKI a RYSZARD. Fatty Acid Composition, Tocopherols and Beta-Carotene Content in Polish Commercial Vegetable Oils. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2008, **7**(2), 278-282.

[20] HAMPL, František, Stanislav RÁDL a Jaroslav PALEČEK. *Farmakochemie-Vitaminy skupiny E*. 1. Praha: VŠCHT Praha, 2007. ISBN 978-80-7080-639-5.

[21] KOPLÍK, Richard. *Vitaminy* [online]. In: s. 1-5 [cit. 2021-2-1]. Dostupné z: https://web.vscht.cz/~koplikr/CHP_vitaminy_2018.pdf

[22] EITENMILLER, Ronald R. a Junsoo LEE. *Vitamin E Food Chemistry, Composition, and Analysis* [online]. 1. CRC Press, 2004 [cit. 2021-2-1]. ISBN 9780824706883. Dostupné z: www.books.google.com

[23] AHMEDA, M. Khaliq, James K. DAUNB a Roman PRZYBYLSKIC. FT-IR based methodology for quantitation of total tocopherols, tocotrienols and plastochromanol-8 in vegetable oils. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005, (18), 359-364.

[24] Properties, Processing and Applications - 2.2.3 Flaxseed Oil Composition. TALBOT, Geoff. *Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition* [online]. 1. Woodhead Publishing, 2015 [cit. 2021- 2- 5]. ISBN 9781782423973. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpSOFFNPP4/specialty-oils-fats-in/specialty-oils-fats-in>

- [25] DAUN, James K., N.A. Michael ESKIN a Dave HICKLING. *Canola - Chemistry, Production, Processing and Utilization* [online]. 1. AOCS Press, 2011 [cit. 2021-2-6]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpCCPPU001/canola-chemistry-production/canola-chemistry-production>
- [26] SHAHIDI a FEREIDOON. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* [online]. 6. John Wiley, 2005 [cit. 2021- 2- 6]. ISBN 978- 0- 471- 38460- 1. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpBIOFPVE1/baileys-industrial-oil/baileys-industrial-oil>
- [27] MORAVCOVÁ, Jitka. *Biologicky aktivní přírodní látky*. Praha, 2006.
- [28] DAMODARAN, Srinivasan. *Fennema's Food Chemistry* [online]. 5. CRC Press, 2017 [cit. 2021- 2- 7]. ISBN 9781482208122. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpFFCE001G/fennemas-food-chemistry/fennemas-food-chemistry>
- [29] HE, Y., K. WANG a L. WANG. EFFECT OF -TOCOPHEROL AND B-CAROTENE SUPPLEMENTATION ON MEAT QUALITY AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF PIGS FED HIGH-LINSEED OIL DIET. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 2010, **20**(3), 180-188.
- [30] ABIDI, S.L. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. *Journal of Chromatography A*. 2000, (881), 197-216.
- [31] SHAHIDI a FEREIDOON. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products: 3.12.2 The Chemistry of Minor Lipid Components* [online]. 6. John Wiley, 2005 [cit. 2021-2-8]. ISBN 978- 0- 471- 38460- 1. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt003Y1ABS/baileys-industrial-oil/chemistry-minor-lipid>
- [32] TRELA, Agnieszka a Renata SZYMAŃSKA. Less widespread plant oils as a good source of vitamin E. *Food Chemistry*. 2019, (296), 160-166.
- [33] MCKEON, Thomas A. HAYES, Douglas G. HILDEBRAND a David F. WESELAKE. *Industrial Oil Crops* [online]. 1. AOCS Press, 2016 [cit. 2021-2-9]. ISBN 978- 1- 893997- 98- 1. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00CRFQ57/industrial-oil-crops/processing-flax-oil-industrial>
- [34] ZEMPLÉNI, Janos. *Handbook of Vitamins* [online]. 1. Taylor & Francis Group, 2013 [cit. 2021-2-10]. ISBN 1466515562. Dostupné z: www.books.google.cz
- [35] TRIPATHI, Vijaya, A.B. ABIDIA, S. MARKER a S. BILAL. LINSEED AND LINSEED OIL: HEALTH BENEFITS - A REVIEW. *Biological Science*. 2013, **3**(3), 434-442.
- [36] SUKSOMBAT, Wisitiporn, Lam Phuoc THANH a Rattakorn MIRATTANAPHRAI. Effects of Linseed Oil or Whole Linseed Supplementation on Performance and Milk Fatty Acid Composition of Lactating Dairy Cows. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 2014, **27**(7), 951-959.

- [37] HOSOKAWA. HERNANDEZ a Ernesto M. HOSOKAWA. *Omega-3 Oils - Applications in Functional Foods* [online]. 1. AOCS Press, 2011 [cit. 2021-2-11]. ISBN 978- 1- 893997- 82- 0. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpOOAFF003/omega-3-oils-applications/omega-3-oils-applications>
- [38] CZYZ, Kararzyna, Ewa SOKOLA-WYSOCZANSKA a Robert BODKOWSKI. Dietary Omega-3 Source Effect on the Fatty Acid Profile of Intramuscular and Perimuscular Fat- Preliminary Study on a Rat Model. *Nutrients*. 2020, (12), 1-14.
- [39] SANDERS, Thomas A.B. *Functional Dietary Lipids: Food Formulation, Consumer Issues and Innovation for Health* [online]. 1. Elsevier, 2016 [cit. 2021-2-12]. ISBN 978-1- 78242- 257- 0. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpFDLFFCI1/function-al-dietary-lipids/function-al-dietary-lipids>
- [40] CALDER, Philip C. Fat chance of immunomodulation. *Immunology Today*. 1998, **19**(6), 244-247.
- [41] SCIMECA, Joseph A. a Gregory D. MILLER. Potential Health Benefits of Conjugated Linoleic Acid. *Journal of the American College of Nutrition*. 2000, **19**(4), 470-471.
- [42] REBOUL, Emmanuelle. Vitamin E Bioavailability: Mechanisms of Intestinal Absorption in the Spotlight. *Antioxidants*. 2017, **6**(4), 95-96.
- [43] SCHUB, Tanja. *Cinahl Information Systems - Linseed Oil*. 2019.
- [44] WANG, Jiankang, Linxiao HANX, Daoying WANG, Pengpeng LI a Fereidoon SHAHIDI. Conjugated Fatty Acids in Muscle Food Products and Their Potential Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020, (68), 13530-13540.
- [45] MEMON, M Ashraf, Majid Ali HINGORO, Khalid NIAZ a Shah MURAD. Trachyspermum Ammi and Linum Usitatissimum are medicinal herbs used as hypolipidemic agents which protect against coronary artery disease. *Medeniyet Medical Journal*. 2016, **31**(4), 282-286.
- [46] ZHANG, Tianqi, Yufeng DAI, Lei ZHANG, Yingying TIAN, Zhuo LI a Jingfeng WANG. Effects of Edible Oils with Different n 6/n 3 PUFA Ratios on Articular Cartilage Degeneration via Regulating the NF-κB Signaling Pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020, (68), 12641-12650.
- [47] CHERIE, Marcel. *Cinahl Information Systems - Vitamin E Deficiency*. 2017.
- [48] ARSLANOGLU, Sahane Funda a Selim AYTAC. The Important of Flax (Linum usitatissimum L.) In Terms of Health. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*. 2020, **3**(1), 95-107.
- [49] PRIYANKA, Kajla, Alka SHARMA a Raj Sood DEV. Flaxseed - a potential functional food source. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, **52**(4), 1857-1871.

[50] HASHEMPOUR-BALTORK, Fataneh, Mohammadali TORBATI, Sodeif AZADMARD-DAMIRCHI a Geoffrey Peter SAVAGE. Chemical, Rheological and Nutritional Characteristics of Sesame and Olive Oils Blended with Linseed Oil. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2018, **8**(1), 107-113.

[51] YAM, Kit L. *Wiley Encyclopedia of Packaging Technology* [online]. John Wiley, 2009 [cit. 2021- 2- 20]. ISBN 978- 1- 62198- 216- 6. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpWEPTTE002/wiley-encyclopedia-packaging/wiley-encyclopedia-packaging>

[52] DLUGOGORSKI, Bogdan Z., Eric M. KENNEDY a John C. MACKIE. Mechanism of Formation of Volatile Organic Compounds from Oxidation of Linseed Oil. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2012, (51), 5653-5661.

[53] RUDNIK, E., A. SZCZUCINSKA, H. GWARDIAK, A. SZULC a A. WINIARSKA. Comparative studies of oxidative stability of linseed oil. *Thermochimica Acta*. 2001, (2), 135-140.

[54] GUO, Qin, Tian LIAB, Yang QUAC, Xinping WANGAD, Li LIU, Hongzhi LIU a Qiang WANGA. Molecular formation mechanism of trans linolenic acid in thermally induced α -linolenic acid. *LWT - Food Science and Technology*. 2020, (130), 1-8.

[55] TALBOT, Geoff. *Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition - Properties, Processing and Applications* [online]. 1. Elsevier, 2015 [cit. 2021-2-20]. ISBN 978-1-78242- 397- 3. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpSOFFNPP4/specialty-oils-fats-in/specialty-oils-fats-in>

[56] JUITA, Bogdan Z. DLUGOGORSKI, Eric M. KENNEDY a John C. MACKIE. Identification and Quantitation of Volatile Organic Compounds from Oxidation of Linseed Oil. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2012, **51**(16), 5645-5652.

[57] STOLTERFOHT, Holly, Claudia RINNOFNER, Margit WINKLER a Harald PICHLER. Recombinant Lipoxygenases and Hydroperoxide Lyases for the Synthesis of Green Leaf Volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2019, (67), 13367-13392.

[58] STENBERG, Cecilia, Martin SVENSSON a Mats JOHANSSON. A study of the drying of linseed oils with different fatty acid patterns using RTIR-spectroscopy and chemiluminescence (CL). *Science Direct*. 2005, (21), 263-272.

[59] PICÓ, Yolanda. Techniques and Applications. *Chemical Analysis of Food* [online]. Elsevier, 2012 [cit. 2021-4-1]. ISBN 978-0-12-384862-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpCAFTA002/chemical-analysis-food/chemical-analysis-food>

[60] PICÓ, Yolanda. Techniques and Applications - 1.1 Introduction. *Chemical Analysis of Food* [online]. Elsevier, 2012 [cit. 2021-4-1]. ISBN 978-0-12-384862-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpCAFTA002/chemical-analysis-food/chemical-analysis-food>

- [61] HUAI-HSUAN a Chiu CHING-HUAKUO. Gas chromatography-mass spectrometry-based analytical strategies for fatty acid analysis in biological samples. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2020, **28**(1), 60-73.
- [62] KOPLÍK, Richard. *Analýza lipidů* [online]. In: . [cit. 2021-4-2]. Dostupné z: <https://web.vscht.cz/~koplíkr/Lipidy2.pdf>.
- [63] SIELICKA, Maria, Maria MAŁECKA a Małgorzata PURŁAN. Comparison of the antioxidant capacity of lipid-soluble compounds in selected cold-pressed oils using photochemiluminescence assay (PCL) and DPPH method. *Europien Journal of Lipid science and Technology*. 2004, (116), 388-394.
- [64] *PHOTOCHEM Antioxidant Analyzer by Analytic Jena GmbH: SelectScience* [online]. In: . [cit. 2021-4-4]. Dostupné z: www.selectscience.net
- [65] *Metrohm: Products overview* [online]. In: . [cit. 2021-4-6]. Dostupné z: <https://www.metrohm.com/cs-cz/products-overview/stability-measurement/rancimat/28920010>.
- [66] DOLINSKÁ, Renata. : *Lisování lněného oleje, BEWIT FRANCHISE s.r.o* [online]. Ostrava, 2020 [cit. 2021-4-6]. Dostupné z: www.bewit love
- [67] DOLINSKÁ, Renata. : *Lněný olej* [online]. Ostrava, 2020 [cit. 2021-4-6]. Dostupné z: <https://bewit love/produkt/bio-linseed-oil-super-fresh/>.
- [68] *PHOTOCHEM* [online]. In: . [cit. 2021-4-6]. Dostupné z: <https://www.selectscience.net/products/photochem---antioxidant-analyzer/?prodID=10924>
- [69] PALI, Vikas a Nandan MEHTA. Evaluation of Oil Content and Fatty Acid Compositions od flax (*Linum usitatissimum* L.) Varieties of India. *Jornal of Agricultural Science*. 2014, **6**(9), 198-202.
- [70] PORTO, C., D. DECORTI a F. TUBARO. Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extracted by supercritical carbon dioxidev. *Industrial Crops and Products*. 2012, (36), 401-404.
- [71] *Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 90/2000 Sb.* In: . *Zákony pro lidi*, ročník 2000, číslo 90. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-90?text=38%2F2001>
- [72] SYMONIUK, Edyta, Katarzyna RATUSZ a Krzysztof KRYGIER. Comparison of the oxidative stability of linseed (*Linum usitatissimum* L.) oil by pressure differential scanning calorimetry and Rancimat measurements. *Journal of Food and Science Technology*. 2016, **53**(11), 3986–3995.
- [73] OMAR, Khamis Ali, Liang SHAN, Yan Ling WANG a Xingguo WANG. Stabilizing flaxseed oil with individual antioxidants and their mixtures. *Europien Journal of Lipid Science and Technology*. 2010, (112), 1003-1011.
- [74] SPANO, Mattia, Giacomo DI MATTEO a Mattia RAPA. Commercial Hemp Seed Oils: A Multimethodological Characterization. *Applied Sciences*. 2020, (10), 1-15.

- [75] ROSZKOWSKA, Beata, Małgorzata TAŃSKA, Sylwester CZAPLICKI a Iwona KONOPKA. Variation in the composition and oxidative stability of commercial rapeseed oils during their shelf life. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2015, (117), 673–683.
- [76] TANSKA, Malgorzata, Beata ROSZKOWSKA a Marta SKRAJDA. Comercial Cold Pressed Flaxseed Oils Quality and Oxidative stability at the Beginning and the End of Their Shelf Life. *Journal of Oleo Science.* 2016, 2(65), 111-121.
- [77] SYMONIUK, Edyta, Katarzyna RATUSZ, Ewa OSTROWSKA-LIGĘZA a Krzysztof KRYGIER. Impact of Selected Chemical Characteristics of Cold-Pressed Oils on their Oxidative Stability Determined Using the Rancimat and Pressure Differential Scanning Calorimetry Method. *Food Analytical Methods.* 2018, (11), 1095–1104.
- [78] MOHANAN, Athira, Michael NICKERSON a Supratim GHOSH. Oxidative stability of flaxseed oil: Effect of hydrophilic, hydrophobic and intermediate polarity antioxidants. *Food Chemistry.* 2018, (266), 524-533.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

MK	Mastná kyselina.
ALA	Mastná kyselina α -linolenová.
LA	Mastná kyselina linolová.
TAG	Triacylglycerol.
R•	Radikál mastné kyseliny.
H•	Vodíkový radikál.
RH	Uhlovodíkový řetězec.
ROO•	Peroxylový radikál.
ROOH	Hydroperoxid.
AO	Antioxidant.
MUFA	Mono Unsaturated Fatty Acids, monoenové nenasycené mastné kyseliny.
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acids, polyenové nenasycené mastné kyseliny.
UFA	Unsaturated Fatty Acids, nenasycené mastné kyseliny.
EPA	Eicosapentaenoic acid, mastná kyselina eikosapentaenová.
DHA	Docosahexaenoic acid, mastná kyselina dokosahexaenová.
CLA	Conjugated linoleic acid, konjugovaná linolová kyselina.
tzv.	Takzvaný.
off flavour	Pachut'.
13-LOX	Enzym 13-lipoxygenáza.
13-HPL	Enzym 13-hydroperoxid lyáza.
č.	Číslo.
NaCl	Chlorid sodný.
KI	Jodid draselný.
Na ₂ S ₂ O ₃	Thiosíran sodný.
H ₂ O	Voda.

HCl	Kyselina chlorovodíková.
mEq O ₂ /kg	Miliekvivalent aktivního kyslíku na kilogram oleje.
P.č.	Peroxidové číslo.
ACL	Antioxidační kapacita lipofilních antioxidantů.
IT	Induction time, indukční doba.
Tzn	To znamená.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Struktura γ -tokoferolu [21].....	17
Obrázek 2 – Struktura β -karotenu [27].....	18
Obrázek 3 – Struktura plastochromanolu-8 [23]	20
Obrázek 4 – Reakce peroxylového radikálu s účinnou formou vitamínu E [34]	21
Obrázek 5 Reakce peroxylového radikálu s uhlovodíkem bez přítomnosti antioxidantu [34]	22
Obrázek 6 Regenerace α -tokoferolového radikálu kyselinou askorbovou [22]	23
Obrázek 7 Metabolismus omega-3 a omaga-6 mastných kyselin [37].....	24
Obrázek 8 Prekurzory a reaktivita eikosanoidů [37]	26
Obrázek 9 Obecné schéma autooxidace [51].....	33
Obrázek 10 Autooxidační reakce kyseliny linolové vedoucí ke vzniku alkoxylových a hydroxylových radikálů [4].	35
Obrázek 11 Enzymatická oxidace nenasycené mastné kyseliny katalyzovaná lipoxygenázou 13-LOX [57]	37
Obrázek 12 Zařízení Rancimat 892	43
Obrázek 13 Šnekový lis pro lisování lněného oleje ve společnosti Bewit [66].....	46
Obrázek 14 Lněný olej super fresh, výrobce BEWIT FRANCHISE, s.r.o. [67].....	47
Obrázek 15 Zařízení Photochem [68].....	54
Obrázek 16 Popis jedné měřicí pozice zařízení Rancimat 892 [65].....	56
Obrázek 17 Záznam průběhu měření a vyhodnocení vzorku číslo 5 při teplotě 100 °C	62
Obrázek 18 Indukční časy vzorků lněného oleje stanovené při teplotě 100 a 110 °C.....	64
Obrázek 19 Indukční časy vzorků č. 5 a 6 čistých a s přidaným AO stanovené při teplotách 100 a 110 °C	66
Obrázek 20 Změny vodivosti v závislosti na časech měření vzorku č. 5 a vzorku č. 5 s AO při teplotách 100 a 110 °C	67
Obrázek 21 Změny vodivosti v závislosti na časech měření vzorku č. 6 a vzorku č. 6 s AO při teplotách 100 a 110 °C	68

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Procentuální zastoupení mastných kyselin ve lněném oleji [7].....	13
Tabulka 2 Procentuální zastoupení kyseliny linolenové v rostlinných olejích [7,15].....	14
Tabulka 3 Procentuální zastoupení kyseliny α -linolenové a γ -linolenové v konopném a lněném oleji [16].....	15
Tabulka 4 Zastoupení aktivních sloučenin ve lněném oleji [2,18].....	16
Tabulka 5 Obsah γ -tokoferolu v rostlinných olejích [18,19].....	18
Tabulka 6 Obsah β -karotenu v rostlinných olejích [18,19].....	19
Tabulka 7 Obsah plastochromanolu-8 v rostlinných olejích [13,23].....	21
Tabulka 8 Procentuální zastoupení hlavních rozkladných produktů oxidačních reakcí ve lněném oleji [55].....	39
Tabulka 9 Přehled vzorků lněného oleje.....	48
Tabulka 10 Zastoupení mastných kyselin ve lněném oleji.....	57
Tabulka 11 Výsledky stanovení peroxidového čísla u vzorků lněného oleje.....	58
Tabulka 12 Výsledné hodnoty stanovení ACL.....	60
Tabulka 13 Indukční časy vzorků lněného oleje stanovené při teplotách 100 a 110 °C.....	63
Tabulka 14 Indukční časy vzorků lněných olejů s přidaným AO stanovené při teplotách 100 a 110 °C.....	66

SEZNAM PŘÍLOH

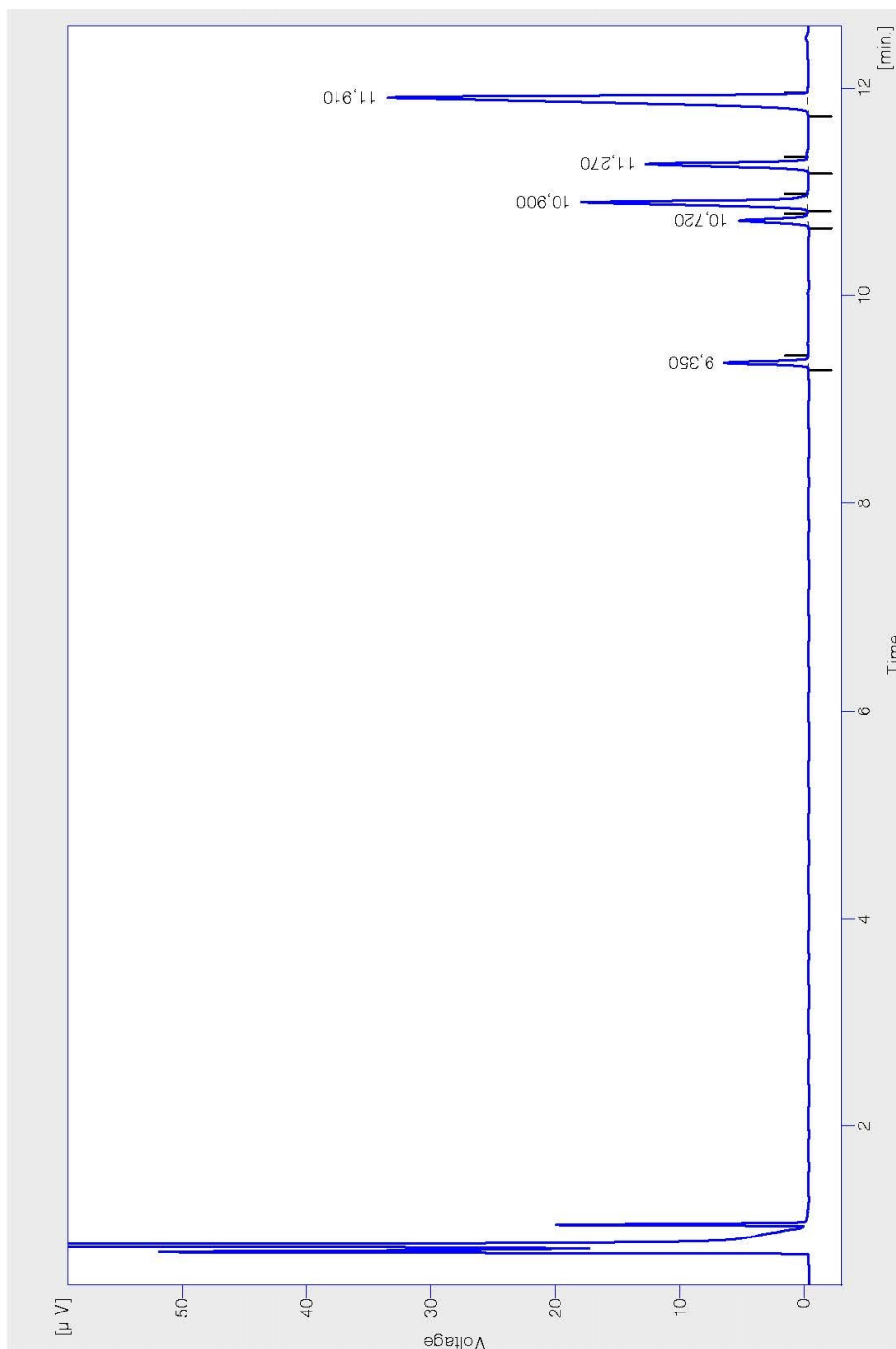
PŘÍLOHA P I: CHROMATOGRAM VZORKU Č. 5

PŘÍLOHA P II: CHROMATOGRAM VZORKU Č. 6

PŘÍLOHA P III: NAVÁŽKY VZORKŮ A SPOTŘEBY TITRAČNÍHO ČINIDLA PŘI STANOVOVÁNÍ PEROXIDOVÉHO ČÍSLA

PŘÍLOHA P IV: NAVÁŽKY VZORKŮ, ŘEDĚNÍ A DALŠÍ DATA VZTAHUJÍCÍ SE KE STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY

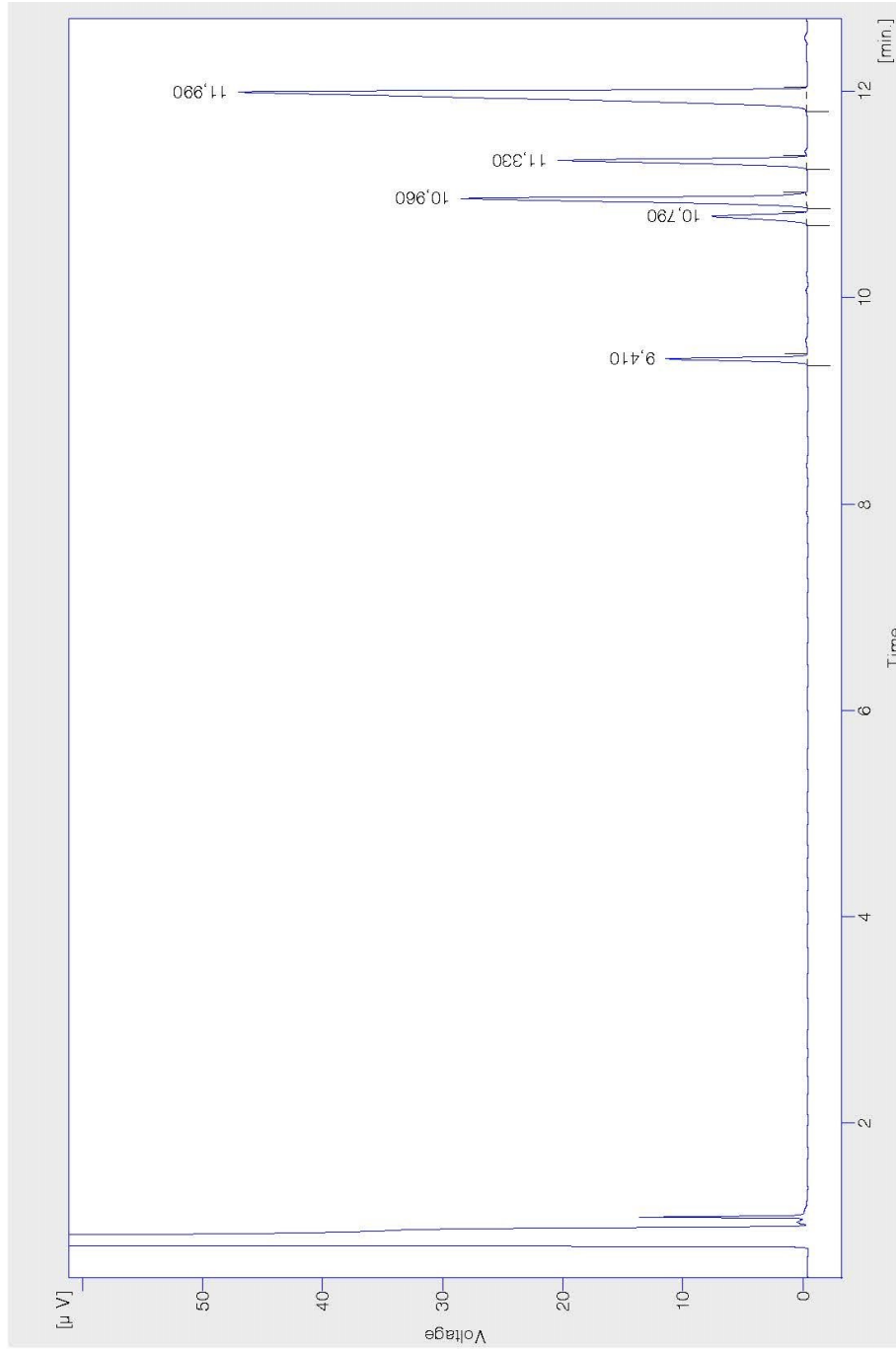
PŘÍLOHA P I: CHROMATOGRAM VZORKU Č. 5



Result Table - Calculation Method Unocal

Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]
9.350	14.244	6.774	5.6	8.8	0.04
10.720	14.208	5.517	5.6	7.1	0.05
10.900	51.798	18.162	20.2	23.5	0.06
11.270	34.858	13.036	13.6	16.9	0.05
11.910	140.698	33.736	55.0	43.7	0.08
Total	255.806	77.226	100.0	100.0	

PŘÍLOHA P II: CHROMATOGRAM VZORKU Č. 6



Result Table - Calculation Method Uncal

Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]
9.410	25.369	11.846	5.7	10.2	0.05
10.790	23.574	7.81	5.3	6.7	0.06
10.960	91.724	28.761	20.7	24.7	0.06
11.330	60.041	20.706	13.5	17.8	0.05
11.990	242.483	47.312	54.7	40.6	0.09
Total	443.191	116.436	100.0	100.0	

**PŘÍLOHA P III: NAVÁŽKY VZORKŮ A SPOTŘEBY TITRAČNÍHO
ČINIDLA PŘI STANOVOVÁNÍ PEROXIDOVÉHO ČÍSLA**

Vzorek č.	m [g]	$V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ [ml]	P.č. [mEq O ₂ /kg]
1	1,3121	0,2	0,762137032
	1,3269	0,2	0,753636295
2	1,3167	0,2	0,759474444
	1,3191	0,2	0,758092639
3	1,3132	0,4	2,284495888
	1,3108	0,35	1,907232225
4	1,3134	4,7	35,02360286
	1,3117	4,65	34,68780971
5	1,3686	0,2	0,730673681
	1,3107	0,2	0,762951095
6	1,3321	0,15	0,375347196
	1,3531	0,15	0,369521839

**PŘÍLOHA P IV: NAVÁŽKY VZORKŮ, ŘEDĚNÍ A DALŠÍ DATA
VZTAHUJÍCÍ SE KE STANOVENÍ ANTIOXIDAČNÍ KAPACITY**

Vzorek č.	m [g]	V _{extrakční} [ml]	Ředění	V _{nástřik} [ml]	Kvantita [nmol]	ACL [μmol/g]	ACL [mg/g]
1	0,2051	10	1	0,05	1,018	0,99	0,25
	0,2300	10	1	0,05	1,086	0,94	0,24
2	0,2178	10	1	0,05	1,028	0,94	0,24
	0,2143	10	1	0,05	0,906	0,85	0,21
3	0,2230	10	1	0,05	1,046	0,94	0,23
	0,2233	10	1	0,05	0,997	0,89	0,22
4	0,2183	10	1	0,05	0,773	0,71	0,18
	0,2277	10	1	0,05	0,877	0,77	0,19
5	0,2259	10	1	0,05	1,000	0,89	0,22
	0,2288	10	1	0,05	0,941	0,82	0,21
6	0,2212	10	1	0,05	1,038	0,94	0,23
	0,2112	10	1	0,05	0,981	0,93	0,23